(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) **1-0030938**

(51)[7] **C07K 16/28**

(13) **B**

(21) 1-2014-03201
(22) 22/02/2013
(86) PCT/US2013/027476 22/02/2013
(87) WO/2013/126810 29/08/2013
(30) 61/603,203 24/02/2012 US
(45) 25/02/2022 407
(43) 25/06/2015 327A
(73) Abbvie Stemcentrx LLC (US)
1 North Waukegan Road, North Chicago, Illinois 60064-6400 USA
(72) SAUNDERS, Laura (US); DYLLA, Scott, J. (US); FOORD, Orit (US); STULL, Robert, A. (US); TORGOV, Michael (US); SHAO, Hui (CA); LIU, David (US).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) KHÁNG THỂ ĐƠN DÒNG LIÊN KẾT ĐẶC HIỆU VỚI PROTEIN TƯƠNG ĐỒNG 6 LIÊN QUAN ĐẾN CHỨNG CO GIẬT (SEZ6) VÀ THỂ LIÊN HỢP CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chất điều biến thể tương đồng 6 liên quan đến chứng co giật (SEZ6), bao gồm các kháng thể và dẫn xuất của chúng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất mới, chế phẩm và phương pháp sử dụng chúng trong chẩn đoán, phòng ngừa, điều trị hoặc làm giảm các rối loạn tăng sinh và sự lan rộng, tái diễn, tái phát hoặc di căn bất kỳ của chúng. Theo khía cạnh rộng, sáng chế đề cập đến việc sử dụng các chất điều biến thể tương đồng 6 liên quan đến chứng co giật (hoặc SEZ6), bao gồm các kháng thể kháng SEZ6 và các cấu trúc dung hợp, để điều trị chẩn đoán hoặc phòng ngừa các rối loạn khối u. Theo các phương án được chọn, sáng chế đề xuất việc sử dụng các chất điều biến SEZ6 này, bao gồm các thể liên hợp kháng thể dược chất, để điều trị bằng liệu pháp miễn dịch các khối u ác tính, tốt hơn là bao gồm việc làm giảm tần suất tế bào tạo u.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Sự biệt hóa của tế bào gốc và tế bào nguyên bản và sự tăng sinh tế bào là các quá trình diễn ra bình thường hoạt động phối hợp để hỗ trợ sự tăng trưởng mô trong suốt quá trình hình thành cơ quan và thay thế tế bào và sửa chữa của hầu hết các mô trong suốt cuộc đời của tất cả các sinh vật sống. Trong tiến trình bình thường của các sự kiện, quá trình tăng sinh và biệt hóa tế bào được kiểm soát bởi nhiều yếu tố và tín hiệu thường được cân bằng để duy trì quyết định số phận tế bào và kiến trúc mô. Do đó, ở mức độ rộng hơn, quá trình này được kiểm soát bởi vi môi trường mà điều hòa sự phân chia tế bào và sự trưởng thành của mô, trong đó các tín hiệu được tạo ra một cách thích hợp dựa trên nhu cầu của sinh vật. Về mặt này, quá trình tăng sinh và biệt hóa tế bào thường chỉ xảy ra khi cần thiết phải thay thế các tế bào bị tổn thương hoặc chết hoặc để sinh trưởng. Không may là, quá trình tăng sinh và/hoặc biệt hóa tế bào có thể bị phá vỡ bởi vô số các yếu tố bao gồm, ví dụ, sự thiếu hụt hoặc dư thừa quá mức nhiều chất hóa học truyền phát tín hiệu khác nhau, sự hiện diện của các vi môi trường bị biến đổi, các đột biến di truyền hoặc một số kết hợp của các yếu tố này. Khi quá trình tăng sinh và/hoặc biệt hóa tế bào bình thường bị rối loạn hoặc vì lý do nào đó bị

phá vỡ, nó có thể dẫn đến nhiều bệnh hoặc rối loạn khác nhau bao gồm các rối loạn tăng sinh như bệnh ung thư.

Liệu pháp điều trị bệnh ung thư thông thường bao gồm hóa trị liệu, xạ trị, phẫu thuật, liệu pháp miễn dịch (ví dụ, chất cải biến đáp ứng sinh học, vacxin hoặc chất trị liệu hướng đích) hoặc kết hợp của chúng. Không may là, một số bệnh ung thư không đáp ứng hoặc đáp ứng rất ít với các liệu pháp điều trị này. Ví dụ, ở một số bệnh nhân, khối u biểu hiện các đột biến gen làm cho chúng không đáp ứng mặc dù các liệu pháp điều trị đã chọn thường là có hiệu quả. Hơn nữa, tùy thuộc vào loại bệnh ung thư và các dạng của nó, một số liệu pháp điều trị sẵn có như phẫu thuật có thể không khả thi. Những hạn chế cố hữu trong tiêu chuẩn hiện nay về liệu pháp điều trị bệnh là đặc biệt rõ ràng khi nỗ lực điều trị cho bệnh nhân đã trải qua các liệu pháp điều trị trước đó và sau đó bị tái phát. Trong những trường hợp này, phác đồ điều trị thất bại và diễn biến bệnh trầm trọng hơn ở bệnh nhân do việc điều trị thất bại này có thể góp phần làm cho khối u kháng thuốc, khối u sẽ phát triển nhanh và cuối cùng chứng minh là không thể chữa khỏi. Mặc dù đã có nhiều tiến bộ trong chẩn đoán và điều trị bệnh ung thư trong nhiều năm qua, nhưng tỷ lệ sống sót nói chung đối với nhiều bệnh u rắn vẫn không thay đổi đáng kể do sự thất bại của các liệu pháp hiện có để phòng ngừa tái phát, xuất hiện trở lại khối u và di căn. Do đó, vẫn còn thách thức phải phát triển các liệu pháp điều trị hướng đích và hiệu quả hơn đối với các rối loạn tăng sinh.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo nghĩa rộng sáng chế đề xuất các phương pháp, hợp chất, chế phẩm và sản phẩm mà có thể được sử dụng để điều trị các rối loạn liên quan đến SEZ6 (ví dụ, các rối loạn tăng sinh hoặc rối loạn khối u). Với mục đích đó, sáng chế đề xuất chất điều biến thể tương đồng 6 liên quan đến chứng co giật (hoặc SEZ6) mà hướng đích một cách hiệu quả đến các tế bào khối u và/hoặc các tế bào gốc ung thư và có thể được sử dụng để điều trị cho các bệnh nhân đang mắc nhiều loại khối u ác tính khác nhau. Như sẽ được bàn luận chi tiết hơn trong bản mô tả này, có ít nhất hai chất đồng đẳng hoặc biến thể SEZ6 xuất hiện trong tự nhiên và chất điều biến được mô tả có thể chứa hoặc kết hợp chọn lọc với một chất đồng đẳng hoặc chất đồng đẳng còn lại hoặc với cả hai. Hơn nữa, theo một số phương án nhất định, chất điều biến SEZ6 được mô tả có thể còn phản ứng với một hoặc nhiều thành viên thuộc họ SEZ (ví dụ, SEZ6L hoặc

SEZ6L2) hoặc, theo các phương án khác, có thể được tạo ra và chọn lọc để chỉ kết hợp hoặc phản ứng riêng với (các) chất đồng đẳng SEZ6. Trong trường hợp bất kỳ, chất điều biến này có thể chứa hợp chất bất kỳ mà nhận biết, cạnh tranh chủ vận, đối kháng, tương tác, liên kết hoặc kết hợp với polypeptit hoặc gen SEZ6 (hoặc đoạn của chúng) và điều biến, điều chỉnh, sửa đổi, thay đổi hoặc cải biến tác động của protein SEZ6 lên một hoặc nhiều quá trình sinh lý. Do đó, theo nghĩa rộng sáng chế nói chung đề cập đến chất điều biến SEZ6 đã phân lập và ứng dụng của chúng. Theo các phương án ưu tiên, sáng chế đề cập cụ thể hơn đến chất điều biến SEZ6 phân lập được chứa các kháng thể (nghĩa là, các kháng thể mà liên kết ưu tiên miễn dịch, phản ứng với hoặc kết hợp với ít nhất một chất đồng đẳng của SEZ6) mà, theo các phương án đặc biệt ưu tiên, được kết hợp hoặc liên hợp với một hoặc nhiều chất gây độc tế bào. Hơn nữa, như được thảo luận mở rộng dưới đây, chất điều biến này có thể được sử dụng để tạo ra các dược phẩm hữu ích để phòng ngừa, chẩn đoán hoặc điều trị các rối loạn tăng sinh.

Theo các phương án được chọn của sáng chế, chất điều biến SEZ6 có thể chứa polypeptit SEZ6 hoặc các đoạn của chúng, ở dạng đã phân lập hoặc được dung hợp hoặc kết hợp với các gốc khác (ví dụ, Fc-SEZ6, PEG-SEZ6 hoặc SEZ6 kết hợp với gốc hướng đích). Theo các phương án được lựa chọn khác, chất điều biến SEZ6 có thể bao gồm chất đối kháng SEZ6 mà, với mục đích của đơn này, có nghĩa là cấu trúc hoặc hợp chất bất kỳ mà nhận biết, cạnh tranh, tương tác, liên kết hoặc kết hợp với SEZ6 và trung hòa, loại trừ, làm giảm, làm nhạy, lập trình lại, ức chế hoặc kiểm soát sự sinh trưởng của các tế bào khối u bao gồm các tế bào tạo u. Theo các phương án ưu tiên, chất điều biến SEZ6 theo sáng chế bao gồm các kháng thể kháng SEZ6, hoặc đoạn hoặc dẫn xuất của chúng, mà đã bất ngờ được phát hiện là làm câm, trung hòa, làm giảm, hạ thấp, tiêu, làm dịu, giảm bớt, lập trình lại, loại trừ hoặc ức chế khả năng của các tế bào tạo u trong việc sinh sản, duy trì, mở rộng, tăng sinh hoặc tạo điều kiện thuận lợi cho sự sống sót, tái phát, tái tạo và/hoặc di căn của các tế bào khối u. Theo các phương án đặc biệt ưu tiên các kháng thể hoặc đoạn phản ứng miễn dịch có thể được kết hợp với hoặc liên hợp với một hoặc nhiều chất chống ung thư (ví dụ, chất gây độc tế bào).

Về các chất điều biến này, cần phải hiểu rằng các kháng thể tương hợp có thể có dạng bất kỳ trong nhiều dạng bao gồm, ví dụ, kháng thể đa dòng và kháng thể đơn dòng, kháng thể khảm, kháng thể ghép CDR, kháng thể được làm tương thích với

người và kháng thể người và các đoạn phản ứng miễn dịch và/hoặc các biến thể của mỗi dạng nói trên. Các phương án ưu tiên bao gồm các kháng thể là các cấu trúc tương đối không gây miễn dịch như cấu trúc được làm tương thích với người hoặc cấu trúc hoàn toàn của người. Tất nhiên, dựa trên phần mô tả này, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này có thể xác định dễ dàng một hoặc nhiều vùng quyết định bổ sung (complementarity determining region: CDR) kết hợp với các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của chất điều biến kháng thể SEZ6 và sử dụng các CDR này để thao tác di truyền hoặc tạo ra các kháng thể khảm, được làm tương thích với người hoặc được ghép CDR mà không cần đến các thử nghiệm không cần thiết. Do đó, theo một số phương án ưu tiên nhất định, chất điều biến SEZ6 này chứa kháng thể kết hợp một hoặc nhiều CDR như được xác định trên các Fig.10A và 10B và thu được từ các vùng biến đổi chuỗi liền kề chuỗi nhẹ (Fig.10A) hoặc nặng (Fig.10B) của chuột (SEQ ID NO: 20-169) được thể hiện trong đó. Các vùng biến đổi được ghép CDR có khung của người và các biến thể của nó cũng được thể hiện trên Fig.10 bao gồm các SEQ ID NO: 170-199. Theo các phương án ưu tiên, các kháng thể này bao gồm kháng thể đơn dòng và theo các phương án được ưu tiên hơn, bao gồm kháng thể khảm, kháng thể ghép CDR hoặc kháng thể được làm tương thích với người.

Trình tự axit nucleic được lấy làm ví dụ mã hóa mỗi trình tự trong số các trình tự axit amin được thể hiện trong các Fig.10A và 10B được đưa vào đây trong danh mục trình tự và bao gồm các SEQ ID NO: 220 đến 399. Về khía cạnh này, cần phải hiểu rằng sáng chế còn bao gồm các phân tử axit nucleic (và các cấu trúc liên quan, các vectơ và tế bào chủ) mã hóa các trình tự axit amin vùng biến đổi của kháng thể được mô tả bao gồm các trình tự được thể hiện trong danh mục trình tự đính kèm.

Cụ thể hơn, theo các phương án được chọn chất điều biến SEZ6 tương hợp có thể bao gồm kháng thể có vùng biến đổi chuỗi nhẹ và vùng biến đổi chuỗi nặng, trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ này chứa trình tự axit amin có độ tương đồng ít nhất 60% với trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID

NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78 SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 152, SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 166 và SEQ ID NO: 168 và trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng này chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất 60% với trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51 , SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 125, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 149, SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 155, SEQ ID NO: 157, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 167 và SEQ ID NO: 169. Theo các phương án ưu tiên khác, chất điều biến được chọn bao gồm các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ tương đồng 65, 70, 75 hoặc 80% với các trình tự của chuột được đề cập trên đây. Theo các phương án khác nữa,

chất điều biến này bao gồm các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ tương đồng 85, 90 hoặc thậm chí 95% với các trình tự của chuột đã được mô tả.

Tất nhiên, dựa trên phần mô tả này, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này có thể xác định dễ dàng các CDR kết hợp với mỗi vùng trong các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ nêu trên và sử dụng các CDR này để thao tác di truyền hoặc tạo ra các kháng thể khảm, được làm tương thích với người hoặc được ghép CDR mà không cần thử nghiệm nhiều. Như vậy, theo các phương án được chọn, sáng chế đề xuất kháng thể kháng SEZ6 chứa một hoặc nhiều CDR từ trình tự của vùng biến đổi được chỉ ra trong Fig.10A hoặc Fig.10B. Theo các phương án ưu tiên, các kháng thể này sẽ bao gồm các kháng thể đơn dòng và theo các phương án ưu tiên hơn nữa, sẽ bao gồm các kháng thể khảm, được làm tương thích với người hoặc được ghép CDR. Như được bàn luận chi tiết hơn dưới đây, các phương án khác nữa sẽ bao gồm các kháng thể được liên hợp hoặc kết hợp với một hoặc nhiều chất gây độc tế bào.

Theo một khía cạnh khác của sáng chế đề xuất chất điều biến thu được hoặc có nguồn gốc từ SC17.1, SC17.2, SC17.3, SC17.4, SC17.8, SC17.9, SC17.10, SC17.11, SC17.14, SC17.15, SC17.16, SC17.17, SC17.18, SC17.19, SC17.22, SC17.24, SC17.27, SC17.28, SC17.29, SC17.30, SC17.32, SC17.34, SC17.35, SC17.36, SC17.38, SC17.39, SC17.40, SC17.41, SC17.42, SC17.45, SC17.46, SC17.47, SC17.49, SC17.50, SC17.53, SC17.54, SC17.56, SC17.57, SC17.59, SC17.61, SC17.63, SC17.71, SC17.72, SC17.74, SC17.76, SC17.77, SC17.79, SC17.81, SC17.82, SC17.84, SC17.85, SC17.87, SC17.89, SC17.90, SC17.91, SC17.93, SC17.95, SC17.97, SC17.99, SC17.102, SC17.114, SC17.115, SC17.120, SC17121, SC17.122, SC17.140, SC17.151, SC17.156, SC17.161, SC17.166, SC17.187, SC17.191, SC17.193, SC17.199 và SC17.200.

Theo các phương án thích hợp khác nữa, sáng chế đề xuất chất điều biến SEZ6 hSC17.16, hSC17.17, hSC17.24, hSC17.28, SC17.34, hSC17.46, SC17.151, SC17.155, SC17.156, SC17.161 và SC17.200 được ghép CDR hoặc được làm tương thích với người. Theo các phương án khác nữa, sáng chế đề xuất chất điều biến SEZ6 bao gồm kháng thể được làm tương thích với người, trong đó kháng thể được làm tương thích với người này chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ và vùng biến đổi chuỗi nặng, trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ này chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất 60% với trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự axit amin như được chỉ

ra trong SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 188 và SEQ ID NO: 190 và trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng này chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất 60% với trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự axit amin được chỉ ra trong SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 173, SEQ ID NO: 175, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 179 và SEQ ID NO: 181, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 189 và SEQ ID NO: 191. Ngoài ra, một số biến thể được làm tương thích với người của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (SEQ ID NO: 192) và chuỗi nặng (SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 194, SEQ ID NO: 195, SEQ ID NO: 196, SEQ ID NO: 197, SEQ ID NO: 198 và SEQ ID NO: 199) được đề xuất theo sáng chế. Hơn nữa, như được mô tả ngay trên đây, các trình tự axit nucleic mã hóa các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được làm tương thích với người được lấy làm ví dụ được chỉ ra trong danh mục trình tự được đính kèm theo đây là SEQ ID NO: 370 – 399.

Ngoài các khía cạnh nêu trên, trong các phương án ưu tiên khác, sáng chế đề xuất chất điều biến SEZ6 kết hợp hoặc liên hợp với một hoặc nhiều dược chất để tạo ra thể liên hợp chất điều biến mà có thể có hiệu quả đặc biệt trong việc điều trị các rối loạn tăng sinh (một mình hoặc kết hợp với các chất có tác dụng dược lý khác). Nói chung, khi chất điều biến theo sáng chế được tạo ra và chọn lọc chúng có thể được liên kết với, dung hợp với, kết hợp với (ví dụ, liên kết cộng hóa trị hoặc không cộng hóa trị) hoặc theo cách khác được kết hợp với các gốc có tác dụng dược lý hoặc gốc chẩn đoán hoặc chất cải biến tương thích sinh học. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "liên hợp" hoặc "liên hợp chất điều biến" hoặc "liên hợp kháng thể" được sử dụng rộng rãi và được hiểu là phân tử có hoạt tính sinh học hoặc phân tử phát hiện hoặc dược chất bất kỳ được liên hợp với chất điều biến được mô tả bằng phương pháp liên hợp bất kỳ. Về vấn đề này, cần phải hiểu rằng các thể liên hợp này có thể, ngoài chất điều biến đã mô tả, chứa các peptit, các polypeptit, các protein, các tiền dược chất được chuyển hóa thành hoạt chất *in vivo*, polyme, các phân tử axit nucleic, các phân tử nhỏ, các tác nhân liên kết, chất bắt chước, các thuốc tổng hợp, phân tử vô cơ, phân tử hữu cơ và chất đồng vị phóng xạ. Hơn nữa, như được chỉ ra trên đây, thể liên hợp chọn lọc có thể được liên hợp, hoặc liên kết cộng hóa trị hoặc không cộng hóa trị với chất điều biến

này và thể hiện nhiều tỉ lệ mol hóa lượng pháp khác nhau phụ thuộc, ít nhất một phần, vào phương pháp được sử dụng để thực hiện việc liên hợp này.

Theo các khía cạnh đặc biệt ưu tiên, sáng chế đề xuất các thể liên hợp chất điều biến kháng thể hoặc các thể liên hợp dược chất-kháng thể mà có thể được sử dụng để chẩn đoán và/hoặc điều trị các rối loạn tăng sinh. Các thể liên hợp này có thể được biểu diễn bằng công thức M-[L-D]n trong đó M là chất điều biến đã mô tả hoặc gốc liên kết đích, L là đơn vị liên kết hoặc đơn vị liên kết tùy ý, D là dược chất hoặc tiền dược chất tương thích và n là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 20. Cần phải hiểu rằng, trừ khi được quy định khác theo ngữ cảnh, các thuật ngữ "liên hợp kháng thể-dược chất" hoặc "ADC" hoặc công thức M-[L-D]n được hiểu là bao gồm các thể liên hợp chứa cả gốc điều trị và chẩn đoán. Theo các phương án này, các hợp chất liên hợp kháng thể-dược chất thường chứa kháng thể kháng-SEZ6 làm đơn vị điều biến (M), gốc điều trị hoặc chẩn đoán (D), và tùy ý cầu liên kết (L) mà liên kết dược chất và chất liên kết kháng nguyên. Theo phương án được ưu tiên, kháng thể là mAb SEZ6 chứa ít nhất một CDR từ các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ như được mô tả trên đây.

Như đã chỉ ra ở trên, theo một khía cạnh, sáng chế có thể đề xuất sự kết hợp ngoài mong đợi của các polypeptit SEZ6 với các tế bào gốc ung thư. Do đó, theo một số phương án nhất định khác, sáng chế đề xuất chất điều biến SEZ6 mà làm giảm tần suất các tế bào tạo u khi sử dụng cho đối tượng. Tốt hơn, nếu tác dụng làm giảm tần suất được xác định bằng cách sử dụng phân tích pha loãng giới hạn *in vitro* hoặc *in vivo*. Theo các phương án đặc biệt ưu tiên, phân tích này có thể được thực hiện bằng cách sử dụng kỹ thuật phân tích pha loãng giới hạn *in vivo* bao gồm cấy ghép các tế bào khối u sống của người vào chuột suy giảm miễn dịch. Theo cách khác, kỹ thuật phân tích pha loãng giới hạn có thể được thực hiện bằng cách sử dụng phân tích pha loãng giới hạn *in vitro* bao gồm kết tụ thành đám tế bào u gan người ở độ pha loãng giới hạn trong các điều kiện hỗ trợ sự tạo thành đám tế bào *in vitro*. Trong mỗi trường hợp, kỹ thuật phân tích, tính toán, hoặc định lượng sự giảm tần suất tốt hơn nếu bao gồm sử dụng các phép thống kê phân phối Poisson để tạo ra tính toán chính xác. Sẽ hiểu rằng, mặc dù các phương pháp định lượng này được ưu tiên, nhưng cũng có thể sử dụng các hệ phương pháp khác ít được sử dụng trong phòng thí nghiệm hơn như phương pháp đếm tế bào theo dòng hoặc hóa học mô miễn dịch để tạo ra các trị số

mong muốn và, do đó được hiểu là nằm trong phạm vi bảo hộ của sáng chế. Trong các trường hợp này, tác dụng làm giảm tần suất có thể được xác định bằng cách sử dụng phân tích đếm tế bào theo dòng chảy hoặc được phát hiện bằng hóa học mô miễn dịch chất chỉ thị bề mặt tế bào khối u đã được biết là có nhiều trong tế bào tạo u.

Như vậy, theo phương án ưu tiên khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị rối loạn liên quan đến SEZ6 bao gồm sử dụng lượng có tác dụng điều trị của chất điều biến SEZ6 cho đối tượng cần điều trị, nhờ đó làm giảm tần suất của các tế bào tạo u. Tốt hơn là rối loạn liên quan đến SEZ6 là rối loạn khối u. Tác dụng làm giảm tần suất tế bào tạo u tốt hơn nếu được xác định bằng cách sử dụng phép phân tích pha loãng giới hạn *in vitro* hoặc *in vivo*.

Về mặt này sẽ được hiểu rằng sáng chế dựa, ít nhất một phần, vào phát hiện là chất sinh miễn dịch SEZ6 được kết hợp với các tế bào duy trì khối u mãi mãi (tức là, các tế bào gốc ung thư) mà liên quan đến cơ chế bệnh sinh của nhiều khối u khác nhau. Cụ thể hơn, đơn này chứng minh là việc sử dụng nhiều chất điều biến SEZ6 ví dụ khác nhau có thể làm trung gian, làm giảm, tiêu, ức chế hoặc triệt tiêu quá trình truyền tín hiệu tạo khối u bởi các tế bào tạo u (tức là, làm giảm tần suất của các tế bào tạo u). Việc giảm truyền tín hiệu này, dù là bằng cách làm tiêu, trung hòa, làm giảm, triệt tiêu, lập trình lại hoặc làm câm các tế bào tạo u hoặc bằng cách biến đổi hình thái của tế bào u (ví dụ, kích thích biệt hóa, phá vỡ hốc), lại cho phép điều trị hiệu quả hơn các rối loạn liên quan đến SEZ6 bằng cách ức chế quá trình tạo u, duy trì khối u, lan rộng và/hoặc di căn và tái phát.

Ngoài việc kết hợp với các tế bào gốc ung thư nêu trên, có bằng chứng là các chất đồng đẳng SEZ6 có thể liên quan đến sự sinh trưởng, tái phát hoặc khả năng di căn của khối u có các đặc tính thần kinh nội tiết. Với các mục đích này của sáng chế, các khối u này bao gồm u thần kinh nội tiết và u thần kinh nội tiết giả. Do đó sự can thiệp vào quá trình tăng sinh của các tế bào tạo u bằng cách sử dụng chất điều biến SEZ6 mới được mô tả ở đây có thể làm thuyên giảm hoặc điều trị rối loạn bằng nhiều hơn một cơ chế (tức là, làm giảm tế bào tạo u và phá vỡ sự truyền tín hiệu của con đường gây bệnh ung thư) để tạo ra các tác dụng bổ trợ hoặc hiệp đồng. Các phương án ưu tiên khác có thể khai thác quá trình nội nhập tế bào của SEZ6 bề mặt tế bào để phân phối các chất chống ung thư qua trung gian chất điều biến. Về mặt này, sẽ hiểu rằng sáng chế không bị giới hạn vào cơ chế tác động cụ thể bất kỳ mà bao gồm việc sử

dụng rộng rãi chất điều biến đã mô tả để điều trị các rối loạn liên quan đến SEZ6 (bao gồm nhiều tình trạng khối u tân sinh khác nhau).

Do đó, theo các phương án khác sáng chế bao gồm việc sử dụng chất điều biến được mô tả để điều trị các khối u có các đặc điểm thần kinh nội tiết ở đối tượng cần điều trị. Tất nhiên chất điều biến giống nhau có thể được sử dụng cho liệu pháp phòng ngừa, dự đoán, chẩn đoán, chẩn trị, ức chế hoặc duy trì các khối u giống nhau này.

Các khía cạnh khác theo sáng chế khai thác khả năng của chất điều biến được mô tả trong việc phá vỡ các con đường gây bệnh ung thư đồng thời làm câm các tế bào tạo u. Chất điều biến SEZ6 đa hoạt tính này (ví dụ, chất đối vận SEZ6) có thể chứng minh là đặc biệt hiệu quả khi được sử dụng kết hợp với các chất chống ung thư hoặc chất giải tỏa khối u chuẩn. Theo đó các phương án ưu tiên của sáng chế bao gồm việc sử dụng chất điều biến đã được mô tả làm tác nhân chống di căn cho liệu pháp duy trì sau điều trị ban đầu. Ngoài ra, hai hoặc nhiều chất đối vận SEZ6 (ví dụ các kháng thể liên kết đặc hiệu với hai epitop riêng biệt trên SEZ6) có thể được sử dụng kết hợp theo các đề xuất của sáng chế. Hơn nữa, như được bàn luận chi tiết dưới đây, chất điều biến SEZ6 theo sáng chế có thể được sử dụng ở trạng thái liên hợp hoặc không liên hợp và, tùy ý, như là chất làm tăng độ nhạy kết hợp với nhiều chất chống ung thư hóa học hoặc sinh học khác nhau.

Do đó phương án ưu tiên khác theo sáng chế bao gồm phương pháp làm tăng sự nhạy cảm của khối u ở đối tượng để điều trị bằng chất chống ung thư bao gồm bước sử dụng chất điều biến SEZ6 cho đối tượng này. Các phương án khác bao gồm phương pháp làm giảm sự di căn hoặc tái phát khối u sau khi điều trị bao gồm sử dụng chất điều biến SEZ6 cho đối tượng cần điều trị. Theo một khía cạnh đặc biệt ưu tiên của sáng chế, chất điều biến SEZ6 này làm giảm đặc hiệu tần suất tế bào tạo u như xác định được bằng cách sử dụng phân tích pha loãng giới hạn *in vitro* hoặc *in vivo*.

Các phương án được ưu tiên hơn nữa của sáng chế bao gồm phương pháp điều trị rối loạn liên quan đến SEZ6 ở đối tượng cần điều trị bao gồm bước sử dụng chất điều biến SEZ6 cho đối tượng này. Theo các phương án đặc biệt ưu tiên, chất điều biến SEZ6 này sẽ được kết hợp (ví dụ, liên hợp) với chất chống ung thư. Theo các phương án khác nữa, chất điều biến SEZ6 này sẽ nội nhập sau khi kết hợp hoặc liên kết với SEZ6 trên hoặc gần bề mặt của tế bào này. Ngoài ra, các khía cạnh có lợi của sáng chế, bao gồm sự phá vỡ các con đường truyền tín hiệu và các lợi ích bổ sung bất

kỳ, có thể đạt được cho dù mô khối u của đối tượng biểu hiện các mức nồng độ SEZ6 tăng hoặc các mức nồng độ SEZ6 giảm hoặc hạ thấp so với mô bình thường gần kề. Các phương án đặc biệt ưu tiên bao gồm phương pháp điều trị các rối loạn biểu hiện các mức nồng độ gia tăng của SEZ6 trên các tế bào tạo u so với mô bình thường hoặc so với các tế bào không tạo u.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế mô tả phương pháp điều trị cho đối tượng mắc rối loạn khối u bao gồm bước sử dụng lượng có tác dụng điều trị của ít nhất một chất điều biến SEZ6 nội nhập. Các phương án ưu tiên bao gồm sử dụng chất điều biến kháng thể nội hóa trong đó, theo các phương án được chọn khác, chất điều biến kháng thể nội nhập được liên hợp hoặc kết hợp với chất gây độc tế bào.

Các phương án khác đề cập đến phương pháp điều trị cho đối tượng mắc rối loạn liên quan đến SEZ6 bao gồm bước sử dụng lượng có tác dụng điều trị của ít nhất một chất điều biến SEZ6 làm tiêu.

Theo phương án khác nữa, sáng chế mô tả phương pháp điều trị duy trì, trong đó chất tác động hoặc chất điều biến được mô tả được sử dụng trong một khoảng thời gian tiếp theo liệu pháp ban đầu (ví dụ, hóa trị, xạ trị hoặc phẫu thuật) được thiết kế để loại bỏ ít nhất một phần của khối u. Các phác đồ điều trị này có thể được sử dụng trong thời gian nhiều tuần, nhiều tháng hoặc thậm chí nhiều năm trong đó chất điều biến SEZ6 có thể có tác dụng phòng ngừa để ức chế sự di căn và/hoặc tái phát khối u. Theo các phương án khác nữa, chất điều biến được mô tả có thể được sử dụng phối hợp với phác đồ giải tỏa khối u đã biết để phòng ngừa hoặc làm chậm sự di căn, duy trì hoặc tái phát khối u.

Sẽ hiểu thêm rằng chất điều biến SEZ6 theo sáng chế có thể được tạo ra và chọn lọc để phản ứng với (các) chất đồng đẳng đã biết của SEZ6 hoặc một chất đồng đẳng duy nhất của protein này hoặc, ngược lại, có thể bao gồm chất điều biến pan-SEZ6 mà phản ứng hoặc kết hợp với ít nhất một thành viên thuộc họ SEZ6 khác (ví dụ, SEZ6L hoặc SEZ6L2 và các chất đồng đẳng của chúng) ngoài SEZ6. Cụ thể hơn, như được mô tả ở đây, chất điều biến được ưu tiên như các kháng thể có thể được tạo ra và chọn lọc sao cho chúng phản ứng với các vùng chức năng (hoặc epitop trong đó) mà chỉ được biểu hiện bởi SEZ6 hoặc với các vùng chức năng được bảo tồn ít nhất phần nào qua hai hoặc nhiều thành viên thuộc họ SEZ6.

Theo các phương án ưu tiên khác nữa, chất điều biến sẽ kết hợp hoặc liên kết với epitop đặc hiệu, phần, motif hoặc vùng chức năng của SEZ6. Như được thảo luận chi tiết dưới đây, cả hai chất đồng đẳng của SEZ6 đều kết hợp vùng ngoại bào tương đồng (xem Fig.1E) chứa ít nhất là vùng chức năng đầu cùng N, hai vùng chức năng thay đổi Sushi và CUB, và ba vùng lặp Sushi liên tục khác. Ngoài ra, protein SEZ6 chứa vùng chức năng xuyên màng và vùng chức năng bào tương. Do đó, theo một số phương án nhất định, chất điều biến này sẽ liên kết hoặc kết hợp với vùng chức năng đầu cùng N của SEZ6 (tức là các axit amin 1 đến 335 ở protein trưởng thành) hoặc với epitop trong đó. Các khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến chất điều biến mà kết hợp hoặc liên kết với epitop đặc hiệu nằm trong vùng chức năng Sushi cụ thể của SEZ6. Về mặt này, chất điều biến cụ thể này có thể kết hợp hoặc liên kết với epitop nằm trong vùng chức năng Sushi 1 (các axit amin 336 đến 395), Vùng Sushi 2 (các axit amin 511 đến 572), Vùng chức năng Sushi 3 (các axit amin 690 đến 748), Vùng chức năng Sushi 4 (các axit amin 750 đến 813) hoặc Vùng chức năng Sushi 5 (các axit amin 817 đến 878). Các khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến chất điều biến mà kết hợp hoặc liên kết với epitop đặc hiệu nằm ở vùng chức năng cụ thể giống CUB của SEZ6. Về mặt này, chất điều biến cụ thể này có thể kết hợp hoặc liên kết với epitop nằm trong vùng chức năng CUB 1 (các axit amin 397 đến 508) hoặc vùng chức năng CUB 2 (các axit amin 574 đến 685). Tất nhiên, sẽ được hiểu là mỗi vùng trong số các vùng chức năng nêu trên có thể chứa nhiều hơn một epitop và có thể được kết hợp với nhiều hơn một bin.

Liên quan đến "bin" chất điều biến hoặc kháng thể, sẽ được hiểu là kháng nguyên SEZ6 có thể được phân tích hoặc lập bản đồ thông qua sự liên kết kháng thể cạnh tranh bằng cách sử dụng các kỹ thuật được công nhận trong lĩnh vực này để xác định các bin đặc hiệu nằm dọc protein này. Mặc dù được bàn luận chi tiết hơn ở đây và được thể hiện trong các ví dụ 9 và 10 dưới đây, hai kháng thể (một trong số đó được gọi là "kháng thể tham chiếu", "bin kháng thể minh họa" hoặc "kháng thể minh họa") có thể được xem là trong cùng một bin nếu chúng gần như cạnh tranh với nhau để gắn vào kháng nguyên đích. Trong các trường hợp này các epitop của kháng thể chủ thể có thể là giống, gần như là giống hoặc đủ gần (theo nghĩa tuyến tính, tại vị trí mà chúng được phân tách bởi một số axit amin hoặc về mặt cấu tạo) do đó cả hai kháng thể đều bị ức chế hoặc ngăn cản liên kết với kháng nguyên về mặt không gian hoặc tĩnh điện.

Các bin đã xác định này thường có thể được kết hợp với một số vùng chức năng SEZ6 nhất định (ví dụ, kháng thể tham chiếu sẽ liên kết với epitop nằm trong vùng chức năng đặc hiệu) mặc dù sự tương quan này không phải luôn đúng (ví dụ, có thể có nhiều hơn một bin trong vùng chức năng hoặc bin này có thể được xác định về mặt cấu tạo và chứa nhiều hơn một vùng chức năng). Sẽ được hiểu là người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này có thể dễ dàng xác định mối liên hệ giữa các vùng chức năng SEZ6 và các bin được xác định theo kinh nghiệm.

Đối với sáng chế, phân tích liên kết cạnh tranh bằng cách sử dụng các kỹ thuật được thừa nhận trong lĩnh vực này (ví dụ, ELISA, cộng hưởng plasmon bề mặt hoặc đo giao thoa lớp sinh học) xác định ít nhất 7 bin riêng biệt, mỗi bin trong số đó được phát hiện là chứa nhiều chất điều biến kháng thể. Với các mục đích của sáng chế này, 7 bin này được gọi là bin A đến F và bin U. Các bin A đến F là các bin duy nhất và các kháng thể nằm trong mỗi bin này cạnh tranh với nhau để liên kết với protein SEZ6. Bin U chứa các kháng thể không cạnh tranh với các kháng thể trong các bin A đến F, nhưng có thể cạnh tranh với nhau để liên kết. Do đó, theo các phương án được chọn, sáng chế đề xuất chất điều biến nằm trong bin được chọn từ nhóm bao gồm bin A, bin B, bin C, bin D, bin E, bin F, và bin U. Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất chất điều biến nằm trong bin được xác định bởi kháng thể tham chiếu được chọn từ nhóm bao gồm SC17.1, SC17.2, SC17.3, SC17.4, SC17.8, SC17.9, SC17.10, SC17.11, SC17.14, SC17.15, SC17.16, SC17.17, SC17.18, SC17.19, SC17.22, SC17.24, SC17.27, SC17.28, SC17.29, SC17.30, SC17.32, SC17.34, SC17.35, SC17.36, SC17.38, SC17.39, SC17.40, SC17.41, SC17.42, SC17.45, SC17.46, SC17.47, SC17.49, SC17.50, SC17.53, SC17.54, SC17.56, SC17.57, SC17.59, SC17.61, SC17.63, SC17.71, SC17.72, SC17.74, SC17.76, SC17.77, SC17.79, SC17.81, SC17.82, SC17.84, SC17.85, SC17.87, SC17.89, SC17.90, SC17.91, SC17.93, SC17.95, SC17.97, SC17.99, SC17.102, SC17.114, SC17.115, SC17.120, SC17121, SC17.122, SC17.140, SC17.151, SC17.156, SC17.161, SC17.166, SC17.187, SC17.191, SC17.193, SC17.199 và SC17.200. Theo các phương án khác nữa, sáng chế đề cập đến chất điều biến từ bin A, chất điều biến từ bin B, chất điều biến từ bin C, chất điều biến từ bin D, chất điều biến từ bin E, chất điều biến từ bin F hoặc chất điều biến từ bin U. Các phương án ưu tiên khác nữa đề xuất chất điều biến kháng thể tham chiếu và kháng thể bất kỳ mà cạnh tranh với kháng thể tham chiếu.

Thuật ngữ "cạnh tranh" hoặc "kháng thể cạnh tranh" khi được sử dụng để đề cập đến chất điều biến đã được mô tả để chỉ sự cạnh tranh liên kết giữa các kháng thể như được xác định bởi thử nghiệm, trong đó kháng thể tham chiếu hoặc đoạn có chức năng miễn dịch gần như là ngăn cản hoặc ức chế (ví dụ, nhiều hơn 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85% hoặc 90%.) liên kết đặc hiệu của kháng thể thử nghiệm với kháng nguyên chung. Các phương pháp thích hợp để xác định sự cạnh tranh này bao gồm các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này như, ví dụ, đo giao thoa lớp sinh học, cộng hưởng plasmon bề mặt, đếm tế bào theo dòng chảy, ELISA cạnh tranh, v.v..

Theo các phương án được chọn, sáng chế đề xuất chất điều biến pan-SEZ6 mà kết hợp với SEZ6 và ít nhất một thành viên thuộc họ SEZ6 khác (ví dụ, SEZ6L hoặc SEZ6L2). Theo các phương án đã chọn khác, sáng chế đề xuất chất điều biến SEZ6 mà kết hợp đặc hiệu miễn dịch với một hoặc nhiều chất đồng đẳng của SEZ6 nhưng không kết hợp đặc hiệu miễn dịch với bất kỳ thành viên nào thuộc họ SEZ6 khác. Theo các phương án khác nữa, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị cho đối tượng cần điều trị bao gồm sử dụng lượng có tác dụng điều trị của chất điều biến pan-SEZ6. Các phương án khác nữa bao gồm phương pháp điều trị cho đối tượng cần điều trị bao gồm sử dụng lượng có tác dụng điều trị của chất điều biến SEZ6 mà kết hợp đặc hiệu miễn dịch với một hoặc nhiều chất đồng đẳng của SEZ6 nhưng không kết hợp đặc hiệu miễn dịch với bất kỳ thành viên nào khác thuộc họ SEZ6.

Ngoài các ứng dụng điều trị nêu trên, sẽ được hiểu là chất điều biến theo sáng chế có thể được sử dụng để phát hiện, chẩn đoán hoặc phân loại các rối loạn có liên quan đến SEZ6 và, cụ thể là, các rối loạn tăng sinh. Theo một số phương án, chất điều biến này có thể được sử dụng cho đối tượng và được phát hiện hoặc theo dõi *in vivo*. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ hiểu rằng chất điều biến này có thể được gắn nhãn hoặc kết hợp với chất chỉ thị hoặc gen chỉ thị như được mô tả dưới đây và được phát hiện bằng cách sử dụng kỹ thuật bất kỳ trong số nhiều kỹ thuật chuẩn (ví dụ, MRI, quét CAT quét PET, v.v.).

Do đó, theo một số phương án, sáng chế mô tả phương pháp chẩn đoán, phát hiện hoặc theo dõi rối loại liên quan đến SEZ6 *in vivo* ở đối tượng cần điều trị bao gồm bước sử dụng chất điều biến SEZ6.

Trong các trường hợp khác, chất điều biến có thể được sử dụng trong việc thiết lập chẩn đoán *in vitro* bằng cách sử dụng các quy trình đã được công nhận trong lĩnh vực này. Như vậy, phương án ưu tiên bao gồm phương pháp chẩn đoán rối loạn tăng sinh ở đối tượng cần điều trị bao gồm các bước:

a. thu mẫu mô từ đối tượng;

b. cho mẫu mô tiếp xúc với ít nhất một chất điều biến SEZ6; và

c. phát hiện hoặc định lượng chất điều biến SEZ6 đã liên kết với mẫu.

Các phương pháp này có thể được hiểu dễ dàng nhờ đơn này và có thể được thực hiện dễ dàng bằng cách sử dụng công nghệ đã có trên thị trường như máy đọc đĩa tự động, hệ báo cáo chuyên dụng, v.v.. Theo các phương án được chọn, chất điều biến SEZ6 này sẽ liên kết với các tế bào duy trì khối u có mặt trong mẫu. Theo các phương án ưu tiên khác, bước phát hiện hoặc định lượng bao gồm làm giảm tần suất tế bào tạo u và phát hiện chúng. Ngoài ra, phân tích pha loãng giới hạn có thể được tiến hành như đã nêu trên và tốt hơn nếu sử dụng ứng dụng thống kê phân bố Poisson để có được sự tính toán chính xác đối với sự giảm tần suất.

Theo phương án tương tự, sáng chế đề xuất kit hoặc dụng cụ và phương pháp liên quan mà hữu ích trong việc chẩn đoán và theo dõi của các rối loạn liên quan đến SEZ6 như bệnh ung thư. Để đạt được mục đích này, sáng chế ưu tiên đề xuất sản phẩm hữu ích để chẩn đoán hoặc điều trị các rối loạn liên quan đến SEZ6 bao gồm vật chứa chứa chất điều biến SEZ6 và giấy hướng dẫn sử dụng để sử dụng chất điều biến SEZ6 để điều trị hoặc chẩn đoán rối loạn liên quan đến SEZ6. Theo các phương án đã chọn, dụng cụ và phương pháp đi kèm bao gồm bước cho tiếp xúc với ít nhất một tế bào khối u tuần hoàn.

Các phương án ưu tiên khác theo sáng chế còn khai thác các đặc tính của chất điều biến đã được mô tả như là công cụ hữu ích để nhận biết, mô tả, phân lập, tách hoặc làm giàu các quần thể hoặc quần thể con của các tế bào tạo u bằng các phương pháp như phân tích đếm tế bào theo dòng bao gồm phân loại tế bào hoạt hóa bằng huỳnh quang (FACS) hoặc cắt bằng laze.

Như vậy, phương án ưu tiên khác theo sáng chế mô tả phương pháp nhận biết, phân lập, cắt hoặc làm giàu quần thể tế bào tạo u bao gồm bước cho các tế bào tạo u này tiếp xúc với chất điều biến SEZ6.

Những nội dung nêu trên là phần tóm lược và do đó bao gồm, bởi tính cần thiết, sự đơn giản hóa, tổng quát hóa, và bỏ qua các chi tiết; do đó, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này cần phải hiểu rằng phần bản chất kỹ thuật của sáng chế chỉ là minh họa và không nhằm để giới hạn phạm vi của sáng chế theo cách bất kỳ. Các khía cạnh khác, các dấu hiệu và ưu điểm của các phương pháp, chế phẩm và/hoặc dụng cụ và/hoặc đối tượng khác được mô tả ở đây sẽ trở nên rõ ràng trong các phần mô tả ở đây. Phần bản chất kỹ thuật của sáng chế được đưa ra để giới thiệu việc chọn lựa các khái niệm ở dạng được tối giản mà được mô tả chi tiết hơn dưới đây trong phần mô tả chi tiết sáng chế. Phần bản chất kỹ thuật của sáng chế này không nhằm xác định các dấu hiệu quan trọng hoặc các dấu hiệu thiết yếu của đối tượng yêu cầu bảo hộ, cũng không nhằm để được sử dụng như là để hỗ trợ việc xác định phạm vi của đối tượng yêu cầu bảo hộ.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Các Fig. 1A đến 1E là các dạng thể hiện khác nhau của SEZ6 bao gồm các trình tự axit nucleic hoặc axit amin liên quan đến chất điều biến SEZ6 được mô tả ở đây. Các Fig. 1A và 1B (SEQ ID NO: 1 và 2) thể hiện trình tự ARN thông tin có chiều dài đầy đủ chứa các khung đọc mở (ORFs) (được gạch chân) lần lượt mã hóa các biến thể SEZ6 1 và 2. Các Fig. 1C và 1D (SEQ ID NO: 3 và 4) lần lượt thể hiện các trình tự axit amin tương ứng của các ORF được thể hiện trên các Fig. 1A và 1B, với các gốc axit amin được gạch chân một lần thể hiện vùng chức năng mở rộng xuyên màng được dự đoán cho mỗi chất đồng đẳng protein và các gốc axit amin được gạch chân hai lần là các peptit tín hiệu; Fig. 1E thể hiện sự sắp xếp thẳng hàng trình tự hai chất đồng đẳng protein (SEQ ID NO: 3 và 4) để minh họa sự khác biệt về trình tự ở các đầu cùng bào tương của mỗi chất đồng đẳng, với các gốc được gạch chân thể hiện sự khác nhau giữa hai trình tự; và Fig. 1F thể hiện bằng sơ đồ vùng ngoại bào của protein SEZ6 minh họa các vị trí của các vùng chức năng khác nhau.

Các Fig. 2A đến 2C thể hiện bằng bảng tỉ lệ phần trăm tương đồng ở mức độ protein giữa chất đồng đẳng SEZ6 gần nhất của người và các protein SEZ6 của khỉ nâu, khỉ cynomolgus, chuột nhắt hoặc chuột cống (Fig. 2A); danh mục dạng bảng của các số truy cập trình tự cADN hoặc protein khác nhau cho mỗi chất đồng đẳng được báo cáo thuộc họ SEZ6 của các gen (Fig. 2B); và tỉ lệ phần trăm tương đồng ở mức độ

protein giữa các chất đồng đẳng dài nhất của các protein SEZ6, SEZ6L, và SEZ6L2 của người (Fig. 2C).

Các Fig. 3A đến 3C thể hiện các trình tự axit nucleic hoặc axit amin liên quan đến việc tạo ra kháng nguyên hoặc các dòng tế bào được sử dụng để tạo ra hoặc mô tả chất điều biến SEZ6 được mô tả ở đây. Đối với SEZ6 của người, dòng cADN đặc hiệu (Fig. 3A; SEQ ID NO: 5) mã hóa protein SEZ6 trưởng thành hoàn chỉnh của người (Fig. 3B; SEQ ID NO: 6) được cấu trúc từ dòng cADN thương mại (BC146292; SEQ ID NO: 7) có các khác biệt đã biết (Fig. 3C) so với trình tự tham chiếu trên cơ sở dữ liệu, NP_849191 (SEQ ID NO: 3), đối với protein SEZ6.

Các Fig. 4A và 4B thể hiện cADN (Fig. 4A; SEQ ID NO: 8) được sử dụng để biểu hiện cấu trúc Fc-SEZ6 ở các tế bào CHO-S và tạo ra kháng nguyên protein (Fig. 4B; SEQ ID NO: 9), chứa ECD của SEZ6 của người được dung hợp với vùng chức năng Fc của IgG2 của người, trong đó các trình tự được gạch chân tương ứng với vùng chức năng Fc của IgG2 của người, các trình tự được gạch chân hai lần tương ứng với peptit tín hiệu của IgK, và các axit amin in đậm tương ứng với các gốc được đóng góp bởi các vị trí cắt giới hạn được sử dụng để tách dòng đoạn hSCRx17.

Các Fig. 5A đến 5J thể hiện các trình tự axit nucleic hoặc axit amin liên quan đến việc tạo ra kháng nguyên hoặc các dòng tế bào được sử dụng để tạo ra hoặc xác định đặc điểm chất điều biến SEZ6 được mô tả ở đây, trong đó các trình tự được gạch chân thể hiện ECD của protein cho SEZ6 đặc hiệu hoặc thành viên họ SEZ6 đang được minh họa, và các Fig này chứa các trình tự cADN cho các cấu trúc mã hóa SEZ6 trưởng thành của chuột (Fig. 5A, SEQ ID NO: 10), SEZ6 trưởng thành của chuột (Fig. 5C, SEQ ID NO: 12), SEZ6 trưởng thành của khỉ cynomolgus (Fig. 5E, SEQ ID NO: 14), ECD trưởng thành của protein SEZ6L của người (Fig. 5G, SEQ ID NO: 16), hoặc ECD trưởng thành của protein SEZ6L2 của người (Fig. 5I, SEQ ID NO: 18), hoặc các protein tương ứng được mã hóa bởi các cấu trúc cADN này, cụ thể là SEZ6 trưởng thành của chuột (Fig. 5B, SEQ ID NO: 11), SEZ6 trưởng thành của chuột (Fig. 5D, SEQ ID NO: 13), SEZ6 trưởng thành của khỉ cynomolgus (Fig. 5F, SEQ ID NO: 15), ECD trưởng thành của protein SEZ6L của người (Fig. 5H, SEQ ID NO: 17), hoặc ECD trưởng thành của protein SEZ6L2 của người (Fig. 5J, SEQ ID NO: 19).

Các Fig. 6A và 6B minh họa các mức độ biểu hiện ARN thông tin của các gen khác nhau như đo được bằng cách sử dụng kỹ thuật giải trình tự toàn bộ sản phẩm

phiên mã (SOLiD) của ARN thông tin thu được từ các quần thể con tế bào khối u hoặc các mô bình thường. Fig. 6A thể hiện bằng bảng các gen liên quan đến các khối u có các đặc tính thần kinh nội tiết; và Fig. 6B thể hiện bằng đồ thị sự biểu hiện ARN thông tin của SEZ6 ở các mô bình thường và một số khối u ghép khác loài không truyền thống (NTX) thu được từ các bệnh ung thư phổi.

Fig. 7A đến 7F thể hiện các mức độ biểu hiện ARN thông tin được phân tích bằng cách sử dụng vi chuỗi phản ứng. Fig. 7A biểu diễn bằng đồ thị sự kết cụm không được giám sát của các profin vi chuỗi phản ứng đối với 46 dòng u và hai mô bình thường; Các Fig. 7B và 7C thể hiện bằng bảng các trị số cường độ được chuẩn hóa tương ứng với các mức độ biểu hiện tương đối của các gen đã chọn liên quan đến kiểu hình thần kinh nội tiết (Fig. 7B) hoặc con đường truyền tín hiệu Notch (Fig. 7C) trong đó các ô không được bôi đậm và các con số tương đối thấp thể hiện là ít đến không biểu hiện và các ô đậm hơn và các con số tương đối cao thể hiện các mức độ biểu hiện cao hơn; Fig. 7D biểu diễn bằng đồ thị mức độ biểu hiện tương đối của các HES6 ARN thông tin ở các khối u khác nhau và các mô đối chứng như đo được bằng cách sử dụng qRT-PCR; Fig. 7E thể hiện bằng bảng các trị số cường độ được chuẩn hóa tương ứng với các mức độ biểu hiện tương đối của các gen được chọn chỉ thị sự hình thành tế bào thần kinh, nhiệm vụ thần kinh, hoặc quá trình biệt hóa hướng đến sự chết thần kinh, với các ô không được bôi đậm thể hiện là ít đến không biểu hiện và các ô đậm hơn thể hiện các mức độ biểu hiện cao hơn; và Fig. 7F biểu diễn bằng đồ thị các trị số cường độ được chuẩn hóa tương ứng với sự biểu hiện tương đối của SEZ6 ở các dòng u NTX khác nhau.

Các Fig. 8A và 8B biểu diễn bằng đồ thị các mức độ biểu hiện tương đối của các sản phẩm phiên mã ARN thông tin của SEZ6 như đo được bằng RT-PCR ở nhiều mẫu ARN khác nhau được phân lập từ các mô bình thường hoặc các khối u NTX thần kinh nội tiết lớn (Fig. 8A) và nhiều khối u NTX khác (Fig. 8B).

Các Fig. 9A và 9B biểu diễn bằng đồ thị các mức độ biểu hiện ARN thông tin tuyệt đối (Fig. 9A) hoặc được chuẩn hóa (Fig. 9B) của SEZ6 của người như đo được bởi RT-PCR ở các mẫu u nguyên vẹn (chấm xám) hoặc mô gần kề bình thường phù hợp (NAT; chấm trắng) từ những bệnh nhân có một trong số 18 loại u rắn khác nhau.

Các Fig. 10A và 10B thể hiện, dưới dạng bảng, các trình tự axit amin liên tục của các vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của nhiều chất điều biến SEZ6 ví

dụ của chuột và được làm tương thích với người được phân lập, tách dòng và được thao tác di truyền như được mô tả trong phần ví dụ ở đây.

Fig. 11 thể hiện nhiều đặc tính khác nhau của chất điều biến được lấy làm ví dụ theo sáng chế. Fig. 11A thể hiện các đặc điểm sinh hóa và miễn dịch của chất điều biến SEZ6 ví dụ như được biểu diễn ở dạng bảng; và Fig. 11B thể hiện tương quan giữa vùng chức năng mà kháng thể gắn vào và hiệu lực của kháng thể trong thử nghiệm giết *in vitro*.

Các Fig. 12A và 12B thể hiện việc phát hiện sự biểu hiện của SEZ6. Fig. 12A thể hiện sự biểu hiện của SEZ6 ở các tế bào HEK-293T được thao tác di truyền để biểu hiện quá mức protein SEZ6 của người (h293T-HuSEZ6) bằng cách sử dụng kháng thể kháng SEZ6 SC17.33; Fig. 12B thể hiện sự biểu hiện protein tương đối của SEZ6 của người ở nhiều khối u NTX khác nhau và các dịch ly giải mô bình thường như đo được bằng cách sử dụng thử nghiệm điện hóa phát quang.

Các Fig. 13A và 13B thể hiện việc phát hiện bằng kỹ thuật đếm tế bào theo dòng sự biểu hiện protein SEZ6 trên các tế bào u NTX bằng cách sử dụng nhiều kháng thể kháng SEZ6 khác nhau (Fig. 13A); trong khi đó Fig. 13B thể hiện sự biểu hiện tăng của protein SEZ6 ở các CSC so với các quần thể con NTG bằng cách sử dụng nhiều kháng thể kháng SEZ6 khác nhau (Fig. 13B).

Các Fig. 14A và 14B thể hiện là các CSC biểu hiện SEZ6 thể hiện tình trạng nổi u gia tăng so với các CSC không biểu hiện SEZ6. Fig. 14A là biểu đồ đường viền thể hiện sự phân loại tế bào bằng FACS của các tế bào ở khối u phổi (LU37) trên cơ sở sự biểu hiện của CD324 (chất chỉ thị của các CSC) và SEZ6; Fig. 14B biểu diễn bằng đồ thị sự sinh trưởng của các tế bào u là $CD324^{+}SEZ6^{+}$ (hình tròn màu đen) hoặc $CD324^{+}SEZ6^{-}$ (hình tròn màu trắng) sau khi cấy vào chuột suy giảm miễn dịch. Các tế bào u biểu hiện cả CD324 và SEZ6 thể hiện tình trạng nổi u gia tăng.

Các Fig. 15A và 15B lần lượt biểu diễn bằng bảng và đồ thị, minh họa rằng chất điều biến được mô tả có thể được sử dụng hiệu quả làm các gốc hướng đích để đưa phần tải gây độc tế bào đến các tế bào được thao tác di truyền để biểu hiện SEZ6 (Fig. 15A) và các khối u phổi NTX (LU80, LU37 và LU100) sinh trưởng *in vitro* (Fig. 15B), tại đó sự giảm các đơn vị phát quang tương đối được chuẩn hóa (RLU) cho thấy tác dụng diệt tế bào thông qua sự nội nhập độc tố saporin.

Fig. 16 biểu diễn bằng bảng các kết quả hóa mô miễn dịch thể hiện sự biểu hiện của SEZ6 trên các khối u NTX khác nhau.

Các Fig. 17A và 17B thể hiện khả năng của các kháng thể liên hợp kháng SEZ6 của chuột nhắt trong việc làm chậm sự sinh trưởng *in vitro và in vivo* của các tế bào u NTX. Fig. 17A thể hiện các kết quả của thử nghiệm tiêu diệt *in vitro* bằng cách sử dụng các ADC kháng SEZ6 trên các tế bào HEK293 biểu hiện quá mức SEZ6; trong khi đó Fig. 17B thể hiện tác dụng của các ADC kháng SEZ6 trên sự sinh trưởng *in vivo* của các khối u SCLC (LU86) và LCNEC (LU50).

Các Fig. 18A và 18B thể hiện khả năng của các kháng thể liên hợp kháng SEZ6 được làm tương thích với người trong việc làm chậm sự sinh trưởng *in vivo* của bốn khối u SCLC (LU80, LU64, LU111 và LU117) và đạt được tác dụng làm giảm bền vững ở các con chuột khuyết miễn dịch.

Mô tả chi tiết sáng chế

I. Phần giới thiệu

Mặc dù sáng chế có thể được thể hiện bằng nhiều dạng khác nhau, được mô tả ở đây là các phương án minh họa cụ thể của sáng chế mà minh họa bằng ví dụ nguyên lý của sáng chế. Cần phải nhấn mạnh rằng sáng chế không bị giới hạn ở các phương án minh họa cụ thể này. Hơn nữa, các đề mục nhỏ của các phần được sử dụng trong bản mô tả chỉ nhằm mục đích tổ chức và không được hiểu là giới hạn đối tượng được mô tả. Cuối cùng, cho các mục đích của phần bộc lộ này, trừ khi được lưu ý khác, toàn bộ số Đăng ký trình tự để nhận dạng có thể được tìm thấy trong cơ sở dữ liệu tham chiếu NCBI (RefSeq) và/hoặc cơ sở dữ liệu về trình tự được lưu trữ Ngân hàng gen NCBI®.

Như được đề cập trên đây, bất ngờ phát hiện ra là sự biểu hiện của SEZ6 có liên quan đến sự sinh trưởng khối u và các rối loạn tăng sinh, đặc biệt là trong trường hợp của các khối u có các dấu hiệu thần kinh nội tiết, và SEZ6 và các biến thể hoặc các chất đồng đẳng của chúng cung cấp các chất chỉ thị khối u hữu ích mà có thể được khai thác trong việc điều trị các bệnh liên quan. Hơn nữa, như được thể hiện trong đơn này, đã bất ngờ phát hiện là là các chất chỉ thị hoặc yếu tố quyết định SEZ6 như protein SEZ6 bề mặt tế bào có liên quan đến các tế bào gốc ung thư (còn được biết là các tế bào duy trì khối u) và có thể được sử dụng hiệu quả để loại trừ hoặc làm câm các tế bào này. Khả năng làm giảm hoặc triệt tiêu chọn lọc các tế bào gốc ung thư (ví

dụ, bằng cách sử dụng chất điều biến SEZ6 liên hợp) đặc biệt gây ngạc nhiên ở chỗ các tế bào này đã được biết là kháng lại nhiều liệu pháp điều trị truyền thống. Tức là, hiệu quả của các phương pháp điều trị truyền thống, cũng như các phương pháp điều trị hướng đích gần đây, thường bị hạn chế bởi sự tồn tại và/hoặc phát sinh của các tế bào gốc ung thư kháng thuốc mà có khả năng duy trì bệnh ung thư ngay cả khi sử dụng nhiều loại phương pháp điều trị đa dạng này. Ngoài ra, các yếu tố quyết định liên quan đến tế bào gốc ung thư thường tạo ra đích điều trị kém do sự biểu hiện thấp hoặc không thống nhất, không duy trì được sự liên hợp với tế bào tạo u hoặc không biểu hiện ở bề mặt tế bào. Trái ngược với các giải pháp của kỹ thuật đã biết, các hợp chất và phương pháp được mô tả ở đây khắc phục một cách hiệu quả sự kháng vốn có này để loại trừ, làm tiêu, làm câm hoặc kích thích đặc hiệu sự biệt hóa của các tế bào gốc ung thư này nhờ đó làm vô hiệu hóa khả năng của chúng trong việc kéo dài hoặc cảm ứng lại sự sinh trưởng của khối u bên dưới.

Cụ thể hơn, đã phát hiện ra là chất điều biến SEZ6 như chất được mô tả ở đây có thể được sử dụng một cách thuận lợi trong việc tiên lượng, chẩn đoán, chẩn trị, điều trị hoặc ngăn ngừa các rối loạn tăng sinh (ví dụ các rối loạn khối u) ở các đối tượng cần điều trị. Do đó, mặc dù các phương án ưu tiên của sáng chế sẽ được bàn luận cụ thể dưới đây, đặc biệt là về các vùng chức năng, miền hoặc epitop cụ thể hoặc trong ngữ cảnh của các tế bào gốc ung thư hoặc các khối u có các đặc điểm thần kinh nội tiết và sự tương tác của chúng với chất điều biến được mô tả, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ hiểu rằng phạm vi của sáng chế không bị giới hạn bởi các phương án làm ví dụ này. Đúng hơn là, các phương án mở rộng nhất của sáng chế và các yêu cầu bảo hộ kèm theo đề cập một cách rộng và rõ ràng đến chất điều biến SEZ6 (bao gồm chất điều biến được liên hợp) và việc sử dụng chúng trong việc tiên lượng, chẩn đoán, chẩn trị, điều trị hoặc ngăn ngừa nhiều rối loại liên quan hoặc bị gây ra bởi SEZ6, bao gồm các rối loại khối u hoặc tăng sinh, bất kể cơ chế tác động cụ thể hoặc thành phần khối u, tế bào hoặc phân tử được hướng đích đặc hiệu bất kỳ.

Để đạt được mục đích đó, và như được chứng minh trong đơn sáng chế này, đã bất ngờ phát hiện ra là chất điều biến SEZ6 được mô tả có thể được sử dụng một cách hiệu quả để hướng đích và loại trừ hoặc theo cách khác làm mất khả năng của các tế bào tạo u hoặc tăng sinh và điều trị các rối loạn liên quan đến SEZ6 (ví dụ, rối loạn tạo u). Như được sử dụng ở đây, "rối loạn liên quan đến SEZ6" được hiểu là rối loạn hoặc

bệnh bất kỳ (bao gồm các rối loạn tăng sinh) mà được đánh dấu, chẩn đoán, phát hiện hoặc nhận biết bởi sự sai lệch về kiểu hình và kiểu gen của các thành phần di truyền của SEZ6 hoặc sự biểu hiện SEZ6 trong tiến trình hoặc sinh bệnh học của bệnh hoặc rối loạn này. Về mặt này, sai lệch kiểu hình của SEZ6 hoặc yếu tố quyết định có thể, ví dụ, bao gồm các mức tăng hoặc giảm biểu hiện protein SEZ6, biểu hiện bất thường protein SEZ6 trên một số quần thể tế bào xác định được hoặc biểu hiện bất thường protein SEZ6 ở pha hoặc giai đoạn không thích hợp của vòng đời tế bào. Tất nhiên, sẽ được hiểu rằng các mô hình biểu hiện tương tự của các yếu tố quyết định kiểu gen (ví dụ, mức độ phiên mã ARN thông tin) của SEZ6 cũng có thể được sử dụng để phân loại hoặc phát hiện các rối loạn liên quan đến SEZ6.

Như được sử dụng ở đây thuật ngữ "yếu tố quyết định" hoặc "yếu tố quyết định SEZ6" nghĩa là đặc điểm, đặc tính, chất chỉ thị hoặc yếu tố phát hiện được mà kết hợp theo cách phát hiện được, hoặc được phát hiện một cách đặc hiệu trong hoặc trên tế bào, quần thể tế bào hoặc mô cụ thể bao gồm các yếu tố nhận biết được trong hoặc trên mô, tế bào hoặc quần thể tế bào bị ảnh hưởng bởi bệnh hoặc rối loạn liên quan đến SEZ6. Theo các phương án ưu tiên được chọn chất điều biến SEZ6 có thể kết hợp, liên kết hoặc phản ứng trực tiếp với yếu tố quyết định SEZ6 (ví dụ, protein SEZ6 trên bề mặt tế bào hoặc ARN thông tin SEZ6) và nhờ đó làm thuyên giảm rối loạn. Các yếu tố quyết định phổ biến hơn có thể có bản chất hình thái, chức năng hoặc sinh hóa và có thể là kiểu gen hoặc kiểu hình. Theo các phương án ưu tiên khác, yếu tố quyết định này là kháng nguyên bề mặt tế bào hoặc thành phần di truyền mà được biểu hiện khác biệt hoặc ưu tiên hơn (hoặc không) bởi loại tế bào đặc hiệu (ví dụ, tế bào gốc ung thư) hoặc bởi tế bào trong một số điều kiện (ví dụ, trong các thời điểm đặc biệt của chu trình tế bào hoặc tế bào ở ngách thích hợp). Theo các phương án ưu tiên khác nữa, yếu tố quyết định này có thể bao gồm gen hoặc thực thể di truyền được điều hòa khác nhau (lên hoặc xuống) trong tế bào cụ thể hoặc quần thể tế bào riêng biệt, gen được biến đổi khác biệt về cấu trúc vật lý và thành phần hóa học của nó hoặc protein hoặc tập hợp các protein được liên hợp vật lý với gen mà biểu hiện các biến đổi hóa học khác biệt. Các yếu tố quyết định được đề xuất ở đây được hiểu một cách cụ thể là dương tính hoặc âm tính và có thể là tế bào, quần thể tế bào con hoặc mô (ví dụ, các khối u) theo sự có mặt (dương tính) hoặc không có mặt (âm tính) của chúng.

Theo cách tương tự, "chất điều biến SEZ6" theo sáng chế bao gồm theo nghĩa rộng hợp chất bất kỳ mà nhận biết, phản ứng, cạnh tranh, đối kháng, tương tác, liên kết, chủ vận hoặc kết hợp với biến thể hoặc chất đồng đẳng của SEZ6 (hoặc vùng chức năng, đoạn hoặc epitop đặc hiệu của chúng) hoặc thành phần di truyền của nó. Nhờ các tương tác này, chất điều biến SEZ6 có thể loại trừ, làm giảm hoặc làm dịu một cách thuận lợi tần suất, hoạt tính, sự tái phát, di căn hoặc di động của các tế bào tạo u (ví dụ, các tế bào duy trì khối u hoặc các tế bào gốc ung thư). Chất điều biến điển hình được mô tả ở đây bao gồm các nucleotit, oligonucleotit, polynucleotit, các peptit hoặc các polypeptit. Theo một số phương án ưu tiên nhất định, chất điều biến được chọn chứa các kháng thể liên kết với chất đồng đẳng của protein SEZ6 hoặc các đoạn phản ứng miễn dịch hoặc các dẫn xuất của chúng. Các kháng thể này có thể có bản chất đối kháng hoặc chủ vận và có thể tùy ý được kết hợp hoặc liên hợp với chất điều trị hoặc chẩn đoán bệnh. Hơn nữa, các kháng thể hoặc các đoạn kháng thể này có thể bao gồm các kháng thể làm tan, trung hòa hoặc nội nhập. Theo các phương án khác, chất điều biến theo sáng chế sẽ tạo thành cấu trúc SEZ6 chứa chất đồng đẳng SEZ6 hoặc đoạn phản ứng của chúng. Sẽ được hiểu rằng các cấu trúc này có thể bao gồm các protein dung hợp và có thể bao gồm các vùng chức năng phản ứng của các polypeptit khác như các globulin miễn dịch hoặc chất cải biến đáp ứng sinh học. Theo các khía cạnh khác nữa, chất điều biến SEZ6 này chứa gốc axit nucleic (ví dụ miARN, siARN, shARN, cấu trúc đối nghĩa, v.v..) mà gây ra các tác dụng mong muốn ở mức độ gen. Chất điều biến khác nữa phù hợp với phần mô tả trong đơn sáng chế này sẽ được thảo luận chi tiết dưới đây.

Phổ biến hơn chất điều biến SEZ6 theo sáng chế bao gồm theo nghĩa rộng hợp chất bất kỳ mà nhận biết, phản ứng, cạnh tranh, đối kháng, tương tác, liên kết, đối vận hoặc kết hợp với yếu tố quyết định SEZ6 (kiểu gen hoặc kiểu hình) bao gồm protein SEZ6 trên bề mặt tế bào. Bất cứ dạng nào của chất điều biến được chọn cuối cùng, tốt hơn nếu nó ở trạng thái được phân lập và được tinh chế trước khi đưa vào đối tượng. Về mặt này thuật ngữ "chất điều biến SEZ6 được phân lập" hoặc "kháng thể SEZ6 được phân lập" được hiểu theo nghĩa rộng và theo thực hành dược lý chuẩn nghĩa là dạng bào chế hoặc chế phẩm bất kỳ chứa chất điều biến này ở trạng thái gần như không chứa các tạp chất không mong muốn (sinh học hoặc loại khác). Hơn nữa các dạng bào chế này có thể được tinh chế và bào chế theo mong muốn bằng cách sử dụng

các kỹ thuật được công nhận trong lĩnh vực này. Tất nhiên, được hiểu là các chế phẩm "được phân lập" này có thể được bào chế hoặc kết hợp có chủ ý với các thành phần trơ hoặc thành phần hoạt tính nếu muốn để cải thiện các khía cạnh thương mại, sản xuất hoặc điều trị bệnh của sản phẩm cuối cùng và tạo ra dược phẩm. Theo nghĩa rộng hơn, các cân nhắc chung như vậy có thể được áp dụng cho chất đồng đẳng hoặc biến thể SEZ6 "phân lập được" hoặc axit nucleic "phân lập được" mã hóa chúng.

Hơn nữa, đã bất ngờ phát hiện rằng chất điều biến tương tác, kết hợp hoặc liên kết với các vùng chức năng, motif hoặc epitop SEZ6 cụ thể là đặc biệt hữu ích trong việc loại trừ các tế bào tạo u và/hoặc làm câm hoặc làm suy yếu tác động của tế bào gốc ung thư lên sự sinh trưởng hoặc lan truyền của khối u. Tức là, mặc dù chất điều biến mà phản ứng hoặc kết hợp với các vùng chức năng gần bề mặt tế bào (ví dụ, một trong số các vùng chức năng Sushi hoặc giống CUB) là hữu hiệu trong việc làm tiêu hoặc vô hiệu hóa các tế bào tạo u, đã bất ngờ phát hiện ra là chất điều biến kết hợp hoặc liên kết với các vùng chức năng, motif hoặc miền mà tương đối xa bề mặt tế bào hơn cũng là hữu ích trong việc loại trừ, vô hiệu hóa, làm tiêu, hoặc làm câm các tế bào tạo u. Điều này đặc biệt đúng với chất điều biến được liên hợp như, ví dụ, các thể liên hợp dược chất kháng thể kháng SEZ6 chứa chất gây độc tế bào.

Mặc dù sáng chế đề cập đến việc sử dụng chất điều biến SEZ6 bất kỳ trong việc điều trị rối loạn SEZ6 bất kỳ, bao gồm loại rối loạn tạo u bất kỳ, theo các phương án đặc biệt ưu tiên chất điều biến được mô tả có thể được sử dụng để ngăn ngừa, điều trị hoặc chẩn đoán các khối u có các đặc điểm thần kinh nội tiết (kiểu gen hoặc kiểu hình) bao gồm các khối u thần kinh nội tiết. "Các u thần kinh nội tiết thật" (NET) phát sinh từ hệ nội tiết rải rác và thường có khả năng xâm lấn cao. U thần kinh nội tiết xuất hiện trong thận, đường niệu-sinh dục (bàng quang, tuyến tiền liệt, buồng trứng, cổ tử cung, và niêm mạc tử cung), đường tiêu hóa (dạ dày, ruột kết), tuyến giáp (ung thư tuyến giáp dạng tủy), và phổi (ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ và ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn). Hơn nữa, chất điều biến được mô tả có thể được sử dụng có lợi để điều trị, phòng ngừa hoặc chẩn đoán u thần kinh nội tiết giả (pNET) mà bắt chước, bao gồm, giống hoặc thể hiện các đặc điểm chung về kiểu gen hoặc kiểu hình với u thần kinh nội tiết thật. "U thần kinh nội tiết giả" là các khối u phát sinh từ tế bào của hệ thần kinh nội tiết rải rác hoặc từ tế bào mà trong đó thác biệt hóa thần kinh nội tiết bị phản ứng sai lệch trong quá trình gây bệnh ung thư. Các pNET này thường có chung

một số đặc điểm về kiểu gen, kiểu hình hoặc sinh hóa với u thần kinh nội tiết được xác định theo cách truyền thống, bao gồm khả năng sinh ra tập hợp con các amin có hoạt tính sinh học, chất dẫn truyền thần kinh, và hormon peptit. Theo đó, với mục đích của sáng chế, các cụm từ "các khối u có các dấu hiệu thần kinh nội tiết" hoặc "các khối u biểu hiện các dấu hiệu thần kinh nội tiết" sẽ được hiểu là bao gồm cả u thần kinh nội tiết và u thần kinh nội tiết giả trừ khi được quy định khác theo ngữ cảnh.

Ngoài mối liên hệ với các khối u được đề cập trên đây, còn có dấu hiệu về mối liên hệ kiểu hình hoặc kiểu gen giữa các tế bào tạo u (TIC) được chọn và yếu tố quyết định SEZ6. Về mặt này các TIC được chọn (ví dụ, các tế bào gốc ung thư) có thể biểu hiện các mức gia tăng các protein SEZ6 so với mô bình thường và các tế bào không tạo u (NTG), mà cùng nhau thường chứa nhiều khối u rắn. Do đó, yếu tố quyết định SEZ6 có thể bao gồm chất chỉ thị liên quan đến khối u (hoặc kháng nguyên hoặc chất sinh miễn dịch) và chất điều biến được mô tả có thể cung cấp các chất hữu hiệu để phát hiện và kìm hãm TIC và rối loạn tạo u có liên quan do các mức protein trên bề mặt tế bào hoặc trong vi môi trường của khối u bị thay đổi. Do đó, chất điều biến SEZ6, bao gồm chất đối vận có phản ứng miễn dịch và các kháng thể mà kết hợp, liên kết, hoặc phản ứng với các protein này, có thể làm giảm hiệu quả tần suất của các tế bào tạo u và có thể là hữu ích trong việc trong việc loại trừ, làm tiêu, làm mất hiệu lực, làm giảm, thúc đẩy quá trình biệt hóa của, hoặc theo cách khác ngăn ngừa hoặc hạn chế khả năng không hoạt động và/hoặc tiếp tục kích thích sự sinh trưởng, di căn hoặc tái phát khối u ở bệnh nhân của các tế bào tạo u. Về mặt này, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ hiểu rằng sáng chế còn đề xuất thêm chất điều biến SEZ6 và ứng dụng của chúng trong việc làm giảm tần suất của các tế bào tạo u.

II. Sinh lý học SEZ6

SEZ6 (còn được biết là thể tương đồng 6 liên quan đến chứng co giật) là protein xuyên màng typ I được tách dòng ban đầu từ các tế bào có nguồn gốc từ vỏ não chuột nhắt được xử lý bằng pentylentetrazol gây co giật (Shimizu-Nishikawa, 1995; PMID: 7723619). Các đồng đẳng điển hình của protein SEZ6 bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, người (NP_849191; NP_001092105), tinh tinh (XP_511368, NP_001139913), chuột nhắt (NP_067261), và chuột cống (NP_001099224). Ở người, gen SEZ6 gồm có 17 exon kéo dài 51,1 kBp nằm trên nhiễm sắc thể 17q11.2. Các vị trí nhận chỗ ghép thay thế chỉ cách 16 cặp bazơ trong exon cuối tạo ra hai sản phẩm phiên mã được xử

lý, một sản phẩm phiên mã xấp xỉ 4210 bazơ (NM_178860; Fig. 1A) và một sản phẩm xấp xỉ 4194 bazơ (NM_001098635, Fig. 1B). Sản phẩm phiên mã trước mã hóa protein 994 axit amin (NP_849191; Fig. 1C), trong khi đó sản phẩm phiên mã sau mã hóa protein 993 axit amin (NP_001092105; Fig. 1D). Hai chất đồng đẳng protein của SEZ6 này cùng tương đồng toàn bộ 100% giữa các vùng chức năng ngoại bào của chúng và các vùng xuyên màng của chúng, chỉ khác nhau ở mười gốc axit amin cuối cùng (Fig. 1E). Biến thể ghép thứ ba đã được báo cáo là tạo ra dạng tiết của SEZ6 (Shimizu-Nishikawa, 1995; PMID: Fig. 7723619), tuy nhiên nó chưa được bao gồm trong RefSeqs đi kèm trong cổng thông tin của trang Gene của cơ sở dữ liệu NCBI. Chất điều biến theo sáng chế có thể liên kết với bất kỳ trong số các biến thể ghép nối này.

Sự liên quan về sinh học của các chất đồng đẳng này là không rõ ràng, mặc dù một nghiên cứu đã gợi ý về các tác động trái ngược đối với màng so với các protein hòa tan khi sự biểu hiện của chúng được phục hồi trong các nơron của các con chuột bất hoạt SEZ6 của chuột (Gunnersen *et al.* 2007, PMID: 18031681). Sự tương đồng trình tự protein giữa các loài đối với các protein SEZ6 được liệt kê trên Fig. 2A. Trong bộ gen của người, có hai gen có quan hệ gần- gen giống thể tương đồng 6 liên quan đến chứng co giật (SEZ6L) và gen giống thể tương đồng 6 liên quan đến chứng co giật 2 (SEZ6L2), mỗi gen có nhiều biến thể ghép mã hóa nhiều chất đồng đẳng (Fig. 2B). Tỉ lệ phần trăm tương đồng đối với protein dài nhất của mỗi thành viên thuộc họ này của các protein giống SEZ6 ở người được thể hiện trên Fig. 2C. Tóm lại, SEZ6, SEZ6L và SEZ6L2, bao gồm các chất đồng đẳng khác nhau của chúng, được gọi là họ SEZ6 theo mục đích của đơn này. Chất điều biến SEZ6 theo sáng chế bao gồm chất điều biến mà đặc hiệu đối với mỗi SEZ6, SEZ6L hoặc SEZ6L2. Theo cách khác, chất điều biến theo sáng chế có thể phản ứng chéo với SEZ6 và một hoặc cả hai SEZ6L và/hoặc SEZ6L2.

Protein SEZ6 trưởng thành bao gồm một loạt các vùng chức năng cấu trúc: vùng chức năng bào tương, vùng chức năng xuyên màng và vùng chức năng ngoại bào chứa vùng chức năng có đầu cùng N duy nhất, tiếp theo là hai vùng chức năng Sushi và giống CUB luân phiên, và ba lần lặp vùng chức năng Sushi nối tiếp nữa. Hai chất đồng đẳng của kháng nguyên SEZ6 tồn tại, và chỉ khác nhau ở vùng chức năng bào tương, ở đầu tận cùng carboxyl.

Fig. 1F thể hiện bằng sơ đồ vùng ngoại bào của protein SEZ6, minh họa sự liền kề phổ biến của các vùng chức năng Sushi và CUB, và vùng chức năng có đầu cùng N. Nhìn chung, các vùng chức năng này được nhận biết là xuất hiện ở khoảng các gốc axit amin 336 đến 395 (Vùng chức năng Sushi 1), 397 đến 508 (Vùng chức năng CUB1), 511 đến 572 (Vùng chức năng Sushi 2), 574 đến 685 (Vùng chức năng CUB2), 690 đến 748 (Vùng chức năng Sushi 3), 750 đến 813 (Vùng chức năng Sushi 4), 817 đến 878 (Vùng chức năng Sushi 5), với vùng chức năng đầu cùng N ở khoảng gốc axit amin 1 đến 335, và vùng nghiêng kết cấu chứa gốc giàu prolin ở khoảng gốc axit amin từ 71 đến 169.

Các vùng lặp Sushi là giống với các vùng lặp bảo thủ ngắn được tìm thấy ở các protein điều hòa bổ sung khác của người (tức là, các vị trí liên kết C3b/C4b bổ sung). Các vùng chức năng giống CUB là tương tự với các vùng chức năng CUB được tìm thấy ở các protein liên kết bổ thể khác của động vật có vú mà được kết hợp với nhiều loại protein tham gia vào nhiều quá trình sinh học khác ngoài các quá trình hoạt hóa bổ thể, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở bắt chước, dẫn dắt axon, viêm, và kìm hãm khối u (Bork and Beckman, 1993, PMID: 8510165). Cả hai vùng chức năng Sushi và CUB đều có chức năng đối với SEZ6 bao gồm sự liên kết của các protein ngoại bào khác. Các protein chứa các vùng chức năng CUB cũng có thể được liên kết với các con đường truyền tín hiệu tế bào và phù hợp với chức năng này, các vùng chức năng bào tương đầu cùng C SEZ6 chứa motif Asn-Pro-Thr-Tyr (SEQ ID NO: 403), là đích tiềm năng của quá trình phosphoryl hóa bởi các thành viên thuộc họ Src tyrosin kinaza. Nếu đúng, điều này sẽ kết nối SEZ6 với con đường truyền tín hiệu tế bào dẫn đến sự hoạt hóa của Ras, gợi ý rằng SEZ6 có thể là thụ thể hướng thần kinh.

Lưu ý rằng, các thuật ngữ "protein trưởng thành" hoặc "polypeptit trưởng thành" như được sử dụng ở đây chỉ (các) dạng của protein SEZ6 được tạo ra mà không có peptit tín hiệu gồm 19 axit amin mà có thể được cắt ra trước khi biểu hiện trên bề mặt tế bào. Trừ khi có quy định khác, việc đánh số axit amin SEZ6 (đối với các vùng chức năng, miền, epitop, v.v..) sẽ như trường hợp của protein trưởng thành mà không có trình tự dẫn.

SEZ6 có thể phát hiện được bằng RT-PCR ở mức thấp độ trong thận, gan, tim, phổi và tuyến ức của các động vật gặm nhấm, mặc dù sự biểu hiện protein mạnh chỉ có thể được thấy ở não, với mức đáng kể được biểu hiện ở tinh hoàn (Herbst and Nicklin,

1997, PMID: 9073173). Nhờ sử dụng huyết thanh đa dòng cho SEZ6, sự biểu hiện protein được phát hiện vào ngày 13 ở não trước của chuột nhắt đang phát triển. Sự chuyển màu mạnh được phát hiện ở các nơron trưởng thành, sau nguyên phân của phiến vỏ não đang phát triển và phiến con. Sự chuyển màu này bị giảm ở não của động vật trưởng thành, tại đó sự biểu hiện SEZ6 có thể được phát hiện ở các vùng não khác liên quan đến sự tạo hình hình thái học đáng diễn ra, như hồi hãi mã, tiểu não, và hành khứu giác và trong các nơron của võng mạc và tủy sống (Gunnersen *et al.*, 2007, PMID: 18031681). Các tín hiệu dày đặc được phát hiện ở các vùng có sự tập trung cao nhất của các thân tế bào thần kinh. Mặc dù SEZ6 biểu hiện phổ biến ở võng mạc, chức năng của võng mạc khi không có mặt SEZ6 không bị ảnh hưởng (Gunnersen *et al.*, 2009, PMID: 19662096). Kiểu nhuộm màu của SEZ6 liên quan chặt chẽ với sự xuất hiện của các lớp vỏ não mới và hồi hải mã và có vai trò đặc hiệu não trước đối với gen này trong quá trình phát triển. Ở người và chuột, SEZ6 được phát hiện ra là được biểu hiện khác nhau ở các vùng đặc hiệu cao của vỏ não mới (Gunnersen *et al.*, 2007, nêu trên).

Các đột biến ở gen SEZ6 của người có liên quan đến các chứng co giật do sốt (FS), chứng co giật liên quan đến sự tăng thân nhiệt và là loại bệnh co giật phổ biến nhất ở trẻ em (Yu *et al.*, 2007, PMID:17086543). FS có thể được phân loại là đơn giản hoặc phức tạp, tùy thuộc vào sự kéo dài, tái phát và mức độ của cơ thể bị ảnh hưởng bởi chứng co giật này. Theo số liệu thống kê ở Trung Quốc, không có đột biến nào ở SEZ6 được phát hiện ở 15 người đối chứng khỏe mạnh, nhưng các đột biến được phát hiện thấy ở 21 trong 60 bệnh nhân mắc chứng FS, với loại đột biến phổ biến nhất là dị hợp tử, gắn xen xytosin (đột biến chuyển khung) ở vị trí 1435 của cADN. Tỉ lệ xuất hiện đột biến là cao hơn đáng kể ở những bệnh nhân mắc FS phức tạp và ở những bệnh nhân có tiền sử gia đình có bệnh. Vì có 80% khả năng trẻ em mắc FS phức tạp sẽ mắc chúng co giật sau này trong cuộc đời, các tác giả sáng chế đề xuất rằng việc sàng lọc đột biến ở SEZ6 có thể có giá trị dự đoán sự tái phát FS hoặc sự phát triển chứng động kinh (Yu *et al.*, 2007, nêu trên). Các nghiên cứu sau đã đặt vấn đề về tỉ lệ xuất hiện, sự liên quan và khả năng của nghiên cứu này để có đủ năng lực tìm ra nguyên nhân, nhưng không chứng minh rằng SEZ6 có thể là một gen trong số nhiều gen đóng vai trò trong các rối loạn co giật (Mulley *et al.*, 2011, PMID: 21785725).

Các chức năng phân tử đặc hiệu của SEZ6 vẫn chưa rõ. Như được thảo luận ở trên, việc phân tích các môđun cấu trúc của protein được xác định bằng cách phân tích trình tự và tính tương đồng gợi ý về vai trò tiềm năng trong quá trình truyền tín hiệu, thông tin giữa tế bào-tế bào và phát triển thần kinh. Sự phân nhánh và khả năng kết nối các tế bào tua thần kinh tạo ra các mạng truyền tín hiệu mà tạo thành mạng điện của bộ não xuất hiện và đều được xác định bằng chương trình phân tử bên trong trong tế bào thần kinh cũng như các tín hiệu bên ngoài. Quá trình sinh trưởng của tế bào tua ở các nơron hình chóp, nơron chính trong não trước của động vật có vú, tạo ra các nơron có hình thái đặc biệt – thân tế bào hình chóp, và hai nhánh tua phức tạp, khác biệt: một xuất phát từ đỉnh và nhánh còn lại xuất phát từ gốc của thân tế bào. Gunnersen *et al.* (2007, nêu trên) đã chỉ ra rằng các con chuột mất hoạt tính SEZ6 biểu hiện thừa các tế bào sợi nhánh ngắn ở các nhánh tua của các nơron này, nhưng không thể hiện sự tăng ở toàn bộ dải sợi nhánh, dãy nơron mà nơron cho trước kết nối với chúng. Việc khôi phục sự biểu hiện các chất đồng đẳng SEZ6 liên kết màng ở các nơron bị bất hoạt dẫn đến tác dụng ức chế phân nhánh. Trong các thử nghiệm về hành vi, các con chuột mất hoạt tính SEZ6 biểu hiện sự thiếu hành vi thăm dò đặc hiệu, vận động và mất nhận thức. Các dữ liệu này đề xuất rằng SEZ6 là quan trọng trong việc đạt được sự cân bằng cần thiết giữa quá trình kéo dài và phân nhánh của sợi nhánh trong quá trình phát sinh câycó nhánh phức tạp trong quá trình phát triển.

Các nghiên cứu trên đây cùng đề xuất mạnh mẽ là protein SEZ6 là quan trọng đối với sự phát triển thần kinh và có thể có một số vai trò trong sự thông tin và truyền tín hiệu giữa tế bào – tế bào. Sự hoạt hóa lại không thích hợp của các con đường truyền tín hiệu phát triển hoặc sự không điều hòa các con đường truyền tín hiệu bình thường thường được quan sát thấy ở các khối u (Harris *et al.*, 2012). Một tập hợp các khối u có cùng các đặc tính báo hiệu sự hoạt hóa lại một phần các chương trình phát triển là các khối u có kiểu hình thần kinh nội tiết (Yao 2008; PMID: 18565894), trong đó chất chỉ thị hormon và nội tiết khác nhau được biểu hiện và/hoặc tiết ra, và nhiều chất chỉ thị thần kinh khác nhau báo hiệu sự hình thành tế bào thần kinh, nhiệm vụ thần kinh hoặc quá trình biệt hóa hướng đến sự chết thần kinh được biểu hiện. Các khối u có các dấu hiệu thần kinh nội tiết phát sinh một cách không thường xuyên ở nhiều vị trí quan trọng, và mặc dù việc phân loại thấu đáo chúng vẫn còn mơ hồ (Yao; PMID: 18565894; Klimstra 2010; PMID: 20664470; Klöppel, 2011; PMID:

22005112), nhưng chúng có thể được phân loại thành bốn loại chính: caxinoit lành tính cấp độ thấp, các khối u thần kinh nội tiết cấp độ thấp được biệt hóa cao có biểu hiện ác tính, các khối u có đặc tính thần kinh nội tiết và biểu mô kết hợp, và caxinom thần kinh nội tiết cấp độ cao biệt hóa kém. Trong các phân loại này, ung thư biểu mô thần kinh nội tiết biệt hóa kém, bao gồm ung thư phổi tế bào nhỏ (SCLC) và tập hợp nhỏ gồm ung thư phổi không tế bào nhỏ (NSCLC), là các loại bệnh ung thư có tiên lượng xấu. Đã được công nhận rằng SCLC có nguồn gốc từ cuống phổi, phát sinh một phần từ các tế bào thần kinh nội tiết ở phổi (Galluzzo and Bocchetta, 2011; PMID: 21504320). Cho dù các khối u này có nguồn gốc từ tế bào nào, rõ ràng là chúng thể hiện kiểu hình nội tiết được biệt hóa kém, thường là các protein tăng sinh và xâm lấn cao và thường được biểu hiện quá mức. Do đó, sự gia tăng các chất chỉ thị biểu hiện thần kinh ở các khối u này mà có thể chỉ giới hạn chủ yếu ở hệ thần kinh hoặc thể hiện sự biểu hiện hạn chế trong quá trình phát triển, trong đó SEZ6 có thể là một ví dụ, có thể tạo ra đích điều trị duy nhất đối với các khối u có kiểu hình thần kinh nội tiết.

III. Tế bào gốc ung thư

Như được đề cập trên đây, ngạc nhiên phát hiện ra là sự biểu hiện sai lệch của SEZ6 (kiểu gen và/hoặc kiểu hình) có liên quan đến nhiều quần thể con tế bào tạo u khác nhau. Theo khía cạnh này, sáng chế đề xuất chất điều biến SEZ6 mà có thể là đặc biệt hữu ích để gắn đích các tế bào này và đặc biệt là các tế bào duy trì khối u, nhờ đó tạo điều kiện thuận lợi cho việc điều trị, kiểm soát hoặc ngăn ngừa các rối loạn khối u. Do đó, theo các phương án ưu tiên, chất điều biến của các yếu tố quyết định SEZ6 (kiểu hình hoặc kiểu gen) có thể được sử dụng một cách thuận lợi để làm giảm tần suất tế bào tạo u phù hợp với phần mô tả này và nhờ đó tạo điều kiện thuận lợi cho việc điều trị hoặc kiểm soát các rối loạn tăng sinh.

Với mục đích của sáng chế, thuật ngữ "tế bào tạo u" (TIC) bao gồm cả "tế bào duy trì khối u" (TPC; tức là, tế bào gốc ung thư hoặc CSC) và "tế bào tiền thân của khối u" tăng sinh mạnh (được gọi là TProg), cùng tạo thành tiểu quần thể duy nhất (tức là 0,1-40%) của u cục hoặc khối. Với các mục đích của phần mô tả này, các thuật ngữ "tế bào duy trì khối u" và "tế bào gốc ung thư" hoặc "tế bào gốc tạo u" là tương đương và có thể thay thế được cho nhau trong bản mô tả. TPC khác TProg ở chỗ TPC hoàn toàn có thể bao gồm toàn bộ thành phần tế bào khối u tồn tại bên trong khối u và có khả năng tự tái sinh không giới hạn như được chứng minh bằng cách cấy chuyển nhiều

lần (hai hoặc nhiều lần cấy chuyển ở chuột) số lượng nhỏ tế bào phân lập, trong khi đó TProg không biểu hiện khả năng tự tái sinh không giới hạn.

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này cần phải hiểu rằng phương pháp phân loại tế bào được hoạt hóa bằng huỳnh quang (FACS) bằng cách sử dụng các chất đánh dấu bề mặt tế bào thích hợp là phương pháp tin cậy để phân lập tiểu quần thể tế bào gốc ung thư được làm giàu mạnh (ví dụ, độ tinh khiết > 99,5%), ít nhất một phần, là do khả năng phân biệt giữa các tế bào đơn và cụm tế bào (tức là ghép đôi, v.v..) của chúng. Nhờ sử dụng kỹ thuật này, đã được chỉ ra là số lượng nhỏ tế bào trong số các tế bào TProg có độ tinh khiết cao được cấy chuyển vào chuột suy giảm miễn dịch, chúng có thể kích hoạt sự sinh trưởng của khối u trong lần cầy chuyển đầu tiên. Tuy nhiên, không giống như tiểu quần thể TPC được tinh chế, TProg tạo ra các khối u không phản ánh hoàn toàn khối u gốc về tính không đồng nhất kiểu hình tế bào và rõ ràng là không hiệu quả để khởi động lại sự tạo u hàng loạt trong các lần cấy chuyển tiếp theo. Ngược lại, tiểu quần thể TPC khôi phục hoàn toàn tính không đồng nhất tế bào của các khối u gốc và có thể khởi tạo hiệu quả các khối u khi được phân lập và cấy chuyển liên tiếp. Do đó, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ nhận ra rằng sự khác biệt rõ ràng giữa TPC và TProg, mặc dù cả hai đều có thể tạo u trong lần cấy chuyển đầu tiên, là khả năng có một không hai của TPC trong việc kích hoạt không ngừng sự phát triển của khối u không đồng nhất khi cấy liên tiếp vớiso lượng nhỏ tế bào. Các phương pháp chung khác để xác định đặc điểm TPC bao gồm hình thái học và kiểm tra chất đánh dấu bề mặt tế bào, profin phiên mã, và đáp ứng thuốc mặc dù sự biểu hiện của các chất đánh dấu có thể thay đổi theo các điều kiện nuôi cấy và theo sự cấy chuyển dòng tế bào *in vitro*.

Theo đó, với mục đích của sáng chế, tế bào duy trì khối u, giống như tế bào gốc bình thường hỗ trợ sự phân cấp tế bào trong mô bình thường, tốt hơn nếu được xác định bằng khả năng tự tái sinh vô hạn của chúng trong khi vẫn duy trì khả năng biệt hóa đa dòng. Do đó, tế bào duy trì khối u có khả năng tạo ra cả dòng con tạo u (tức là, tế bào tạo u: TPC và TProg) và dòng con không tạo u (NTG). Như được sử dụng ở đây "tế bào không tạo u" (NTG) để chỉ tế bào khối u phát triển từ tế bào tạo u, nhưng bản thân nó không có khả năng tự tái sinh hoặc tạo ra các dòng tế bào u không đồng nhất tạo thành khối u. Bằng cách thử nghiệm, tế bào NTG không có khả năngtạo ra khối u bằng cách sao chép ở chuột, thậm chí khi được cấy chuyển với số lượng tế bào lớn.

Như được chỉ ra, TProg cũng được xếp vào loại tế bào tạo u (hoặc TIC) do khả năng tạo u hạn chế của chúng ở chuột. TProg là dòng con của TPC và thường có khả năng phân chia tế bào không tự tái sinh với số lần hạn chế. Ngoài ra, tế bào TProg còn có thể được chia thành các tế bào tiền thân sớm của khối u (ETP) và tế bào tiền thân muộn của khối u (LTP), mỗi loại tế bào này có thể được phân biệt với nhau bằng kiểu hình (ví dụ, chất đánh dấu bề mặt tế bào) và khả năng khác nhau trong việc lặp lại hình thái kiến trúc tế bàou. Mặc dù có sự khác biệt kỹ thuật này, cả ETP và LTP đều khác biệt về chức năng với TPC ở chỗ chúng thường ít có khả năng phục hồi liên tiếp các khối u khi được cấy chuyển với số lượng tế bào thấp và thường không phản ánh sự không đồng nhất của khối u gốc. Mặc dù có những khác biệt nói trên, cũng đã được chỉ ra rằng nhiều quần thể TProg khác nhau có thể, hiếm khi, đạt được khả năng tự tái sinh mà bình thường được cho là do tế bào gốc và bản thân chúng, trở thành TPC (hoặc CSC). Trong mọi trường hợp, cả hai loại tế bào tạo u đều được biểu hiện trong một khối u điển hình của một bệnh nhân và được điều trị bằng chất điều biến như được mô tả ở đây. Tức là, các chế phẩm được mô tả thường có hiệu quả trong việc làm giảm tần suất hoặc thay đổi độ nhạy với hóa chất của các tế bào tạo u dương tính với SEZ6 này bất kể phương án cụ thể hoặc hỗn hợp được biểu hiện trong khối u.

Trong ngữ cảnh của sáng chế, TPC có khả năng tạo u cao hơn, tương đối thụ động hơn và thường kháng hóa chất hơn TProg (cả ETP và LTP), các tế bào NTG và tế bào xâm nhập khối u không có nguồn gốc từ TPC (ví dụ, nguyên bào sợi/tế bào đệm, tế bào màng trong & tế bào tạo máu) mà có khối u. Vì các liệu pháp và phác đồ thông thường, phần lớn, được thiết kế để vừa loại bỏ khối u vừa tấn công nhanh vào các tế bào tăng sinh, TPC có thể kháng các liệu pháp và phác đồ thông thường mạnh hơn so với TProg tăng sinh nhanh hơn và quần thể tế bào u lớn khác. Ngoài ra, TPC thường biểu hiện các đặc tính khác mà làm cho chúng tương đối kháng hóa chất với các liệu pháp điều trị thông thường, như tăng biểu hiện các yếu tố vận chuyển kháng đa thuốc, tăng cường cơ chế sửa chữa ADN và các protein kháng lại sự chết tế bào theo chương trình. Các đặc điểm này, góp phần vào sự dung nạp thuốc bởi TPC, là nguyên nhân chính dẫn đến thất bại của phác đồ điều trị ung thư chuẩn trong việc đảm bảo lợi ích lâu dài cho hầu hết các bệnh nhân ở giai đoạn ung thư tiến triển; tức là thất bại trong việc đủ khả năng gắn đích và tiêu diệt các tế bào kích thích sự phát triển và tái phát khối u liên tục (tức là TPC hoặc CSC).

Không giống như nhiều liệu pháp điều trị trước đây, chế phẩm mới theo sáng chế ưu tiên làm giảm tần suất của các tế bào tạo u khi sử dụng cho đối tượng bất kể dạng hoặc đích đặc hiệu (ví dụ, vật liệu di truyền, kháng thể SEZ6 hoặc cấu trúc dung hợp phối tử) của chất điều biến được chọn. Như được lưu ý trên đây, tác dụng làm giảm tần suất tế bào khởi tạo u có thể xảy ra do a) loại bỏ, làm tan, làm tăng độ nhạy, làm câm hoặc ức chế tế bào khởi tạo u; b) kiểm soát sự phát triển, lan rộng hoặc tái phát tế bào khởi tạo u; c) làm gián đoạn việc khởi tạo, lan truyền, duy trì, hoặc tăng sinh của tế bào khởi tạo u; hoặc d) bằng cách khác cản trở sự sống sót, tái tạo và/hoặc di căn của tế bào tạo u. Theo một số phương án, tác dụng làm giảm tần suất của tế bào khởi tạo u xảy ra do sự thay đổi trong một hoặc nhiều con đường sinh lý. Sự thay đổi con đường này, cho dù bằng cách làm giảm hoặc loại trừ các tế bào tạo u hoặc bằng cách cải biến tiềm năng của chúng (ví dụ, kích thích biệt hóa, phá vỡ ổ) hoặc theo cách khác cản trở khả năng của chúng trong việc gây ảnh hưởng đến môi trường khối u hoặc các tế bào khác, lại cho phép điều trị hiệu quả hơn các rối loạn liên quan đến SEZ6 bằng cách ức chế quá trình tạo u, sự duy trì và/hoặc di căn và tái phát khối u.

Trong số các phương pháp đã được công nhận trong lĩnh vực này mà có thể được sử dụng để đánh giá tác dụng làm giảm tần suất tế bào khởi tạo u là phương pháp phân tích pha loãng giới hạn *in vitro* hoặc *in vivo*, tốt hơn, sau đó là đếm sử dụng phép thống kê phân bố Poisson hoặc đánh giá tần suất của các sự kiện vô hạn được xác định trước như khả năng tạo khối u *in vivo* hoặc không. Trong khi phép phân tích pha loãng giới hạn này bao gồm các phương pháp ưu tiên để tính toán sự giảm tần suất tế bào khởi tạo u khác, các phương pháp ít đòi hỏi hơn, cũng có thể được sử dụng để xác định hiệu quả các trị số mong muốn, mặc dù kém chính xác hơn một chút, và hoàn toàn phù hợp với những mô tả ở đây. Do đó, sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này là cũng có thể xác định sự giảm các giá trị tần suất bằng phương pháp đếm tế bào theo dòng chảy đã biết rõ hoặc phương pháp hóa mô miễn dịch. Về tất cả các phương pháp được đề cập trên đây tham khảo, ví dụ, Dylla et al. 2008, PMID: 18560594 & Hoey et al. 2009, PMID: 19664991; mỗi tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ và, cụ thể là, cho các phương pháp được mô tả.

Về phương pháp phân tích pha loãng giới hạn, việc đếm tần suất tế bào tạo u *in vitro* có thể được thực hiện bằng cách đặt tế bào u người đã phân đoạn hoặc không phân đoạn (ví dụ, lần lượt từ các khối u được điều trị hoặc không được điều trị) vào

các điều kiện sinh trưởng *in vitro* mà thúc đẩy sự hình thành cụm tế bào. Trong phương pháp này, tế bào tạo cụm có thể được đếm bằng cách đếm đơn giản và xác định đặc điểm của cụm tế bào, hoặc bằng cách phân tích bao gồm, ví dụ, đặt tế bào u người vào trong đĩa ở các độ pha loãng theo dãy và ghi điểm mỗi giếng là âm tính hay dương tính đối với sự hình thành cụm tế bào ít nhất 10 ngày sau khi cấy trải. Thử nghiệm hoặc phân tích pha loãng giới hạn *in vivo*, mà thường chính xác hơn về khả năng xác định tần suất tế bào tạo u, bao gồm cấy tế bào u người, từ mẫu đối chứng không được điều trị hoặc quần thể được điều trị, ví dụ, vào chuột nhắt thỏa hiệp miễn dịch ở các độ pha loãng theo dãy và tiếp theo ghi điểm mỗi chuột nhắt là dương tính hay âm tính đối với sự hình thành cụm tế bào ít nhất 60 ngày sau khi cấy chuyển. Việc thu được các giá trị về tần suất tế bào bằng phương pháp phân tích pha loãng giới hạn *in vitro* hoặc *in vivo* tốt hơn là được thực hiện bằng cách áp dụng phương pháp thống kê phân bố Poisson vào tần số đã biết của các sự kiện dương tính và âm tính, qua đó đưa ra tần suất cho các sự kiện thỏa mãn định nghĩa về sự kiện dương tính; trong trường hợp này lần lượt là sự tạo thành khối u hoặc cụm tế bào.

Đối với các phương pháp khác phù hợp với sáng chế có thể được sử dụng để tính tần suất tế bào khởi tạo u, phổ biến nhất bao gồm kỹ thuật đếm tế bào theo dòng chảy định lượng được và quy trình nhuộm hóa mô miễn dịch. Mặc dù không chính xác bằng phương pháp phân tích pha loãng giới hạn được mô tả ngay trên đây, các quy trình này đòi hỏi ít lao động hơn và đưa ra các giá trị hợp lý trong một khung thời gian tương đối ngắn. Do đó, sẽ được hiểu là người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này có thể sử dụng phương pháp đếm tế bào theo dòng chảy để xác định profin chất đánh dấu bề mặt tế bào sử dụng một hoặc nhiều kháng thể hoặc chất phản ứng mà liên kết với các protein bề mặt tế bào đã được nhận diện trong lĩnh vực này được biết là làm giàu cho tế bào tạo u (ví dụ, chất đánh dấu có khả năng thích hợp tiềm năng như được nêu trong đơn PCT số 2012/031280 được nộp kèm toàn bộ theo đây) và do đó đo được các mức TIC từ các mẫu khác nhau. Trong phương pháp phù hợp khác, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này có thể đếm tần suất TIC tại chỗ (ví dụ, trong lát cắt mô) bằng phương pháp hóa mô miễn dịch sử dụng một hoặc nhiều kháng thể hoặc chất phản ứng mà có thể liên kết với các protein trên bề mặt tế bào được cho là phân chia ranh giới các tế bào này.

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ nhận ra rằng nhiều chất đánh dấu (hoặc sự vắng mặt của chúng) có liên quan đến nhiều quần thể tế bào gốc ung thư khác nhau và được sử dụng để phân lập hoặc xác định đặc điểm các tiểu quần thể tế bào u. Về mặt này, các chất đánh dấu tế bào gốc ung thư được lấy làm ví dụ bao gồm OCT4, Nanog, STAT3, EPCAM, CD24, CD34, NB84, TrkA, GD2, CD133, CD20, CD56, CD29, B7H3, CD46, thụ thể transfferin, JAM3, carboxypeptidaza M, ADAM9, oncostatin M, Lgr5, Lgr6, CD324, CD325, nestin, Sox1, Bmi-1, eed, easyh1, easyh2, mf2, yy1, smarcA3, smarckA5, smarcD3, smarcE1, mllt3, FZD1, FZD2, FZD3, FZD4, FZD6, FZD7, FZD8, FZD9, FZD10, WNT2, WNT2B, WNT3, WNT5A, WNT10B, WNT16, AXIN1, BCL9, MYC, (TCF4) SLC7A8, IL1RAP, TEM8, TMPRSS4, MUC16, GPRC5B, SLC6A14, SLC4A11, PPAP2C, CAV1, CAV2, PTPN3, EPHA1, EPHA2, SLC1A1, CX3CL1, ADORA2A, MPZL1, FLJ10052, C4.4A, EDG3, RARRES1, TMEPAI, PTS, CEACAM6, NID2, STEAP, ABCA3, CRIM1, IL1R1, OPN3, DAF, MUC1, MCP, CPD, NMA, ADAM9, GJA1, SLC19A2, ABCA1, PCDH7, ADCY9, SLC39A1, NPC1, ENPP1, N33, GPNMB, LY6E, CELSR1, LRP3, C20orf52, TMEPAI, FLVCR, PCDHA10, GPR54, TGFBR3, SEMA4B, PCDHB2, ABCG2, CD166, AFP, BMP-4, β-catenin, CD2, CD3, CD9, CD14, CD31, CD38, CD44, CD45, CD74, CD90, CXCR4, decorin, EGFR, CD105, CD64, CD16, CD16a, CD16b, GLI1, GLI2, CD49b, và CD49f. Xem, ví dụ, Schulenburg et al., 2010, PMID: 20185329, bằng Mỹ số 7,632,678 và các bằng Mỹ số 2007/0292414, 2008/0175870, 2010/0275280, 2010/0162416 và 2011/0020221 mỗi tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Ngoài ra, sẽ được hiểu là mỗi chất đánh dấu trên đây cũng có thể được sử dụng làm kháng nguyên đích thứ hai trong trường hợp các kháng thể đặc hiệu kép hoặc đa đặc hiệu theo sáng chế.

Tương tự, các ví dụ không giới hạn về kiểu hình bề mặt tế bào liên quan đến tế bào gốc ung thư thuộc một số loại u bao gồm $CD44^{hi}CD24^{thấp}$, $ALDH^+$, $CD133^+$, $CD123^+$, $CD34^+CD38^-$, $CD44^+CD24^-$, $CD46^{hi}CD324^+CD66c^-$, $CD133^+CD34^+CD10^-CD19^-$, $CD138^-CD34^-CD19^+$, $CD133^+RC2^+$, $CD44^+\alpha_2\beta_1^{hi}CD133^+$, $CD44^+CD24^+ESA^+$, $CD271^+$, $ABCB5^+$ cũng như kiểu hình bề mặt tế bào gốc ung thư khác đã được biết trong lĩnh vực này. Xem, ví dụ, Schulenburg et al., 2010, ở trên, Visvader et al., 2008, PMID: 18784658 và bằng Mỹ số 2008/0138313, mỗi tài liệu này được đưa vào đây toàn bộ bằng cách viện dẫn. Người có hiểu biết

trung bình về lĩnh vực này cần phải hiểu rằng các kiểu hình chất đánh dấu như các kiểu hình được lấy ví dụ ngay trên đây có thể được sử dụng kết hợp với phép phân tích đếm tế bào theo dòng chuẩn và kỹ thuật phân loại tế bào để xác định đặc điểm, phân lập, tinh chế hoặc làm giàu tế bào TIC và/hoặc TPC hoặc quần thể tế bào để phân tích thêm. Thuộc mối quan tâm của sáng chế CD46, CD324 và, tùy ý, CD66c được biểu hiện ở mức độ cao hoặc không đồng nhất trên bề mặt của nhiều tế bào u ruột kết ("CR"), u vú ("BR"), u phổi không tế bào nhỏ (NSCLC), u phổi tế bào nhỏ (SCLC), u tụy ("PA"), đa u tủy ("Mel"), u buồng trứng ("OV"), và ung thư đầu và cổ ("HN") của người, bất kể các mẫu u được phân tích là mẫu khối u nguyên thủy của bệnh nhân hoặc các khối u NTX được lấy từ bệnh nhân.

Nhờ sử dụng phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp nêu trên và các chất đánh dấu được chọn như đã biết trong lĩnh vực này, có thể định lượng mức độ giảm tần suất TIC (hoặc TPC trong đó) gây ra bởi chất điều biến SEZ6 được mô tả (bao gồm chất liên hợp với các chất gây độc tế bào) theo sáng chế. Trong một số trường hợp, các hợp chất theo sáng chế có thể làm giảm tần suất của TIC hoặc TPC (bằng nhiều cơ chế khác nhau được đề cập trên đây, bao gồm loại bỏ, gây biệt hóa, phá hủy chỗ cư trú, làm câm, v.v..) khoảng 10%, 15%, 20%, 25%, 30% hoặc thậm chí khoảng 35%. Theo các phương án khác, sự giảm tần suất của TIC hoặc TPC có thể lần lượt là 40%, 45%, 50%, 55%, 60% hoặc 65%. Theo một số phương án, các hợp chất được mô tả có thể làm giảm tần suất của TIC hoặc TPC khoảng 70%, 75%, 80%, 85%, 90% hoặc thậm chí 95%. Tất nhiên cần phải hiểu rằng sự giảm bất kỳ về tần suất của TIC hoặc TPC có thể dẫn đến sự giảm tương ứng về tính tạo u, tính kháng, tái phát và xâm lấn của khối u tân sinh.

IV. Chất điều biến SEZ6

Trong trường hợp bất kỳ, sáng chế đề xuất việc sử dụng chất điều biến SEZ6, bao gồm chất đối kháng SEZ6, để chẩn đoán, chẩn trị, điều trị và/hoặc phòng ngừa các rối loạn khác nhau bao gồm bất kỳ trong số nhiều khối u ác tính liên quan đến SEZ6. Chất điều biến được mô tả có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với nhiều hợp chất chống ung thư như các chất hóa trị liệu hoặc miễn dịch trị liệu (ví dụ, các kháng thể điều trị bệnh) hoặc chất cải biến đáp ứng sinh học. Theo các phương án được chọn khác, hai hoặc nhiều chất điều biến SEZ6 riêng biệt có thể được sử dụng kết hợp để

tạo ra tác dụng chống khối u tăng cường hoặc có thể được sử dụng tạo ra các cấu trúc đa đặc hiệu.

Theo một số phương án nhất định, chất điều biến SEZ6 theo sáng chế đề xuất các nucleotit, các oligonucleotit, các polynucleotit, các peptit hoặc các polypeptit. Cụ thể hơn, chất điều biến ví dụ của sáng chế có thể bao gồm các kháng thể và các đoạn liên kết kháng nguyên hoặc dẫn xuất của chúng, các protein, các peptit, các glycoprotein, các glycopeptit, glycolipit, polysacarit, oligosacarit, các axit nucleic, các cấu trúc đối nghĩa, siARN, miARN, phân tử hữu cơ sinh học, các giả peptit, các dược chất và sản phẩm chuyển hóa của chúng, các trình tự kiểm soát phiên mã và dịch mã, và tương tự. Theo một số phương án nhất định chất điều biến bao gồm SEZ6 hòa tan (sSEZ6) hoặc dạng, biến thể, dẫn xuất hoặc đoạn của chúng bao gồm, ví dụ, các cấu trúc dung hợp SEZ6 (ví dụ, SEZ6-Fc, gốc hướng đích SEZ6, v.v..) hoặc thể liên hợp SEZ6 (ví dụ, SEZ6-PEG, chất gây độc tế bào -SEZ6, SEZ6-brm, v.v..). Cũng sẽ hiểu rằng, theo các phương án khác, chất điều biến SEZ6 chứa các kháng thể hoặc các đoạn có phản ứng miễn dịch hoặc các dẫn xuất của chúng. Theo các phương án đặc biệt ưu tiên, chất điều biến theo sáng chế bao gồm các kháng thể trung hòa hoặc các dẫn xuất hoặc các đoạn của chúng. Theo các phương án khác, chất điều biến SEZ6 có thể bao gồm kháng thể nội nhập hoặc các đoạn của nó. Theo các phương án khác nữa chất điều biến SEZ6 có thể bao gồm các kháng thể tiêu tế bào hoặc các đoạn của chúng. Hơn nữa, như với các cấu trúc dung hợp nêu trên, chất điều biến kháng thể này có thể được liên hợp, liên kết hoặc kết hợp với các chất gây độc tế bào được chọn, polyme, chất cải biến đáp ứng sinh học (BRM) hoặc chất tương tự để tạo ra các liệu pháp miễn dịch có định hướng với nhiều cơ chế tác động khác nhau (và tùy ý đa cơ chế). Như được nói đến ở trên, các kháng thể này có thể là kháng thể pan-SEZ6 và kết hợp với hai hoặc nhiều thành viên thuộc họ SEZ6 (ví dụ, SEZ6 và SEZ6L như được thể hiện trên Fig. 11A) hoặc các kháng thể đặc hiệu miễn dịch mà phản ứng chọn lọc với một hoặc cả hai chất đồng đẳng của SEZ6. Theo các phương án khác nữa, chất điều biến này có thể hoạt động ở cấp độ di truyền và có thể chứa các hợp chất là các cấu trúc đối nghĩa, siARN, miARN và các cấu trúc tương tự mà tương tác hoặc kết hợp với thành phần kiểu gen của yếu tố quyết định của SEZ6.

Sẽ hiểu thêm rằng chất điều biến SEZ6 được mô tả có thể làm tiêu, làm câm, làm mất hoạt tính, loại trừ hoặc ức chế sự phát triển, nhân lên hoặc sống sót của các tế

bào u, bao gồm TPC, và/hoặc rối loạn tạo u có liên quan bằng nhiều cơ chế khác nhau, bao gồm chủ vận hoặc đối kháng các con đường đã chọn hoặc loại trừ các tế bào đặc hiệu phụ thuộc, ví dụ, vào dạng của chất điều biến SEZ6, phần tải có liên quan bất kỳ hoặc liều dùng và phương pháp phân phối. Do đó, mặc dù các phương án ưu tiên được mô tả ở đây đề cập đến tác dụng làm tan, ức chế hoặc làm câm tiểu quần thể tế bào khối u cụ thể như tế bào duy trì khối u hoặc đề cập đến chất điều biến mà tương tác với epitop hoặc vùng chức năng đặc hiệu, cần phải nhấn mạnh rằng các phương án này chỉ để minh họa và không làm giới hạn theo nghĩa bất kỳ. Đúng hơn là, như được nêu trong các yêu cầu bảo hộ kèm theo, sáng chế đề cập theo nghĩa rộng đến chất điều biến SEZ6 và ứng dụng của chúng trong việc điều trị, kiểm soát hoặc phòng ngừa các rối loạn liên quan đến SEZ6 khác nhau không kể cơ chế, vùng liên kết hoặc quần thể tế bào khối u đích cụ thể bất kỳ.

Không kể đến dạng của chất điều biến được chọn, cần phải hiểu rằng hợp chất được chọn có thể có tính chất đối vận. Như được sử dụng ở đây "chất đối vận" để chỉ phân tử có khả năng trung hòa, phong bế, ức chế, thủ tiêu, làm giảm hoặc làm nhiễu hoạt động của đích cụ thể hoặc được đặc hiệu (ví dụ, SEZ6), bao gồm sự liên kết của các thụ thể với các phối tử hoặc các tương tác của enzym với cơ chất. Về mặt này cần phải hiểu rằng, chất đối kháng SEZ6 theo sáng chế có thể bao gồm phối tử, polypeptit, peptit, protein dung hợp, kháng thể hoặc phân đoạn có hoạt tính miễn dịch bất kỳ hoặc dẫn xuất của chúng mà nhận diện, phản ứng, liên kết, kết hợp, cạnh tranh, liên hợp hoặc theo cách khác tương tác với protein SEZ6 hoặc đoạn của nó và loại bỏ, làm câm, làm giảm, ức chế, gây cản trở, hạn chế hoặc kiểm soát sự phát triển của tế bào tạo u hoặc tế bào ung thư khác bao gồm khối u lớn hoặc tế bào NTG. Chất đối vận tương hợp còn có thể bao gồm chất ức chế phân tử nhỏ, aptame, các cấu trúc đối nghĩa, siARN, miARN và các cấu trúc tương tự, các phân tử thụ thể hoặc phối tử và dẫn xuất của chúng mà nhận diện hoặc kết hợp với yếu tố quyết định kiểu gen hoặc kiểu hình của SEZ6 do đó làm thay đổi mô hình biểu hiện hoặc cô lập liên kết hoặc tương tác của nó với cơ chất, thụ thể hoặc phối tử.

Như được sử dụng ở đây chất đối kháng để chỉ phân tử có khả năng trung hòa, phong bế, ức chế, thủ tiêu, làm giảm hoặc làm nhiễu các hoạt động của protein cụ thể hoặc đặc hiệu, bao gồm liên kết của các thụ thể với các phối tử hoặc các tương tác của enzym với cơ chất. Thông thường hơn, chất đối vận theo sáng chế có thể bao gồm các

kháng thể và các đoạn liên kết kháng nguyên hoặc các dẫn xuất của chúng, protein, các peptit, glycoprotein, glycopeptit, glycolipit, polysacarit, oligosacarit, axit nucleic, các cấu trúc đối nghĩa, siRNA, miRNA, phân tử sinh học hữu cơ, các giả peptit, các chất dược lý và sản phẩm chuyển hóa của chúng, các trình tự kiểm soát phiên mã và dịch mã, và chất tương tự. Chất đối vận cũng có thể bao gồm chất ức chế phân tử nhỏ, các protein dung hợp, các phân tử thụ thể và dẫn xuất liên kết đặc hiệu với protein này nhờ đó cô lập liên kết của nó với cơ chất đích, các biến thể đối vận của protein này, các phân tử đối nghĩa gắn protein, các aptame ARN và ribozym kháng protein

Như được sử dụng ở đây và được áp dụng cho hai hoặc nhiều phân tử hoặc các hợp chất, các thuật ngữ "nhận diện" hoặc "liên hợp" sẽ được hiểu có nghĩa là phản ứng, liên kết, liên kết đặc hiệu, kết hợp, tương tác, kết nối, liên kết, hợp nhất, chập lại, nhập hoặc nối lại, cộng hóa trị hoặc không cộng hóa trị, của các phân tử này nhờ đó một phân tử gây ra tác động lên phân tử còn lại.

Ngoài ra, như được chứng minh trong phần ví dụ ở đây (ví dụ, xem Fig. 11), một số chất điều biến SEZ6 của người có thể, trong một số trường hợp, phản ứng chéo với SEZ6 của các loài không phải người (ví dụ, chuột hoặc khỉ cynomolgus). Trong các trường hợp khác, chất điều biến điển hình có thể đặc hiệu đối với một hoặc nhiều chất đồng đẳng của SEZ6 của người và sẽ không biểu hiện phản ứng chéo với các đồng đẳng của SEZ6 của các loài khác. Tất nhiên, cùng với các phần mô tả ở đây, các phương án này có thể bao gồm các kháng thể pan-SEZ6 mà liên hợp với hai hoặc nhiều thành viên thuộc họ SEZ6 của cùng một loài hoặc các kháng thể chỉ liên hợp với SEZ6.

Trong trường hợp bất kỳ, và như được bàn luận chi tiết dưới đây, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ hiểu rằng chất điều biến được mô tả có thể được sử dụng ở dạng liên hợp hoặc dạng không liên hợp. Tức là, chất điều biến này có thể được liên hợp với hoặc kết hợp (ví dụ cộng hóa trị hoặc không cộng hóa trị) với các dược chất, chất cải biến đáp ứng sinh học, chất chống ung thư, chất gây độc tế bào hoặc chất kìm hãm tế bào, các gốc chẩn đoán hoặc chất cải biến tương thích sinh học. Về vấn đề này, sẽ được hiểu rằng các thể liên hợp này có thể bao gồm các peptit, các polypeptit, các protein, các protein dung hợp, các phân tử axit nucleic, các phân tử nhỏ, các chất bắt chước, các thuốc tổng hợp, phân tử vô cơ, phân tử hữu cơ và chất đồng vị phóng xạ. Hơn nữa, như được chỉ ra ở đây, thể liên hợp được chọn có thể liên

kết cộng hóa trị hoặc không cộng hóa trị với chất điều biến SEZ6 ở các tỉ lệ mol khác nhau phụ thuộc, ít nhất một phần, vào phương pháp được sử dụng để tạo ra sự liên hợp.

V. Tạo chất điều biến và cung cấp

A. Chất điều biến kháng thể

1. Tổng quan

Như được nêu ở trên, các phương án đặc biệt ưu tiên theo sáng chế bao gồm chất điều biến SEZ6 dưới dạng các kháng thể mà ưu tiên kết hợp với một hoặc nhiều chất đồng đẳng của SEZ6 (và, tùy ý, có thể phản ứng chéo với các các thành viên thuộc họ SEZ6 khác). Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ hiểu được kiến thức về kháng thể được phát triển như đã được mô tả, ví dụ, trong Abbas *et al.*, Cellular and Molecular Immunology, 6th ed., W.B. Saunders Company (2010) hoặc Murphey *et al.*, Janeway's Immunobiology, 8th ed., Garland Science (2011), mỗi tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Thuật ngữ "kháng thể" được dự định bao gồm các kháng thể đa dòng, các kháng thể nhiều dòng, kháng thể đơn dòng, kháng thể khảm, các kháng thể được làm tương thích với người hoặc được làm tương thích với linh trưởng, kháng thể của người, các kháng thể được tạo ra bằng cách tái tổ hợp, các kháng thể nội bào, các kháng thể đa đặc hiệu, các kháng thể đặc hiệu kép, các kháng thể đơn hóa trị, các kháng thể đa hóa trị, các kháng thể kháng idiotyp, các kháng thể tổng hợp, bao gồm mutein và biến thể của chúng; các đoạn kháng thể như các đoạn Fab, các đoạn F(ab') , FvFc chuỗi đơn, Fv chuỗi đơn; và dẫn xuất của nó bao gồm các dung hợp Fc và các biến đổi khác, và phân tử có hoạt tính miễn dịch khác bất kỳ miễn là chúng biểu hiện hoạt tính sinh học mong muốn (tức là, liên hợp hoặc liên kết với kháng nguyên). Hơn nữa, thuật ngữ này còn bao gồm tất cả các lớp kháng thể (tức là IgA, IgD, IgE, IgG, và IgM) và toàn bộ các isotyp (tức là, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, và IgA2), cũng như các biến thể của nó trừ khi được quy định khác theo ngữ cảnh. Các vùng hằng định của chuỗi nặng mà tương ứng với các lớp kháng thể khác nhau được ký hiệu bằng các chữ cái Hy Lạp tương ứng lần lượt là α, δ, ε, γ, và μ,. Các chuỗi nhẹ của kháng thể từ loài có xương sống bất kỳ có thể được chỉ định là một trong hai loại khác nhau rõ ràng, là kappa (κ) và lambda (λ), dựa vào các trình tự axit amin của các vùng chức năng hằng định của chúng.

Mặc dù tất cả kháng thể này nằm đều trong phạm vi bảo hộ của sáng chế, các phương án ưu tiên bao gồm lớp IgG globulin miễn dịch sẽ được thảo luận chi tiết hơn dưới đây chỉ nhằm mục đích minh họa. Tuy nhiên, được hiểu rằng phần mô tả này, chỉ minh họa các chế phẩm được lấy làm ví dụ và các phương pháp thực hiện sáng chế và không làm giới hạn theo cách bất kỳ phạm vi bảo hộ của sáng chế hoặc yêu cầu bảo hộ đi kèm ở đây.

Như đã được biết rõ, các vùng chức năng biến đổi của cả phần chuỗi nhẹ (V_L) và chuỗi nặng (V_H) quyết định sự nhận diện kháng nguyên và tính đặc hiệu và các vùng chức năng hằng định của chuỗi nhẹ (C_L) và chuỗi nặng (C_H1, C_H2 hoặc C_H3) tạo ra và điều hòa các đặc tính sinh học quan trọng như sự bài tiết, khả năng di chuyển qua nhau thai, thời gian bán thải tuần hoàn, liên kết bổ thể, và tương tự.

Vùng "biến đổi" bao gồm các vị trí siêu biến mà tự biểu hiện trong ba phân đoạn thường được gọi là vùng quyết định bổ thể (CDR), trong cả vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ. Các phần được bảo tồn cao hơn của các vùng chức năng biến đổi áp hai bên CDR được gọi là các vùng khung (FRs). Ví dụ, trong các kháng thể globulin miễn dịch G (IgG) đơn phân có trong tự nhiên, sáu CDR có mặt trên mỗi nhánh của "Y" là các trình tự axit amin ngắn, không liên tục mà được bố trí một cách đặc biệt để tạo ra vị trí liên kết kháng nguyên do kháng thể có cấu hình ba chiều trong môi trường nước. Do đó, mỗi kháng thể IgG có trong tự nhiên chứa hai vị trí liên kết giống nhau ở đầu gần đầu cùng amino của mỗi nhánh của Y.

Cần phải hiểu rằng, vị trí của các CDR có thể được xác định dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này nhờ sử dụng các kỹ thuật chuẩn. Cũng là quen thuộc đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này là hệ thống đánh số được mô tả trong Kabat *et al.* (1991, NIH Publication 91-3242, National Technical Information Service, Springfield, Va.). Về vấn đề này Kabat et al. đã định nghĩa hệ thống đánh số cho các trình tự của vùng chức năng biến đổi mà có khả năng áp dụng cho kháng thể bất kỳ. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này rõ ràng có thể áp dụng hệ thống "đánh số Kabat" này cho trình tự vùng chức năng biến đổi bất kỳ, mà không phụ thuộc vào dữ liệu thực nghiệm bất kỳ vượt ra ngoài chính trình tự này. Trừ khi được quy định khác, việc đánh số các vị trí gốc axit amin cụ thể trong kháng thể là theo hệ thống đánh số Kabat.

Do đó, theo Kabat, trong V_H, các gốc 31-35 bao gồm CDR1, các gốc 50-65 tạo ra CDR2, và 95-102 bao gồm CDR3, trong khi trong V_L, các gốc 24-34 là CDR1, 50-56 bao gồm CDR2, và 89-97 tạo ra CDR3. Trong ngữ cảnh này, trong V_H, FR1 tương ứng với vùng chức năng của vùng biến đổi bao gồm các axit amin 1-30; FR2 tương ứng với vùng chức năng của vùng biến đổi bao gồm các axit amin 36-49; FR3 tương ứng với vùng chức năng của vùng biến đổi bao gồm các axit amin 66-94, và FR4 tương ứng với vùng chức năng của vùng biến đổi từ axit amin 103 đến đầu cùng vùng biến đổi này. Các FR cho chuỗi nhẹ được phân tách tương tự bởi mỗi CDR trong số các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ.

Lưu ý rằng, các CDR thay đổi đáng kể giữa kháng thể với kháng thể (và theo định nghĩa sẽ không biểu hiện sự đồng nhất với các trình tự bảo thủ theo Kabat). Ngoài ra, sự tương đồng của một số gốc riêng ở số vị trí Kabat đã cho bất kỳ có thể thay đổi giữa chuỗi kháng thể này với chuỗi kháng thể khác do sự đa dạng giữa các loài và của alen. Việc đánh số theo cách khác được nêu trong Chothia *et al.*, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987) và MacCallum *et al.*, *J. Mol. Biol.* 262:732-745 (1996), mặc dù như trong Kabat, ranh giới FR được phân tách bởi đầu cùng CDR tương ứng như được mô tả trên đây. Cũng xem trong Chothia et al., Nature 342, pp. 877-883 (1989) và S. Dubel, ed., *Handbook of Therapeutic Antibodies,* 3rd ed., WILEY-VCH Verlag GmbH và Co. (2007), trong đó định nghĩa bao gồm sự chồng lấp hoặc tập hợp con các gốc axit amin khi được so sánh với nhau. Mỗi tài liệu trong số các tài liệu tham khảo nêu trên được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ và các gốc axit amin mà bao gồm các vùng liên kết hoặc CDR như được xác định bởi mỗi tài liệu trong số các tài liệu tham khảo được trích dẫn trên đây và được nêu ra để so sánh dưới đây.

Định nghĩa CDR

	Kabat[1]	Chothia[2]	MacCallum[3]
V_H CDR1	31-35	26-32	30-35
V_H CDR2	50-65	50-58	47-58
V_H CDR3	95-102	95-102	93-101
V_L CDR1	24-34	23-34	30-36
V_L CDR2	50-56	50-56	46-55
V_L CDR3	89-97	89-97	89-96

[1]Việc đánh số gốc theo danh pháp của Kabat *et al.*, ở trên

[2]Việc đánh số gốc theo danh pháp của Chothia *et al.*, ở trên

[3]Việc đánh số gốc theo danh pháp của MacCallum *et al.*, ở trên

Trong phạm vi của sáng chế, sẽ được hiểu rằng CDR bất kỳ trong số các CDR chuỗi nặng và chuỗi nhẹ đã mô tả thu được từ các trình tự axit amin vùng biến đổi của chuột nêu trong Fig. 10A hoặc Fig. 10B có thể được kết hợp hoặc sắp xếp lại để tạo ra các kháng thể kháng SEZ6 được tối ưu hóa (ví dụ được làm tương thích với người, ghép CDR hoặc thể khảm kháng hSEZ6) theo các phần mô tả này. Tức là, một hoặc nhiều CDR thu được từ các trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nhẹ nêu trên Fig. 10A (các trình tự SEQ ID NO: 20 – 168, các số chẵn) hoặc các trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nặng nêu trên Fig. 10B (các trình tự SEQ ID NO: 21 – 169, các số lẻ) có thể được kết hợp vào chất điều biến SEZ6 và, theo các phương án đặc biệt ưu tiên, vào kháng thể được ghép CDR hoặc được làm tương thích với người mà kết hợp đặc hiệu miễn dịch với một hoặc nhiều chất đồng đẳng SEZ6. Các ví dụ về các trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nhẹ (các trình tự SEQ ID NO: 170 đến 192, các số chẵn) và chuỗi nặng (các SEQ ID NO: 171 đến 193, các số lẻ và 194 đến 199) của chất điều biến được làm tương thích với người này cũng được đưa ra ở các Fig. 10A và 10B.

Lưu ý rằng hSC17.200vL1 (SEQ ID NO: 192) là biến thể của cấu trúc chuỗi nhẹ được làm tương thích với người hSC17.200 (SEQ ID NO: 190), hSC17.155vH1 – vH6 (các SEQ ID NO: 193-198) là các biến thể của cấu trúc chuỗi nặng hSC.155 (SEQ ID NO: 184) mà thu được từ SC17.90 (SEQ ID NO: 127) và rằng hSC161vH1 (SEQ ID NO: 199) là biến thể của cấu trúc chuỗi nặng hSC17.161 (SEQ ID NO: 189). Như sẽ được bàn luận chi tiết hơn dưới đây các biến thể này được cấu trúc và thử nghiệm để tối ưu hóa một hoặc nhiều đặc tính sinh hóa của kháng thể gốc.

Tóm lại, các trình tự axit amin mới này mô tả 75 chất điều biến ví dụ của chuột và 11 chất điều biến ví dụ được làm tương thích với người (cùng với các biến thể được thông báo) theo sáng chế. Hơn nữa, các trình tự axit nucleic tương ứng của mỗi trong số 75 chất điều biến ví dụ của chuột và 11 chất điều biến ví dụ được làm tương thích với người và các biến thể nêu ở các Fig. 10A và 10B được bao gồm trong danh mục trình tự của đơn này (các SEQ ID NO: 220 – 399).

Trong các Fig. 10A và 10B, các CDR đã chú thích được xác định bằng cách sử dụng phương pháp đánh số Chothia. Tuy nhiên, như được thảo luận ở đây và được

chứng minh trong Ví dụ 8 dưới đây, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này có thể dễ dàng xác định, nhận diện, thu được và/hoặc đánh số CDR như được xác định bởi Kabat et al., Chothia et al. hoặc MacCallum et al. cho mỗi trình tự chuỗi nặng và chuỗi nhẹ tương ứng nêu trong Fig. 10A hoặc Fig. 10B. Theo đó, mỗi CDR trong số các CDR chủ thể và các kháng thể chứa các CDR được xác định bằng tất cả danh pháp này được bao gồm trong phạm vi bảo hộ của sáng chế. Rộng hơn, các thuật ngữ "gốc axit amin CDR của vùng biến đổi" hoặc đơn giản hơn là "CDR" bao gồm các axit amin trong CDR như được nhận dạng bằng cách sử dụng phương pháp dựa trên trình tự hoặc cấu trúc bất kỳ như đã nói trên đây.

2. Tạo chất điều biến kháng thể

a. Các kháng thể đa dòng

Việc tạo ra các kháng thể đa dòng ở nhiều động vật chủ khác nhau, bao gồm thỏ, chuột nhắt, chuột cống, v.v.. đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Theo một số phương án, huyết thanh chứa kháng thể đa dòng kháng SEZ6 thu được bằng cách lấy máu hoặc giết động vật. Huyết thanh này có thể được sử dụng cho các mục đích nghiên cứu ở dạng thu được từ động vật hoặc, theo cách khác, các kháng thể kháng SEZ6 có thể được tinh chế một phần hoặc toàn bộ để tạo ra các đoạn globulin miễn dịch hoặc các chế phẩm kháng thể đồng nhất.

Một cách vắn tắt, con vật đã chọn được gây miễn dịch bằng kháng nguyên SEZ6 (ví dụ, SEZ6 hòa tan hoặc sSEZ6) mà có thể, ví dụ, bao gồm các chất đồng đẳng, vùng chức năng và/hoặc các peptit đã chọn hoặc tế bào sống hoặc các chế phẩm tế bào biểu hiện SEZ6 hoặc các đoạn có phản ứng miễn dịch của chúng. Các tá dược đã biết trong lĩnh vực này mà có thể được sử dụng để làm tăng đáp ứng miễn dịch, tùy theo loài được chủng ngừa bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tá dược Freund (đầy đủ và không đầy đủ), gel khoáng như nhôm hydroxit, chất hoạt động bề mặt như lysolexitin, pluronic polyol, polyanion, các peptit, nhũ tương dầu, hemoxyanin từ keyhole limpet, dinitrophenol, và các tá dược hữu ích tiềm năng dùng cho người như BCG (bacille Calmette-Guerin) và corynebacterium parvum. Các tá dược này có thể bảo vệ kháng nguyên không bị phân tán nhanh bằng cách cô lập nó trong kết tụ cục bộ, hoặc chúng có thể bao gồm chất mà kích thích vật chủ tiết ra các yếu tố có tính hóa hướng động đối với đại thực bào và các thành phần khác của hệ miễn dịch. Tốt hơn,

nếu chương trình gấy miễn dịch sẽ bao gồm hai hoặc nhiều lần sử dụng kháng nguyên được chọn kéo dài trong một khoảng thời gian xác định trước.

Trình tự axit amin của protein SEZ6 như được thể hiện trên các Fig. 1C hoặc 1D có thể được phân tích để lựa chọn các vùng đặc hiệu của protein SEZ6 để tạo kháng thể. Ví dụ, các phân tích tính ưa nước và kỵ nước của trình tự axit amin của SEZ6 được sử dụng để nhận biết các vùng ưa nước trong cấu trúc của SEZ6. Các vùng của protein SEZ6 mà thể hiện cấu trúc gây miễn dịch, cũng như các vùng và vùng chức năng khác, có thể dễ dàng được nhận biết bằng cách sử dụng các phương pháp khác nhau được biết trong lĩnh vực này, như phân tích Chou-Fasman, Garnier-Robson, Kyte-Doolittle, Eisenberg, Karplus-Schultz hoặc Jameson-Wolf. Profin độ linh động trung bình có thể được tạo ra bằng cách sử dụng phương pháp của Bhaskaran R., Ponnuswamy P. K., 1988, Int. J. Pept. Protein Res. 32:242-255. Profin quay beta có thể được tạo ra sử dụng phương pháp của Deleage, G., Roux B., 1987, Protein Engineering 1:289-294. Do đó, mỗi vùng, vùng chức năng hoặc motif SEZ6 được nhận biết bởi bất kỳ trong số các chương trình hoặc phương pháp này là nằm trong phạm vi của sáng chế và có thể được phân lập hoặc thao tác di truyền để tạo ra kháng nguyên tạo ra chất điều biến có các đặc tính mong muốn. Các phương pháp được ưu tiên để tạo ra các kháng thể SEZ6 được minh họa thêm bằng các ví dụ được đưa ra ở đây. Các phương pháp điều chế protein hoặc polypeptit để sử dụng làm kháng nguyên đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Cũng đã biết trong lĩnh vực này là các phương pháp để tạo ra các thể liên hợp sinh miễn dịch của protein với chất mang, như BSA, KLH hoặc protein chất mang khác. Trong một số trường hợp, kỹ thuật liên hợp bằng cách sử dụng, ví dụ, chất phản ứng carbodiimit được sử dụng; trong các trường hợp khác, chất phản ứng liên kết là có hiệu quả. Việc sử dụng kháng nguyên SEZ6 thường được tiến hành bằng cách tiêm trong một khoảng thời gian thích hợp và kết hợp với việc dùng tá dược thích hợp, như được hiểu trong lĩnh vực này. Trong suốt chương trình gây miễn dịch, hiệu giá của các kháng thể có thể thu được như được mô tả trong phần ví dụ dưới đây để xác định sự tạo thành đủ kháng thể.

b. Các kháng thể đơn dòng

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến việc sử dụng kháng thể đơn dòng. Như đã biết trong lĩnh vực này, thuật ngữ "kháng thể đơn dòng" (hoặc mAb) để chỉ kháng thể thu được từ quần thể kháng thể gần như đồng nhất, tức là, từng kháng thể tạo ra quần thể

này là tương đồng ngoại trừ các đột biến có thể (ví dụ, các đột biến có trong tự nhiên), mà có thể có mặt với lượng rất nhỏ. Theo một số phương án, kháng thể đơn dòng này bao gồm kháng thể chứa trình tự polypeptit mà liên kết hoặc liên hợp với kháng nguyên, trong đó trình tự polypeptit liên kết kháng nguyên này thu được bằng quy trình bao gồm chọn lọc một trình tự polypeptit liên kết đích từ nhiều trình tự polypeptit.

Tổng quát hơn, và như được minh họa trong Ví dụ 6 ở đây, kháng thể đơn dòng có thể được điều chế bằng cách sử dụng nhiều kỹ thuật khác nhau đã biết trong lĩnh vực này bao gồm kỹ thuật lai, phương pháp tái tổ hợp, công nghệ biểu hiện thể thực khuẩn, động vật chuyển gen (ví dụ, XenoMouse) hoặc một số tổ hợp của chúng. Ví dụ, kháng thể đơn dòng có thể được tạo ra bằng cách sử dụng kỹ thuật lai và các kỹ thuật thao tác di truyền và sinh hóa đã được công nhận trong lĩnh vực này như được mô tả chi tiết hơn trong An, Zhigiang (ed.) *Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic*, John Wiley và Sons, 1st ed. 2009; Shire et. al. (eds.) *Current Trends in Monoclonal Antibody Development and Manufacturing*, Springer Science + Business Media LLC, 1st ed. 2010; Harlow *et al.*, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988; Hammerling, *et al.*, in: *Monoclonal antibody and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981) mỗi tài liệu này được đưa vào đây toàn bộ bằng cách viện dẫn. Cần phải hiểu thêm rằng trình tự liên kết đã chọn có thể được biến đổi thêm, ví dụ, để cải thiện ái lực đối với đích, để làm tương thích với người trình tự liên kết đích, để cải thiện sự sản sinh của nó trong môi trường nuôi cấy tế bào, để làm giảm tính gây miễn dịch của nó trên *in vivo*, để tạo ra kháng thể đa đặc hiệu, v.v.., và kháng thể chứa trình tự liên kết đích được biến đổi cũng là kháng thể theo sáng chế.

c. Kháng thể khảm

Theo phương án khác, kháng thể theo sáng chế có thể bao gồm kháng thể khảm thu được từ các phân đoạn protein được liên kết đồng hóa trị từ ít nhất hai loài hoặc hai loại kháng thể khác nhau. Như đã biết trong lĩnh vực này, thuật ngữ kháng thể "khảm" nhằm chỉ các cấu trúc trong đó một phần của chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ là tương đồng với hoặc đồng nhất với các trình tự tương ứng trong các kháng thể thu được từ một loài cụ thể hoặc thuộc lớp hoặc phân lớp kháng thể cụ thể, trong khi phần còn lại của (các) chuỗi này là tương đồng với hoặc đồng nhất với các trình tự tương

ứng trong các kháng thể thu được từ một loài khác hoặc thuộc lớp hoặc phân lớp kháng thể khác, cũng như các phân đoạn của các kháng thể này, miễn là chúng biểu hiện hoạt tính sinh học mong muốn (U.S. P.N. 4,816,567; Morrison *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)).

Theo một phương án, kháng thể khảm theo phần mô tả ở đây có thể bao gồm các trình tự axit amin V_H và V_L của chuột và các vùng hằng định thu được từ người. Theo các phương án thích hợp khác, kháng thể khảm theo sáng chế có thể bao gồm kháng thể được làm tương thích với người như được mô tả dưới đây. Theo phương án khác, kháng thể được gọi là "ghép CDR", kháng thể này bao gồm một hoặc nhiều CDR của một loài cụ thể hoặc thuộc một lớp hoặc phân lớp kháng thể cụ thể, trong khi phần còn lại của (các) chuỗi kháng thể này là đồng nhất hoặc tương đồng với trình tự tương ứng trong các kháng thể thu được từ một loài khác hoặc thuộc lớp hoặc phân lớp kháng thể khác. Để sử dụng ở người, CDR của loài gặm nhấm được chọn có thể được ghép với kháng thể người, thay thế một hoặc nhiều vùng biến đổi có trong tự nhiên hoặc CDR của kháng thể người. Nhìn chung các cấu trúc này có lợi thế là cung cấp các chức năng của chất điều biến có chiều dài đầy đủ (ví dụ, CDC (gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể), ADCC (gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể), v.v..) trong khi làm giảm đáp ứng miễn dịch không mong muốn với kháng thể bởi đối tượng.

d. Các kháng thể được làm tương thích với người

Tương tự như kháng thể ghép CDR là kháng thể "được làm tương thích với người". Như được sử dụng ở đây, các dạng "được làm tương thích với người" của các kháng thể không phải của người (ví dụ, chuột) là kháng thể khảm mà chứa trình tự nhỏ nhất thu được từ một hoặc nhiều globulin miễn dịch không phải của người. Theo một phương án, kháng thể được làm tương thích với người là globulin miễn dịch của người (kháng thể tiếp nhận hoặc kháng thể nhận) trong đó các gốc từ CDR của kháng thể tiếp nhận được thay thế bằng các gốc từ CDR của loài không phải người (kháng thể cho) như chuột nhắt, chuột cống, thỏ, hoặc linh trưởng không phải người có tính đặc hiệu, ái lực và/hoặc khả năng mong muốn. Theo một số phương án ưu tiên, các gốc trong một hoặc nhiều FR trong vùng chức năng biến đổi của globulin miễn dịch của người được thay thế bằng các gốc tương ứng không phải của người từ kháng thể cho để giúp duy trì cấu hình ba chiều phù hợp của (các) CDR ghép và do đó nâng cao ái lực. Hơn

nữa, kháng thể được làm tương thích với người có thể bao gồm các gốc mà không tìm thấy trong kháng thể nhận hoặc trong kháng thể cho, ví dụ, để cải thiện hơn nữa hiệu năng của kháng thể.

Kháng thể ghép CDR và kháng thể được làm tương thích với người được mô tả, ví dụ, trong các bằng Mỹ số 6,180,370 và 5,693,762. Kháng thể được làm tương thích với người tùy ý có thể còn bao gồm ít nhất một phần, của Fc globulin miễn dịch, thông thường đó là của globulin miễn dịch người. Chi tiết hơn, xem, ví dụ, Jones *et al.*, *Nature* 321:522-525 (1986); và các bằng Mỹ số 6,982,321 và 7,087,409. Các phương án khác nữa được gọi là "thao tác di truyền cho người" được mô tả, ví dụ, trong bằng Mỹ số 2005/0008625. Ngoài ra, kháng thể không phải của người cũng có thể được biến đổi bằng cách loại bỏ đặc hiệu epitop tế bào T của người hoặc "khử miễn dịch" bằng các phương pháp được mô tả trong WO 98/52976 và WO 00/34317. Mỗi tài liệu trong số các tài liệu tham khảo nêu trên được đưa vào đây ở dạng toàn bộ.

Kháng thể được làm tương thích với người cũng có thể được thao tác di truyền sinh học bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử thông thường, như phân lập, thao tác, và biểu hiện các trình tự axit nucleic mã hõa toàn bộ hoặc một phần các vùng biến đổi của globulin miễn dịch của ít nhất một chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ. Ngoài các nguồn axit nucleic trên đây, các trình tự dòng giao tử của người là sẵn có như được mô tả, ví dụ, trong Tomlinson, I. A. *et al.* (1992) *J. Mol. Biol.* 227:776-798; Cook, G. P. *et al.* (1995) *Immunol. Today* 16: 237-242; Chothia, D. *et al.* (1992) *J. Mol. Biol.* 227:799-817; và Tomlinson *et al.* (1995) *EMBO J* 14:4628-4638. Danh mục V-BASE (VBASE2 - Retter *et al.*, Nucleic Acids Res. 33; 671-674, 2005) cung cấp danh mục toàn diện của các trình tự vùng biến đổi globulin miễn dịch của người (biên soạn bởi Tomlinson, I. A. *et al.* MRC Centre for Protein Engineering, Cambridge, UK). Các FR người bảo thủ cũng có thể được sử dụng, ví dụ, như được mô tả trong bằng Mỹ số 6,300,064.

Theo các phương án được chọn, và như được mô tả chi tiết trong ví dụ 8 dưới đây, ít nhất 60%, 65%, 70%, 75%, hoặc 80% của các gốc axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể được làm tương thích với người sẽ tương ứng với các gốc của trình tự FR và CDR nhận. Theo các phương án khác, ít nhất 85% hoặc 90% các gốc của vùng biến đổi của kháng thể được làm tương thích với người sẽ tương ứng với các gốc của trình tự FR và CDR nhận. Theo phương án ưu tiên khác,

nhiều hơn 95% các gốc của vùng biến đổi của kháng thể được làm tương thích với người sẽ tương ứng với các gốc của trình tự FR và CDR nhận.

e. Kháng thể người

Theo phương án khác, các kháng thể này có thể bao gồm kháng thể hoàn toàn của người. Thuật ngữ "kháng thể người" để chỉ kháng thể mà chứa trình tự axit amin tương ứng với trình tự axit amin của kháng thể được sản sinh bởi người và/hoặc đã được tạo ra bằng cách sử dụng kỹ thuật bất kỳ để tạo ra kháng thể của người.

Kháng thể của người có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các kỹ thuật khác nhau đã biết trong lĩnh vực này. Một kỹ thuật là biểu hiện thể thực khuẩn, trong đó thư viện kháng thể (tốt hơn là người) được tổng hợp trên thực khuẩn thể, thư viện này được sàng lọc bằng kháng nguyên được quan tâm hoặc phần liên kết kháng thể của nó, và thực khuẩn thể mà liên kết kháng nguyên được phân lập, từ đó có thể thu được các phân đoạn có phản ứng miễn dịch. Phương pháp điều chế và sàng lọc các thư viện này đã được biết rõ trong lĩnh vực này và các kit để tạo ra thư viện biểu hiện thực khuẩn thể đã có trên thị trường (ví dụ, the Pharmacia Recombinant Phage Antibody System, catalog no. 27-9400-01; và kit biểu hiện thực khuẩn thể Stratagene SurfZAP^{TM}, catalog no. 240612). Cũng có các phương pháp và chất phản ứng khác có thể được sử dụng để tạo ra và sàng lọc thư viện biểu hiện kháng thể (xem, ví dụ, bằng Mỹ số 5,223,409; Công bố đơn PCT số WO 92/18619, WO 91/17271, WO 92/20791, WO 92/15679, WO 93/01288, WO 92/01047, WO 92/09690; và Barbas *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:7978-7982 (1991)).

Theo một phương án, kháng thể người tái tổ hợp có thể được phân lập bằng cách sàng lọc thư viện kháng thể tổ hợp tái tổ hợp được điều chế như trên. Theo một phương án, thư viện này là thư viện scFv biểu hiện trên thực khuẩn thể, được tạo ra bằng cách sử dụng cADN V_L và V_H của người được điều chế từ ARN thông tin được phân lập từ tế bào B.

Các kháng thể được tạo ra bởi thư viện nguyên thể (tự nhiên hoặc tổng hợp) có thể có ái lực vừa phải (K_a trong khoảng 10^6 đến 10^7 M^{-1}), nhưng sự thành thục ái lực cũng có thể được bắt chước trên *in vitro* bằng cách cấu trúc và sàng lọc lại từ các thư viện thứ cấp như được mô tả trong lĩnh vực này. Ví dụ, đột biến có thể được đưa vào ngẫu nhiên *in vitro* bằng cách sử dụng polymeraza dễ bị lỗi (được báo cáo trong ấn phẩm Leung *et al.*, *Technique*, 1: 11-15 (1989)). Ngoài ra, sự thành thục ái lực có thể

được thực hiện bằng cách gây đột biến ngẫu nhiên một hoặc nhiều CDR, ví dụ bằng cách sử dụng PCR với các đoạn mồi mang trình tự ngẫu nhiên kéo dài CDR cần quan tâm, trong các dòng Fv riêng biệt được chọn và sàng lọc dòng có ái lực cao hơn. WO 9607754 mô tả phương pháp gây đột biến trong CDR của chuỗi nhẹ globulin miễn dịch để tạo ra thư viện gen của chuỗi nhẹ. Một phương pháp tiếp cận hiệu quả khác là tái tổ hợp các vùng chức năng V_H hoặc V_L đã chọn bằng cách biểu hiện thực khuẩn thể với các nguồn biến thể vùng chức năng V có trong tự nhiên thu được từ các thể cho không được gây miễn dịch và sàng lọc phân tử có ái lực cao hơn trong một số vòng trộn rối chuỗi như được mô tả trong Marks *et al.*, *Biotechnol.*, 10: 779-783 (1992). Các kỹ thuật này cho phép tạo ra các kháng thể và các đoạn kháng thể có hằng số phân ly K_D (k_{off}/k_{on}) khoảng 10^{-9} M hoặc ít hơn.

Theo các phương án khác, các quy trình tương tự có thể được sử dụng bằng cách sử dụng các thư viện chứa các tế bào nhân chuẩn (ví dụ, nấm men) mà biểu hiện các cặp liên kết trên bề mặt của chúng. Xem, ví dụ, bằng Mỹ số 7,700,302 và U.S.S.N. 12/404.059. Theo một phương án, kháng thể người được chọn từ thư viện thực khuẩn thể, trong đó thư viện thực khuẩn thể này biểu hiện kháng thể người (Vaughan *et al.* Nature *Biotechnology* 14:309-314 (1996): Sheets *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:6157-6162 (1998). Theo các phương án khác, các cặp liên kết của người có thể được phân lập từ các thư viện kháng thể tổ hợp được tạo ra trong tế bào nhân chuẩn như nấm men. Xem ví dụ, bằng Mỹ số 7,700,302. Các kỹ thuật này cho phép sàng lọc số lượng lớn chất điều biến ứng viên và cung cấp cho việc thao tác tương đối dễ dàng các trình tự ứng viên (ví dụ, bởi sự thành thục ái lực hoặc trộn tái tổ hợp).

Kháng thể người cũng có thể được tạo ra bằng cách đưa lôcut của globulin miễn dịch của người vào động vật chuyển gen, ví dụ, chuột, trong đó các gen nội sinh của globulin miễn dịch bị bất hoạt một phần hoặc hoàn toàn và các gen của globulin miễn dịch của người đã được đưa vào. Sau khi thử, quan sát sự sản sinh kháng thể người, mà gần giống với quá trình thấy được ở người về tất cả các mặt, bao gồm sự tái sắp xếp gen, tổ hợp, và danh mục kháng thể. Phương pháp tiếp cận này được mô tả, ví dụ, trong bằng Mỹ số 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 5,661,016, và các bằng Mỹ số 6,075,181 và 6,150,584 về công nghệ XenoMouse®; và Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13:65-93 (1995). Theo cách khác, kháng thể người có thể được điều chế bằng cách cố định các tế bào Lymphô B người sản sinh kháng thể

nhằm kháng lại kháng nguyên đích (tế bào Lymphô B này có thể được thu hồi từ cá thể mắc rối loạn tạo u hoặc có thể được gây miễn dịch *in vitro*). Xem, ví dụ, Cole *et al.*, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner *et al.*, *J. Immunol*, 147 (l):86-95 (1991); và bằng Mỹ số 5,750,373.

3. Xử lý tiếp theo

Dù thu được bằng cách nào, tế bào sản sinh chất điều biến (ví dụ, các tế bào lai, kết tụ nấm men, v.v..) có thể được lựa chọn, tách dòng và sàng lọc tiếp về các đặc tính mong muốn bao gồm, ví dụ, phát triển mạnh, sản sinh kháng thể cao và, như được thảo luận chi tiết hơn dưới đây, các đặc điểm kháng thể được mong muốn. Tế bào lai có thể được mở rộng *in vivo* ở các động vật cùng gen, ở các động vật suy giảm miễn dịch, ví dụ, chuột thiếu hụt miễn dịch (nude mice), hoặc trong môi trường nuôi cấy tế bào *in vitro*. Các phương pháp chọn lọc, tách dòng và mở rộng tế bào lai và/hoặc các khuẩn lạc, mỗi phương pháp trong số các phương pháp này tạo ra loại kháng thể riêng biệt, đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này.

B. Sản xuất chất điều biến tái tổ hợp

1. Tổng quan

Khi nguồn này là ADN hoàn thiện mã hóa chất điều biến SEZ6 mong muốn, nó có thể dễ dàng được phân lập và giải trình tự nhờ sử dụng các quy trình thông thường (ví dụ, bằng cách sử dụng các đoạn dò oligonucleotit có khả năng liên kết đặc hiệu với các gen mã hóa các chuỗi nặng và nhẹ của kháng thể). Các tế bào lai được phân lập và tách dòng thứ cấp (hoặc thực khuẩn thể hoặc các kết tụ thu được từ nấm men) có thể được dùng làm nguồn ưu tiên của ADN này nếu chất điều biến là kháng thể. Nếu muốn, axit nucleic này có thể được thao tác thêm như được mô tả ở đây để tạo ra các chất bao gồm các protein dung hợp, hoặc kháng thể khảm, được làm tương thích với người hoặc kháng thể hoàn toàn của người. Cụ thể hơn, ADN được phân lập (mà có thể được biến đổi) có thể được sử dụng để tách dòng các trình tự vùng biến đổi và vùng hằng định để sản xuất các kháng thể.

Theo đó, theo các phương án lấy làm ví dụ, các kháng thể có thể được tạo ra theo cách tái tổ hợp, nhờ sử dụng các quy trình thông thường (như các quy trình nêu trong Al-Rubeai; An, và Shire et. al. ở trên, và Sambrook J. & Russell D. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2000); Ausubel *et al.*, Short Protocols in Molecular Biology: A

Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Wiley, John & Sons, Inc. (2002)) trong đó các tế bào lai được phân lập và tách dòng thứ cấp (hoặc thực khuẩn thể hoặc khuẩn lạc thu được từ nấm men) được dùng làm nguồn ưu tiên của các phân tử axit nucleic.

Thuật ngữ "phân tử axit nucleic", như được sử dụng ở đây, nhằm bao gồm các phân tử ADN và các phân tử ARN và các biến thể nhân tạo của nó (ví dụ, các axit nucleic peptit), cho dù là sợi kép hoặc sợi đơn. Các axit nucleic này có thể mã hóa một hoặc cả hai chuỗi của kháng thể theo sáng chế, hoặc đoạn hoặc dẫn xuất của nó. Các phân tử axit nucleic theo sáng chế còn bao gồm polynucleotit đủ để sử dụng làm các đoạn dò lai, các đoạn mồi PCR hoặc đoạn mồi để giải trình tự để nhận diện, phân tích, gây đột biến hoặc khuếch đại polynucleotit mã hóa polypeptit; các axit nucleic đối nghĩa để ức chế sự biểu hiện của polynucleotit, và cũng như các trình tự bổ sung. Các axit nucleic này có thể có chiều dài bất kỳ. Chúng có thể dài, ví dụ, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 750, 1.000, 1.500, 3.000, 5.000 hoặc nhiều nucleotit, và/hoặc có thể bao gồm một hoặc nhiều trình tự bổ sung, ví dụ, các trình tự điều hòa, và/hoặc là một phần của axit nucleic lớn hơn, ví dụ, vectơ. Sẽ được hiểu rằng trình tự axit nucleic này có thể còn được thao tác để tạo ra chất điều biến bao gồm kháng thể khảm, kháng thể được làm tương thích với người hoặc kháng thể hoàn toàn của người. Cụ thể hơn, các phân tử axit nucleic phân lập (có thể được biến đổi) có thể được sử dụng để tách dòng các trình tự của vùng biến đổi và vùng hằng định để sản xuất các kháng thể như được mô tả trong bằng Mỹ số 7,709,611.

Thuật ngữ "axit nucleic được phân lập" có nghĩa là axit nucleic được (i) khuếch đại in vitro, ví dụ bằng phản ứng chuỗi polymeraza (PCR), (ii) được sản xuất tái tổ hợp bằng cách tách dòng, (iii) được tinh chế, ví dụ bằng cách cắt và phân đoạn bằng điện di trên gel, hoặc (iv) được tổng hợp, ví dụ bằng tổng hợp hóa học. Axit nucleic được phân lập là axit nucleic có sẵn để thao tác bằng kỹ thuật ADN tái tổ hợp.

Cho dù nguồn axit nucleic mã hóa một phần, môtip hoặc vùng của DLL3 có hoạt tính miễn dịch mong muốn của kháng thể thu được hoặc có nguồn gốc từ kỹ thuật bộc lộ trên thực khuẩn thể, thư viện nấm men, kỹ thuật dựa trên tế bào lai hoặc theo cách tổng hợp, cần được hiểu rằng sáng chế bao hàm các phân tử axit nucleic và các trình tự mã hóa các kháng thể hoặc các phân hoặc dẫn xuất của chúng liên kết với

kháng nguyên. Ngoài ra, sáng chế đề cập đến các vectơ và tế bào chủ bao gồm các phân tử axit nucleic này.

2. Phép lai và sự đồng nhất về trình tự

Như được chỉ ra, sáng chế còn đề xuất các axit nucleic mà lai với các axit nucleic khác trong các điều kiện lai cụ thể. Cụ thể hơn sáng chế bao gồm các phân tử axit nucleic mà lai trong các điều kiện lai điều hòa hoặc các điều kiện lai nghiêm ngặt cao (ví dụ, như được xác định dưới đây), với các phân tử axit nucleic của sáng chế. Các phương pháp để lai các axit nucleic là đã biết rõ trong lĩnh vực này. Như đã biết rõ, các điều kiện lai nghiêm ngặt vừa phải bao gồm dung dịch rửa sơ bộ bao gồm natri clorua/natri xitrat (SSC) 5x, 0,5% SDS, 1,0 mM EDTA (pH 8,0), đệm lai chứa khoảng 50% formamit, 6xSSC, và nhiệt độ lai là 55°C (hoặc các dung dịch lai tương tự khác, như dung dịch lai chứa khoảng 50% formamit, với nhiệt độ lai là 42°C), và các điều kiện rửa là 60°C, trong 0,5xSSC, 0,1% SDS. Bằng cách lai so sánh trong các điều kiện lai nghiêm ngặt cao bao gồm rửa bằng 6xSSC ở 45°C, sau đó rửa một hoặc nhiều lần trong 0,1xSSC, 0,2% SDS ở 68°C. Hơn nữa, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này có thể điều chỉnh các điều kiện lai và/hoặc rửa để làm tăng hoặc giảm mức độ nghiêm ngặt của phép lai sao cho các axit nucleic bao gồm các trình tự nucleotit có mức độ đồng nhất với nhau ít nhất là 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% hoặc 99% thường vẫn được lai với nhau.

Sáng chế còn bao gồm các phân tử axit nucleic mà "gần như đồng nhất" với các phân tử axit nucleic được mô tả. Theo một phương án, thuật ngữ gần như giống liên quan đến trình tự axit nucleic có thể được hiểu là trình tự của các phân tử axit nucleic biểu hiện mức độ đồng nhất về trình tự ít nhất khoảng 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, hoặc 90%. Theo các phương án khác, các phân tử axit nucleic biểu hiện mức độ đồng nhất về trình tự 95% hoặc 98% với trình tự axit nucleic tham chiếu.

Các thông số cơ bản ảnh hưởng đến sự lựa chọn các điều kiện lai và hướng dẫn cho việc thiết lập các điều kiện lai thích hợp được nêu trong, ví dụ, Sambrook, Fritsch, và Maniatis (1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., các chương 9 và 11; và Current Protocols in Molecular Biology, 1995, Ausubel et al., eds., John Wiley & Sons, Inc., sections 2.10 và 6.3-6.4), và có thể được xác định dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này dựa trên, ví dụ, chiều dài và/hoặc thành phần bazơ của axit nucleic.

Sự tương đồng về trình tự đối với các polypeptit, còn được gọi là đồng nhất về trình tự, thường được đo bằng cách sử dụng phần mềm phân tích trình tự. Phần mềm phân tích protein bắt cặp các trình tự giống nhau bằng cách sử dụng các phép đo sự giống nhau được gán cho nhiều đột biến thế, mất đoạn và cải biến khác, bao gồm sự thế axit amin bảo thủ. Chẳng hạn, công cụ phân tích trình tự GCG (Accelrys Software Inc.) bao gồm các chương trình như "GAP" và "BEST-FIT" mà có thể được sử dụng với các thông số mặc định để xác định sự tương đồng hoặc mức độ đồng nhất về trình tự giữa các polypeptit có mối quan hệ gần gũi, như các polypeptit đồng nhất từ các loài sinh vật khác nhau hoặc giữa protein kiểu hoang và protein đột biến của nó. (Xem, ví dụ, GCG phiên bàn 6.1 hoặc Durbin et. al., *Biological Sequence Analysis: Probabilistic models of proteins and nucleic acids*, Cambridge Press (1998)).

Các trình tự polypeptit cũng có thể được so sánh bằng cách sử dụng FASTA sử dụng các thông số mặc định hoặc được đề nghị, chương trình trong GCG Version 6.1. FASTA (ví dụ, FASTA2 và FASTA3) cung cấp sự sắp xếp thẳng hàng và tỷ lệ phần trăm ương đồng trình tự của các vùng chồng lấp tốt nhất giữa các trình tự truy vấn và tra cứu (Pearson (2000) nêu trên). Một thuật toán được ưu tiên khác khi so sánh trình tự của sáng chế với cơ sở dữ liệu chứa số lượng lớn các trình tự từ các sinh vật khác nhau là chương trình máy tính BLAST, cụ thể là blastp hoặc tblastn, sử dụng các thông số mặc định. Xem, ví dụ, Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403 410 và Altschul et al. (1997) Nucleic acids Res. 25:3389 402, mỗi tài liệu được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Về mặt này, sáng chế còn bao gồm các phân tử axit nucleic mã hóa các polypeptit mà "gần như tương đồng" với trình tự polypeptit vùng biến đổi của kháng thể (ví dụ, vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể cho, vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể nhận hoặc cấu trúc được làm tương thích với người thu được). Như được áp dụng đối với các polypeptit này, thuật ngữ "gần như tương đồng" có nghĩa là hai trình tự peptit, khi được bắt cặp tùy ý, như bằng các chương trình GAP hoặc BEST-FIT sử dụng tải trọng khoảng trống mặc định, có cùng mức độ đồng nhất về trình tự ít nhất là 60% hoặc 65%, tốt hơn nếu ít nhất là 70%, 75%, 80%, 85%, hoặc 90%, tốt hơn nữa nếu ít nhất là 93%, 95%, 98% hoặc 99%. Tốt hơn, vị trí của các gốc không tương đồng khác nhau bởi đột biến thế axit amin bảo tồn. "Đột biến thế axit amin bảo tồn" là sự thế, trong đó một gốc axit amin được thay thế

bằng một gốc axit amin khác có chuỗi bên (nhóm R) có các đặc điểm hóa học tương tự (ví dụ, điện tích hoặc đặc tính kỵ nước). Nhìn chung, đột biến thế axit amin bảo tồn gần như không làm thay đổi đặc tính chức năng của protein. Trong các trường hợp mà trong đó hai hoặc nhiều trình tự axit amin khác nhau bởi các đột biến thế bảo tồn, tỉ lệ phần trăm tương đồng trình tự hoặc mức độ tương đồng có thể được điều chỉnh tăng để hiệu chỉnh tính chất bảo thủ của đột biến thế này.

3. Biểu hiện

Các quy trình biểu hiện tái tổ hợp khác nhau, tức là, quy trình tạo ra ARN hoặc của ARN và protein/peptit, là đã được biết rõ như được đề cập, ví dụ, trong Berger và Kimmel, Guide to Molecular Cloning Techniques, *Methods in Enzymology* volume 152 Academic Press, Inc., San Diego, Calif.; Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning-A Laboratory Manual* (3rd Ed.), Vol. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y., (2000); và *Current Protocols in Molecular Biology*, F. M. Ausubel *et al.*, eds., Current Protocols, a joint venture between Greene Publishing Associates, Inc. và John Wiley & Sons, Inc., (được bổ sung năm 2006).

Một số thuật ngữ quan tâm bao gồm "trình tự kiểm soát biểu hiện" bao gồm các trình tự khởi đầu, vị trí liên kết ribosom, chất tăng cường và các yếu tố kiểm soát khác mà điều hòa quá trình phiên mã gen hoặc dịch mã ARN thông tin. Như đã biết rõ, "trình tự khởi đầu" hoặc "vùng trình tự khởi đầu" chỉ trình tự axit nucleic thường nằm ở phía trước (5') của trình tự axit nucleic được biểu hiện và kiểm soát sự biểu hiện của trình tự này bằng cách đưa ra vị trí nhận diện và liên kết cho ARN polymeraza.

Các trình tự khởi đầu được lấy làm ví dụ mà phù hợp theo sáng chế bao gồm các trình tự khởi đầu cho SP6, T3 và T7 polymeraza, trình tự khởi đầu của U6 ARN của người, trình tự khởi đầu của CMV, và các trình tự khởi đầu lai nhân tạo của nó (ví dụ CMV) trong đó một phần hoặc nhiều phần được dung hợp với một phần hoặc nhiều phần của các trình tự khởi đầu của các gen của các protein tế bào khác như, ví dụ GAPDH của người (glyxeraldehyt-3-phosphat dehydrogenaza), và bao gồm hoặc không bao gồm (các) intron bổ sung.

Theo một số phương án, phân tử axit nucleic có thể nằm trong vectơ, thích hợp với trình tự khởi đầu, mà kiểm soát sự biểu hiện của axit nucleic này. Thuật ngữ đã được biết rõ "vectơ" bao gồm phương tiện trung gian bất kỳ cho axit nucleic mà cho phép axit nucleic này, ví dụ, được đưa vài tế bào tiền nhân và/hoặc tế bào nhân chuẩn

và, tại đó thích hợp, để được tích hợp vào bộ gen. Các phương pháp biến nạp tế bào động vật có vú đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Xem, ví dụ, các bằng Mỹ số 4,399,216, 4,912,040, 4,740,461, và 4,959,455. Các vectơ này có thể bao gồm trình tự nucleotit mã hóa kháng thể sáng chế (ví dụ, kháng thể nguyên vẹn, chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể, V_H hoặc V_L của kháng thể, hoặc một phần của nó, hoặc CDR của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ, Fv chuỗi đơn, hoặc các phân đoạn hoặc các biến thể của nó), được liên kết động với trình tự khởi đầu (xem, ví dụ, Công bố đơn PCT WO 86/05807; Công bố đơn PCT WO 89/01036; và bằng Mỹ số 5,122,464).

Nhiều hệ vectơ biểu hiện của vật chủ khác nhau đã có sẵn trên thị trường, và nhiều hệ là phù hợp với phần mô tả của sáng chế và có thể được sử dụng để biểu hiện chất điều biến của sáng chế. Các hệ này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các vi sinh vật như vi khuẩn (ví dụ, *E. coli, B. subtilis, streptomyces*) được biến nạp bằng ADN thực khuẩn thể tái tổ hợp, ADN plasmit hoặc các vectơ biểu hiện ADN cosmit chứa các trình tự mã hóa chất điều biến; nấm men (ví dụ, *Saccharomyces, Pichia*) được chuyển nhiễm bằng các vectơ biểu hiện nấm men tái tổ hợp chứa các trình tự mã hóa chất điều biến; hệ tế bào côn trùng được chuyển nhiễm bằng các vectơ biểu hiện virut tái tổ hợp (ví dụ, baculovirus) chứa các trình tự mã hóa chất điều biến; các hệ tế bào thực vật (ví dụ, thuốc lá, cỏ Arabidopsis, bèo tấm, ngô, lúa mì, khoai tây, v.v..) được chuyển nhiễm bằng các vectơ biểu hiện virut tái tổ hợp (ví dụ, virut khảm súp lơ; virut khảm thuốc lá) hoặc được chuyển nhiễm bằng các vectơ biểu hiện plasmit tái tổ hợp (ví dụ, Plasmit Ti) chứa các trình tự mã hóa chất điều biến; hoặc hệ tế bào của động vật có vú (ví dụ, các tế bào COS, CHO, BHK, 293, 3T3 v.v..) chứa các cấu trúc biểu hiện tái tổ hợp chứa các trình tự khởi đầu thu được từ bộ gen của tế bào động vật có vú (ví dụ, trình tự khởi đầu của thionein kim loại) hoặc từ virut ở động vật có vú (ví dụ, trình tự khởi đầu muộn của adenovirut; trình tự khởi đầu 7,5K của virut gây bệnh đậu mùa).

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "tế bào chủ" bao gồm loại hệ tế bào bất kỳ có thể được thao tác di truyền để tạo ra các polypeptit và các phân tử liên kết kháng nguyên của sáng chế. Theo một phương án, tế bào chủ được thao tác di truyền để cho phép sản sinh phân tử liên kết kháng nguyên với các glycoform biến đổi. Theo phương án ưu tiên, phân tử liên kết kháng nguyên, hoặc phân tử liên kết kháng nguyên biến đổi, là kháng thể, phân đoạn của kháng thể, hoặc protein dung hợp. Theo một số

phương án, tế bào chủ có thể được xử lý thêm để biểu hiện các mức gia tăng của một hoặc nhiều polypeptit có hoạt tính N-axetylglucosaminyltransferaza III (GnTI11). Tế bào chủ thích hợp bao gồm các tế bào được nuôi cấy, ví dụ, các tế bào của động vật có vú được nuôi cấy, như tế bào CHO, tế bào BHK, tế bào NSO, tế bào SP2/0, tế bào đa u tủy YO, tế bào đa u tủy P3X63 của chuột nhắt, tế bào PER, tế bào PER.C6 hoặc các tế bào lai, tế bào nấm men, tế bào côn trùng, và tế bào thực vật, đó là chỉ một số ít, ngoài ra còn bao gồm các tế bào trong động vật biến đổi gen, thực vật biến đổi gen hoặc mô động vật và thực vật được nuôi cấy.

Về lâu dài, quy trình tạo ra các protein tái tổ hợp được biểu hiện ổn định được ưu tiên. Theo đó, các dòng tế bào mà biểu hiện ổn định chất điều biến được chọn có thể được thao tác di truyền bằng cách sử dụng các kỹ thuật chuẩn đã biết trong lĩnh vực này. Còn hơn cả việc sử dụng các vectơ biểu hiện mà chứa các gốc sao chép của virut, tế bào chủ có thể được biến nạp bằng ADN được kiểm soát bởi các yếu tố kiểm soát biểu hiện thích hợp (ví dụ, trình tự khởi đầu, yếu tố tăng cường, các trình tự, các yếu tố kết thúc phiên mã, các vị trí polyadenyl hóa, v.v..), và gen đánh dấu có thể chọn lọc được. Hệ chọn lọc bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này có thể được sử dụng, bao gồm hệ biểu hiện gen của glutamin synthetaza (hệ GS) cung cấp một phương pháp hiệu quả để tăng cường sự biểu hiện trong những điều kiện nhất định. Hệ GS được bàn luận toàn bộ hoặc một phần trong các patent EP 0 216 846, 0 256 055, 0 323 997 và 0 338 841 và bằng Mỹ số 5,591,639 và 5,879,936 mỗi tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Hệ biểu hiện được ưu tiên khác, kit Freedom™ CHO-S đươc cung cấp trên thị trường bởi hãng Life Technologies (Catalog Number A13696-01) cũng cho phép phát triển dòng tế bào ổn định mà có thể được sử dụng để sản xuất chất điều biến.

Hệ biểu hiện vật chủ này không chỉ là các phương tiện mà nhờ đó các trình tự mã hóa cần quan tâm có thể được tạo ra và được tinh chế tiếp, mà còn là các tế bào có thể, khi được biến nạp hoặc được chuyển nhiễm bằng các trình tự mã hóa nucleotit thích hợp, biểu hiện tại chỗ phân tử của sáng chế. Tế bào chủ này có thể được đồng chuyển nhiễm bằng hai vectơ biểu hiện của sáng chế, ví dụ, vectơ thứ nhất mã hóa polypeptit có nguồn gốc từ chuỗi nặng và vectơ thứ hai mã hóa polypeptit có nguồn gốc từ chuỗi nhẹ.

Do đó, theo một số phương án, sáng chế đề xuất tế bào chủ tái tổ hợp cho phép biểu hiện các kháng thể hoặc một phần của nó. Các kháng thể được tạo ra bằng cách

biểu hiện trong tế bào chủ tái tổ hợp này được đề cập ở đây là các kháng thể tái tổ hợp. Sáng chế còn đề xuất tế bào con của tế bào chủ này, và các kháng thể được tạo ra bằng các tế bào này.

C. Tổng hợp hóa học

Ngoài ra, chất điều biến có thể được tổng hợp hóa học nhờ sử dụng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này (ví dụ, xem Creighton, 1983, Proteins: Structures and Molecular Principles, W.H. Freeman & Co., N.Y., và Hunkapiller, M., *et al.*, 1984, Nature 310:105-111). Hơn nữa, nếu muốn, axit amin không cổ điển hoặc chất hóa học tương tự axit amin (như các đồng phân D của axit amin thông thường, axit 2,4-diaminobutyric, axit a-amino isobutyric, axit 4-aminobutyric, và tương tự) có thể được đưa vào dưới dạng đột biến thế, hoặc thêm vào trong trình tự polypeptit.

D. Các hệ chuyển gen

Theo các phương án khác, chất điều biến có thể được tạo ra theo cách chuyển gen bằng cách tạo ra động vật có vú hoặc thực vật chuyển gen cho các phân tử tái tổ hợp như các trình tự chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch và tạo ra các hợp chất mong muốn ở dạng có thể thu hồi được. Quy trình này bao gồm, ví dụ, tạo ra chất điều biến protein (ví dụ, các kháng thể) trong, và thu hồi từ, sữa dê, bò hoặc các động vật có vú khác. Xem, ví dụ, các bằng Mỹ số 5,827,690, 5,756,687, 5,750,172, và 5,741,957. Theo một số phương án, động vật chuyển gen không phải người mà có locut globulin miễn dịch của người được gây miễn dịch để tạo các kháng thể.

Các kỹ thuật chuyển gen khác được nêu trong Hogan *et al.*, Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual 2nd ed., Cold Spring Harbor Press (1999); Jackson *et al.*, Mouse Genetics and Transgenics: A Practical Approach, Oxford University Press (2000); và Pinkert, Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook, Academic Press (1999) và U.S. P.N. 6.417.429. Theo một số phương án, động vật không phải người là chuột nhắt, chuột cống, cừu, lợn, dê, bò hoặc ngựa, và sản phẩm mong muốn được tạo ra trong máu, sữa, nước tiểu, nước bọt, nước mắt, chất nhầy và các dịch cơ thể khác, từ đó có thể dễ dàng thu được bằng cách sử dụng các kỹ thuật tinh chế đã biết trong lĩnh vực này.

Các hệ sản xuất thích hợp khác bao gồm các phương pháp tạo kháng thể ở thực vật như được mô tả, ví dụ, trong các bằng Mỹ số 6,046,037 và 5,959,177 được đưa vào đây cho các kỹ thuật này.

E. Phân lập/tinh chế

Khi chất điều biến theo sáng chế được tạo ra bằng cách biểu hiện tái tổ hợp hoặc kỹ thuật bất kỳ khác đã được mô tả, nó có thể được tinh chế bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này để tinh chế các globulin miễn dịch hoặc các protein. Về mặt này, chất điều biến này có thể được "phân lập" có nghĩa là nó được nhận diện và được tách và/hoặc thu hồi từ thành phần của môi trường tự nhiên của nó. Các thành phần gây nhiễm của môi trường tự nhiên của nó là các nguyên liệu gây cản trở ứng dụng chẩn đoán hoặc điều trị đối với polypeptit này và có thể bao gồm các enzym, hormon, và các chất tan protein hoặc không phải protein khác. Chất điều biến được phân lập bao gồm chất điều biến *in situ* trong tế bào tái tổ hợp bởi vì ít nhất một thành phần của môi trường tự nhiên của polypeptit này sẽ không có mặt.

Nếu phân tử mong muốn được sinh ra trong tế bào, bước đầu tiên là mảnh vỡ dạng hạt, hoặc tế bào chủ hoặc các phân đoạn đã được ly giải, có thể được loại bỏ, ví dụ, bằng cách ly tâm hoặc lọc. Tại nơi mà chất điều biến được tiết vào trong môi trường, các dịch nổi từ hệ biểu hiện này thường được cô đặc lần thứ nhất bằng cách sử dụng thiết bị lọc cô protein có bán trên thị trường, ví dụ, bộ siêu lọc Amicon hoặc Pellicon (Millipore Corp.). Khi chất tạp nhiễm không hòa tan được loại bỏ, chế phẩm chất điều biến có thể được tinh chế thêm bằng cách sử dụng các kỹ thuật chuẩn như, ví dụ, sắc ký qua hydroxylapatit, điện di trên gel, thẩm tách, và sắc ký ái lực, với sắc ký ái lực được đặc biệt quan tâm. Về vấn đề này, protein A có thể được sử dụng để tinh chế các kháng thể mà dựa trên các chuỗi nặng IgG1, IgG2 hoặc IgG4 của người (Lindmark, *et al.*, J Immunol Meth 62:1 (1983)), trong khi protein G được đề xuất đối với tất cả isotyp của chuột nhắt và với IgG3 của người (Guss, *et al.*, EMBO J 5:1567 (1986)). Các kỹ thuật khác để tinh chế protein như phân đoạn trên cột trao đổi ion, kết tủa bằng cồn, HPLC pha đảo, sắc ký trên silica, sắc ký trên heparin, sắc ký sepharoza trên nhựa trao đổi anion hoặc cation (như cột axit polyaspartic), sắc ký điểm, SDS-PAGE và kết tủa amoni sulfat cũng có thể sử dụng tùy theo kháng thể được thu hồi. Theo các phương án đặc biệt ưu tiên chất điều biến theo sáng chế sẽ được tinh chế, ít nhất một phần, nhờ sử dụng sắc ký ái lực Protein A hoặc Protein G.

VI. Các đoạn và dẫn xuất của chất điều biến SEZ6

Dù bất cứ phương pháp điều chế và sản xuất nào được chọn, chất điều biến theo sáng chế sẽ phản ứng, liên kết, kết hợp, tạo phức, kết nối, dính bám, nối, tương tác

hoặc theo cách khác liên hợp với yếu tố quyết định đích (ví dụ, kháng nguyên) và do đó tạo ra kết quả mong muốn. Khi chất điều biến bao gồm kháng thể hoặc phân đoạn, cấu trúc hoặc dẫn xuất của nó, sự liên hợp này có thể thông qua một hoặc nhiều "vị trí liên kết" hoặc "thành phần liên kết" được biểu hiện trên kháng thể này, trong đó vị trí liên kết bao gồm vùng polypeptit chịu trách nhiệm liên kết đặc hiệu với phân tử đích hoặc kháng nguyên cần quan tâm. Các vùng chức năng liên kết bao gồm ít nhất một vị trí liên kết (ví dụ, kháng thể IgG nguyên vẹn sẽ có hai vùng chức năng liên kết và hai vị trí liên kết). Các vùng chức năng liên kết ví dụ bao gồm vùng chức năng biến đổi của kháng thể, vùng chức năng liên kết thụ thể của phối tử, vùng chức năng liên kết phối tử của thụ thể hoặc vùng chức năng enzym.

A. Kháng thể

Như được lưu ý trên đây, thuật ngữ "kháng thể" nhằm bao gồm, ít nhất, các kháng thể đa dòng, các kháng thể nhiều dòng, kháng thể khảm, các kháng thể ghép CDR, các kháng thể được làm tương thích với người hoặc được làm tương thích với linh trưởng, kháng thể của người, các kháng thể được tạo ra bằng tái tổ hợp, các kháng thể nội bào, các kháng thể đa đặc hiệu, các kháng thể đặc hiệu kép, các kháng thể một hóa trị, các kháng thể đa hóa trị, các kháng thể kháng idiotyp, cũng như các kháng thể tổng hợp.

B. Các đoạn

Dù dạng nào của chất điều biến (ví dụ thể khảm, được làm tương thích với người, v.v..) được chọn để thực hiện sáng chế, cần phải hiểu rằng các phân đoạn phản ứng miễn dịch của chúng có thể được sử dụng theo phần mô tả ở đây. "Phân đoạn kháng thể" bao gồm ít nhất một phần của kháng thể nguyên vẹn. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "phân đoạn" của phân tử kháng thể bao gồm các phân đoạn liên kết kháng nguyên của các kháng thể, và thuật ngữ "phân đoạn liên kết kháng nguyên" để chỉ phân đoạn polypeptit của globulin miễn dịch hoặc kháng thể mà liên kết hoặc phản ứng đặc hiệu miễn dịch với kháng nguyên được chọn hoặc yếu tố quyết định kháng nguyên của nó hoặc cạnh tranh với kháng thể nguyên vẹn mà từ kháng thể này thu được phân đoạn kháng thể để liên kết với kháng nguyên đặc hiệu.

Ví dụ về các phân đoạn bao gồm: V_L, V_H, scFv, phân đoạn F(ab')2, phân đoạn Fab, phân đoạn Fd, phân đoạn Fv, các phân đoạn kháng thể của một vùng chức năng, các kháng thể kép, các kháng thể tuyến tính, các phân tử kháng thể chuỗi đơn và các

kháng thể đa đặc hiệu được tạo ra từ các phân đoạn kháng thể. Ngoài ra, phân đoạn có hoạt tính bao gồm một phần của kháng thể mà vẫn giữ được khả năng tương tác với kháng nguyên/cơ chất hoặc các thụ thể và cải biến chúng theo cách tương tự như kháng thể nguyên vẹn (mặc dù có thể có phần nào kém hiệu quả hơn).

Theo các phương án khác, phân đoạn kháng thể là phân đoạn mà có vùng Fc và duy trì ít nhất một trong số các chức năng sinh học bình thường liên quan đến vùng Fc khi có mặt trong kháng thể nguyên vẹn, như liên kết FcRn, điều biến thời gian bán thải của kháng thể, chức năng ADCC và liên kết bổ thể. Theo một phương án, phân đoạn kháng thể là kháng thể đơn trị mà có thời gian bán thải *in vivo* gần như tương tự với kháng thể nguyên vẹn. Ví dụ, phân đoạn kháng thể này có thể bao gồm nhánh liên kết kháng nguyên được liên kết với trình tự Fc có khả năng tạo ra độ ổn định *in vivo* cho phân đoạn này.

Như sẽ được công nhận bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này, các phân đoạn có thể thu được bằng cách xử lý bằng hóa chất hoặc enzym (như papain hoặc pepsin) của kháng thể nguyên thể hoặc đầy đủ hoặc chuỗi kháng thể hoặc bằng phương pháp tái tổ hợp. Xem, ví dụ, Fundamental Immunology, W. E. Paul, ed., Raven Press, N.Y. (1999), để biết mô tả chi tiết của các phân đoạn kháng thể.

C. Dẫn xuất

Sáng chế còn bao gồm dẫn xuất của chất điều biến có phản ứng miễn dịch và các phân tử liên kết kháng nguyên bao gồm một hoặc nhiều cải biến.

1. Các kháng thể đa hóa trị

Theo một phương án, chất điều biến theo sáng chế có thể là đơn hóa trị hoặc đa hóa trị (ví dụ, hóa trị hai, hóa trị ba, v.v..). Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "hóa trị" để chỉ số lượng của vị trí liên kết đích tiềm năng của kháng thể. Mỗi vị trí liên kết đích liên kết đặc hiệu với một phân tử đích hoặc vị trí hoặc lôcut đặc hiệu trên phân tử đích. Khi kháng thể có một hóa trị, mỗi vị trí liên kết của phân tử này sẽ liên kết đặc hiệu với một vị trí hoặc epitop kháng nguyên duy nhất. Khi kháng thể bao gồm nhiều hơn một vị trí liên kết đích (đa hóa trị), mỗi vị trí liên kết đích có thể liên kết đặc hiệu với các phân tử giống hoặc khác nhau (ví dụ, có thể liên kết với các phối tử khác nhau hoặc các kháng nguyên khác nhau, hoặc epitop hoặc các vị trí khác nhau trên cùng kháng nguyên). Xem, ví dụ, bằng Mỹ số 2009/0130105. Trong mỗi trường hợp, ít nhất

một trong số các vị trí liên kết là epitop, motif hoặc vùng chức năng liên kết với chất đồng đẳng của SEZ6.

Theo một phương án, chất điều biến là các kháng thể đặc hiệu kép, trong đó hai chuỗi có tính đặc hiệu khác nhau, như được mô tả trong Millstein *et al.*, 1983, *Nature*, 305:537-539. Các phương án khác bao gồm các kháng thể có các tính đặc hiệu bổ sung như các kháng thể đặc hiệu ba. Các cấu trúc đa đặc hiệu thích hợp phức tạp hơn khác và các phương pháp bào chế chúng được nêu trong bằng Mỹ số 2009/0155255, cũng như WO 94/04690; Suresh *et al.*, 1986, *Methods in Enzymology*, 121:210; và WO96/27011.

Như đề cập trên đây, các kháng thể đa hóa trị có thể liên kết đặc hiệu miễn dịch với các epitop khác nhau của một phân tử đích mong muốn hoặc có thể liên kết đặc hiệu miễn dịch với cả phân tử đích cũng như epitop khác loại, như polypeptit khác loại hoặc nguyên liệu rắn hỗ trợ. Mặc dù các phương án ưu tiên của các kháng thể kháng SEZ6 chỉ liên kết với hai kháng nguyên (tức là kháng thể đặc hiệu kép), các kháng thể có tính đặc hiệu bổ sung như kháng thể đặc hiệu ba cũng được đề xuất bởi sáng chế. Các kháng thể đặc hiệu kép cũng bao gồm các kháng thể liên kết ngang hoặc "liên hợp khác loài". Ví dụ, một trong các kháng thể trong liên hợp khác loài có thể bắt cặp với avidin, kháng thể còn lại với biotin. Các kháng thể này, ví dụ, đã được đề xuất để hướng đích các tế bào hệ miễn dịch đến tế bào không mong muốn (Bằng Mỹ số 4,676,980), và để điều trị nhiễm HIV (WO 91/00360, WO 92/200373, và EP 03089). Các kháng thể trong liên hợp khác loài có thể được tạo ra nhờ sử dụng các phương pháp liên kết ngang thuận tiện bất kỳ. Các tác nhân liên kết ngang thích hợp là đã biết trong lĩnh vực này, và được mô tả trong U.S. P.N. 4,676,980, cùng với một số kỹ thuật liên kết ngang.

Theo các phương án khác nữa, các vùng chức năng biến đổi của kháng thể có tính đặc hiệu liên kết mong muốn (vị trí kết hợp kháng thể-kháng nguyên) được dung hợp với trình tự vùng chức năng hằng định của globulin miễn dịch, như vùng chức năng hằng định của chuỗi nặng của globulin miễn dịch chứa ít nhất một phần của vùng nối, các vùng C_H2, và/hoặc C_H3, sử dụng các phương pháp đã được biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này.

2. Cải biến vùng Fc

Ngoài các cải biến, thay thế, thêm hoặc bớt khác nhau đối với vùng biến đổi hoặc vùng liên kết của chất điều biến được mô tả (ví dụ, Fc-SEZ6 hoặc các kháng thể kháng SEZ6) nêu trên, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ hiểu rằng các phương án được chọn theo sáng chế có thể còn bao gồm các đột biến thế hoặc cải biến của vùng hằng định (tức là vùng Fc). Cụ thể hơn, được dự tính rằng chất điều biến SEZ6 theo sáng chế có thể chứa *ngoài các cải biến khác* một hoặc nhiều gốc axit amin thế bổ sung, các đột biến và/hoặc cải biến mà tạo ra hợp chất có các đặc điểm được ưu tiên bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: dược động học biến đổi, thời gian bán thải trong huyết thanh tăng, tăng ái lực liên kết, giảm khả năng gây miễn dịch, tăng sản sinh, thay đổi liên kết phối tử Fc với thụ thể Fc (FcR), làm tăng hoặc giảm hoạt tính "ADCC" (gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể) hoặc "CDC" (gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể), thay đổi sự glycosyl hóa và/hoặc các liên kết disulfit và biến đổi tính đặc hiệu của liên kết. Về vấn đề này, cần phải hiểu rằng các biến thể Fc này có thể được sử dụng có lợi để tăng cường các đặc tính chống ung thư hiệu quả của chất điều biến được mô tả.

Với mục đích này, một số phương án theo sáng chế có thể bao gồm đột biến thế hoặc biến đổi vùng Fc, ví dụ thêm một hoặc nhiều gốc axit amin, đột biến thế, các đột biến và/hoặc biến đổi để tạo ra hợp chất có chức năng yếu tố tác động Fc được tăng cường hoặc ưu tiên. Ví dụ, thay đổi các gốc axit amin liên quan đến sự tương tác giữa vùng chức năng Fc và thụ thể Fc (ví dụ, FcγRI, FcγRIIA và B, FcγRIII và FcRn) có thể dẫn đến làm tăng tính gây độc tế bào và/hoặc biến đổi dược động học, như tăng thời gian bán thải trong huyết thanh (xem, ví dụ, Ravv.v.h and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991); Capel *et al.*, Immunomethods 4:25-34 (1994); và de Haas *et al.*, J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995) mỗi tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Theo các phương án được chọn, các kháng thể có thời gian bán thải *in vivo* tăng có thể được tạo ra bằng cách cải biến (ví dụ, thay thế, loại bỏ hoặc thêm vào) các gốc axit amin được xác định là liên quan đến tương tác giữa vùng chức năng Fc và thụ thể FcRn (xem, ví dụ, Các công bố đơn quốc tế số WO 97/34631; WO 04/029207; bằng Mỹ số 6,737,056 và đơn Mỹ số 2003/0190311. Liên quan đến các phương án này, các biến thể Fc có thể tạo ra thời gian bán thải ở động vật có vú, tốt hơn là người, nhiều

hơn 5 ngày, nhiều hơn 10 ngày, nhiều hơn 15 ngày, tốt hơn nhiều hơn 20 ngày, nhiều hơn 25 ngày, nhiều hơn 30 ngày, nhiều hơn 35 ngày, nhiều hơn 40 ngày, nhiều hơn 45 ngày, nhiều hơn 2 tháng, nhiều hơn 3 tháng, nhiều hơn 4 tháng, hoặc nhiều hơn 5 tháng. Thời gian bán hủy tăng dẫn đến hiệu giá trong huyết thanh cao hơn do đó làm giảm tần số sử dụng các kháng thể và/hoặc làm giảm nồng độ kháng thể cần sử dụng. Liên kết với FcRn của người *in vivo* và thời gian bán thải của polypeptit liên kết ái lực cao với FcRn người có thể được thử nghiệm, ví dụ, trong chuột chuyển gen hoặc dòng tế bào người được chuyển nhiễm biểu hiện FcRn của người, hoặc ở động vật linh trưởng mà được cho sử dụng các polypeptit có vùng Fc biến đổi. WO 2000/42072 mô tả các biến thể kháng thể có liên kết với các FcRn được tăng cường hoặc được giảm nhẹ. Cũng xem, ví dụ, Shields et al. J. Biol. Chem. 9(2):6591-6604 (2001).

Theo các phương án khác, sự biến đổi của Fc có thể dẫn đến tăng hoặc giảm hoạt tính ADCC hoặc CDC. Như đã biết trong lĩnh vực này, CDC để chỉ sự làm tan tế bào đích khi có mặt bổ thể, và ADCC để chỉ dạng gây độc tế bào trong đó Ig được tiết ra được gắn lên FcR có mặt trên một số tế bào gây độc tế bào (ví dụ, tế bào giết tự nhiên, bạch cầu trung tính, và đại thực bào) cho phép các tế bào phản ứng gây độc tế bào này liên kết đặc hiệu với tế bào đích mang kháng nguyên và tiếp theo tiêu diệt tế bào đích bằng độc tố tế bào. Trong phạm vi của sáng chế, các biến thể của kháng thể được đề xuất có ái lực liên kết FcR "biến đổi", hoặc làm tăng hoặc làm giảm liên kết so với kháng thể gốc hoặc kháng thể không được cải biến hoặc so với kháng thể chứa trình tự FcR nguyên thể. Các biến thể biểu hiện liên kết giảm này có thể có ít hoặc không có liên kết thích hợp, ví dụ, 0-20% liên kết với FcR so với trình tự nguyên thể, ví dụ như được xác định bằng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này. Theo các phương án khác, biến thể sẽ biểu hiện liên kết tăng so với vùng chức năng Fc của globulin miễn dịch ban đầu. Cần phải hiểu rằng các loại biến thể Fc này có thể được sử dụng có lợi để tăng cường các đặc tính chống ung thư hiệu quả của các kháng thể được mô tả. Theo các phương án khác nữa, các biến đổi này dẫn đến tăng ái lực liên kết, giảm tính sinh miễn dịch, tăng sản xuất, biến đổi glycosyl hóa và/hoặc liên kết disulfua (ví dụ, đối với vị trí liên hợp), cải biến tính đặc hiệu liên kết, tăng sự đại thực bào; và/hoặc điều hòa giảm các thụ thể bề mặt tế bào (ví dụ thụ thể tế bào B; BCR), v.v..

3. Biến đổi glycosyl hóa

Các phương án khác nữa bao gồm một hoặc nhiều glycoform được thao tác di truyền tức là, chất điều biến SEZ6 có mô hình glycosyl hóa biến đổi hoặc thành phần carbohydrat mà liên kết cộng hóa trị với protein biến đổi (ví dụ, trong vùng chức năng Fc). Xem, ví dụ, Shields, R. L. *et al.* (2002) *J. Biol. Chem.* 277:26733-26740. Các glycoform được thao tác di truyền có thể là hữu dụng cho nhiều mục đích khác nhau, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở làm tăng hoặc làm giảm hoạt động của cơ quan phản ứng, làm tăng ái lực của chất điều biến với đích hoặc tạo thuận lợi cho việc sản xuất chất điều biến. Theo một số phương án, trong đó chức năng của cơ quan phản ứng bị giảm được mong muốn, phân tử này có thể được thao tác di truyền để biểu hiện dạng không được glycosyl hóa. Sự thay thế mà có thể dẫn đến sự loại bỏ một hoặc nhiều vị trí glycosyl hóa trong khung của vùng biến đổi do đó loại bỏ sự glycosyl hóa ở vị trí đó là đã biết (xem ví dụ các bằng Mỹ số 5,714,350 và 6,350,861). Ngược lại, chức năng của cơ quan phản ứng được tăng cường hoặc liên kết được cải thiện có thể được truyền cho phân tử chứa Fc bằng cách thao tác di truyền trong một hoặc nhiều vị trí glycosyl hóa bổ sung.

Các phương án khác bao gồm biến thể Fc mà có thành phần glycosyl hóa biến đổi, như kháng thể được hypofucosyl hóa có số lượng gốc fucosyl giảm hoặc kháng thể có cấu trúc GlcNAc chia đôi tăng. Các mô hình glycosyl hóa biến đổi này được chứng minh là làm tăng khả năng ADCC của các kháng thể. Các glycoform được thao tác di truyền có thể được tạo ra bằng phương pháp bất kỳ đã biết với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này, ví dụ bằng cách sử dụng các chủng biểu hiện được thao tác di truyền hoặc biến thể, bằng cách đồng biểu hiện với một hoặc nhiều enzym (ví dụ N-axetylglucosaminyltransferaza III (GnTI11)), bằng cách biểu hiện phân tử chứa vùng Fc trong nhiều sinh vật hoặc dòng tế bào khác nhau từ nhiều sinh vật khác nhau hoặc bằng cách cải biến hydrat cacbon sau khi phân tử chứa vùng Fc được biểu hiện (xem, ví dụ, WO 2012/117002).

4. Xử lý bổ sung

Chất điều biến có thể được cải biến khác nhau trong hoặc sau khi tạo ra, ví dụ, bằng sự glycosyl hóa, axetyl hóa, phosphoryl hóa, amit hóa, tạo dẫn xuất bằng các nhóm bảo vệ/phong bế, phân cắt nhờ thủy phân protein, liên kết với phân tử kháng thể hoặc phối tử tế bào khác, v.v.. Bất kỳ trong số nhiều cải biến hóa học có thể được thực

hiện kỹ thuật đã biết, bao gồm nhưng không giới hạn ở, cắt hóa học đặc hiệu bằng xyanogen bromua, trypsin, chymotrypsin, papain, V8 proteaza, $NaBH_4$, axetyl hóa, formyl hóa, oxi hóa, khử, tổng hợp chuyển hóa khi có mặt của tunicamyxin, v.v..

Nhiều cải biến sau dịch mã cũng được bao gồm bởi sáng chế bao gồm, ví dụ, chuỗi hydrat cacbon liên kết N hoặc liên kết O, xử lý các đầu cùng N hoặc C, gắn các gốc hóa học vào bộ khung axit amin, cải biến hóa học các chuỗi hydrat cacbon liên kết N hoặc liên kết O, và thêm hoặc bớt gốc metionin ở đầu cùng N do biểu hiện tế bào chủ tiền nhân. Hơn nữa, chất điều biến này cũng có thể được cải biến bằng nhãn phát hiện được, như nhãn enzym, nhãn huỳnh quang, nhãn đồng vị phóng xạ hoặc ái lực để cho phép phát hiện và phân lập chất điều biến này.

VII. Các đặc điểm đặc trưng của chất điều biến

Dù thu được bằng cách nào hoặc chất điều biến có dạng nào trong các dạng được đề cập trên đây, nhiều phương án khác nhau của chất điều biến được mô tả có thể biểu hiện một số đặc điểm đặc trưng. Theo các phương án được chọn, tế bào sinh kháng thể (ví dụ, tế bào lai hoặc khuẩn lạc nấm men) có thể được chọn, tách dòng và sàng lọc tiếp về các đặc điểm mong muôn bao gồm, ví dụ, thúc đẩy sự phát triển, sản sinh chất điều biến cao và, như được thảo luận chi tiết hơn dưới đây, các đặc trưng của chất điều biến mong muốn. Trong các trường hợp khác, các đặc điểm của chất điều biến có thể bị tác động hoặc bị ảnh hưởng bởi việc chọn kháng nguyên cụ thể (ví dụ, chất đồng đẳng SEZ6 cụ thể hoặc một đoạn của chúng) hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của kháng nguyên đích để gây miễn dịch cho động vật. Theo các phương án khác nữa chất điều biến chọn lọc có thể được thao tác di truyền như được mô tả trên đây để tăng cường hoặc cải tiến các đặc trưng hóa miễn dịch như ái lực hoặc dược động học.

A. Chất điều biến trung hòa

Theo một số phương án, chất điều biến này bao gồm các kháng thể "trung hòa" hoặc dẫn xuất hoặc đoạn của nó. Tức là, sáng chế có thể bao gồm các phân tử kháng thể liên kết với các vùng chức năng đặc hiệu, motif hoặc epitop và có khả năng phong bế, làm giảm hoặc ức chế hoạt tính sinh học của SEZ6. Phổ biến hơn, thuật ngữ "kháng thể trung hòa" để chỉ kháng thể mà liên kết với hoặc tương tác với phân tử đích hoặc phối tử và ngăn cản sự liên kết hoặc liên hợp của phân tử đích với đối tác liên kết như thụ thể hoặc cơ chất, do đó phá vỡ đáp ứng sinh học do sự tương tác của các phân tử này.

Cần phải hiểu rằng các thử nghiệm liên kết cạnh tranh đã biết trong lĩnh vực này có thể được sử dụng để đánh giá liên kết và tính đặc hiệu của kháng thể hoặc đoạn có chức năng miễn dịch hoặc dẫn xuất của nó. Liên quan đến sáng chế, kháng thể hoặc đoạn được hiểu là ức chế hoặc làm giảm liên kết của SEZ6 với đối tác liên kết hoặc cơ chất (ví dụ, phối tử hướng thần kinh) khi sự thừa kháng thể làm giảm số lượng đối tác liên kết được liên kết với SEZ6 ít nhất khoảng 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% hoặc nhiều hơn như đo được, ví dụ, bằng hoạt tính của phối tử hướng thần kinh bị suy yếu hoặc trong thử nghiệm liên kết cạnh tranh *in vitro.* Trong trường hợp của các kháng thể liên kết với SEZ6 ví dụ, kháng thể trung hòa hoặc chất đối vận tốt hơn, nếu làm thay đổi hoạt tính phối tử ít nhất 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% hoặc nhiều hơn. Cần phải hiểu rằng hoạt tính được cải biến này có thể đo được trực tiếp bằng cách sử dụng các kỹ thuật được thừa nhận trong lĩnh vực này hoặc có thể đo được bằng cách tác động làm thay đổi hoạt tính giảm (ví dụ, sự hoạt hóa sự sống sót của tế bào hoặc con đường phát sinh ung thư).

B. Chất điều biến nội nhập

Mặc dù bằng chứng chỉ ra rằng SEZ6 hoặc các chất đồng đẳng được chọn của chúng có thể có mặt ở dạng hòa tan, ít nhất một số SEZ6 có thể vẫn kết hợp với bề mặt tế bào nhờ đó cho phép nội nhập chất điều biến được mô tả. Do đó, các kháng thể kháng SEZ6 theo sáng chế có thể được nội nhập, ít nhất đến mức độ nào đó, bởi các tế bào biểu hiện SEZ6. Ví dụ, kháng thể kháng SEZ6 mà liên kết với SEZ6 trên bề mặt của tế bào tạo u có thể được nội nhập bởi tế bào tạo u này. Theo các phương án đặc biệt ưu tiên, các kháng thể kháng SEZ6 này có thể được kết hợp với hoặc liên hợp với chất chống ung thư như các gốc gây độc tế bào mà tiêu diệt tế bào khi nội nhập. Theo các phương án đặc biệt ưu tiên, chất điều biến này bao gồm liên hợp thuốc kháng thể nội nhập.

Như được sử dụng ở đây, chất điều biến mà "nội nhập" là chất điều biến mà được hấp thu (với tải lượng bất kỳ) bởi tế bào khi liên kết với một kháng nguyên hoặc thụ thể kết hợp. Như được hiểu là, chất điều biến nội nhập có thể, theo các phương án ưu tiên, bao gồm kháng thể bao gồm các đoạn kháng thể và dẫn xuất của nó, cũng như các thể liên hợp kháng thể. Sự nội nhập có thể xảy ra *in vitro* hoặc *in vivo*. Đối với các ứng dụng điều trị bệnh, tốt hơn sự nội nhập sẽ xảy ra *in vivo* ở đối tượng cần điều trị.

Số lượng các phân tử kháng thể được nội nhập có thể là đủ hoặc thích hợp để tiêu diệt tế bào biểu hiện kháng nguyên, đặc biệt là tế bào gốc ung thư biểu hiện kháng nguyên. Phụ thuộc và khả năng của kháng thể hoặc thể liên hợp kháng thể, trong một số trường hợp, sự hấp thu một phân tử kháng thể vào tế bào là đủ để tiêu diệt tế bào đích mà kháng thể này liên kết vào. Ví dụ, một số độc tố là quá mạnh đến mức sự nội nhập một số ít phân tử của độc tố này kết hợp với kháng thể là đủ để tiêu diệt tế bào khối u. Dù kháng thể có nội nhập khi liên kết với tế bào của động vật có vú hay không, nó có thể được xác định bằng các thử nghiệm khác nhau bao gồm các thử nghiệm được mô tả trong các ví dụ dưới đây (ví dụ, Ví dụ 15, 17 và 18). Các phương pháp phát hiện xem kháng thể có nội nhập vào tế bào hay không cũng được mô tả trong bằng Mỹ số 7,619,068 được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ.

C. Chất điều biến làm tan tế bào

Theo các phương án khác các kháng thể bao gồm các kháng thể làm tiêu hoặc dẫn xuất hoặc đoạn của nó. Thuật ngữ kháng thể "làm tan" để chỉ kháng thể mà tốt hơn liên kết với hoặc liên hợp với kháng nguyên nằm trên hoặc gần bề mặt tế bào và gây cảm ứng, thúc đẩy hoặc gây ra sự chết hoặc loại bỏ tế bào (ví dụ, bằng CDC, ADCC hoặc đưa vào chất gây độc tế bào). Theo một số phương án, các kháng thể làm tan được chọn được liên hợp hoặc kết hợp với chất gây độc tế bào.

Tốt hơn là, kháng thể làm tan tế bào có khả năng loại bỏ, làm mất khả năng, loại trừ hoặc tiêu diệt ít nhất 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, hoặc 99% tế bào tạo u SEZ6 trong quần thể tế bào xác định. Theo một số phương án, quần thể tế bào này có thể bao gồm tế bào duy trì khối u được làm giàu, được cắt, được tinh chế hoặc phân lập. Theo các phương án khác, quần thể tế bào có thể bao gồm các mẫu u nguyên vẹn hoặc phần chiết từ khối u không đồng nhất chứa tế bào duy trì khối u. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này cần phải hiểu rằng các kỹ thuật sinh hóa tiêu chuẩn như được mô tả trong phần Ví dụ dưới đây (ví dụ, Ví dụ 14 và 15) có thể được sử dụng để theo dõi và định lượng tác dụng làm tan tế bào tạo u hoặc tế bào duy trì khối u theo phần mô tả ở đây.

D. Phân nhóm và liên kết epitop

Được hiểu thêm rằng, chất điều biến kháng thể kháng SEZ6 được mô tả sẽ kết hợp, hoặc liên kết với, các epitop hoặc các quyết định sinh miễn dịch riêng biệt được trình diện bởi đích được chọn hoặc đoạn của nó. Theo một số phương án, epitop hoặc

các quyết định sinh miễn dịch bao gồm các nhóm bề mặt hoạt động hóa học của phân tử như axit amin, chuỗi bên của đường, nhóm phosphoryl, hoặc nhóm sulfonyl, và, theo một số phương án, có thể có đặc trưng cấu trúc ba chiều đặc hiệu, và/hoặc các đặc trưng điện tích đặc hiệu. Do đó, như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "epitop" bao gồm quyết định protein bất kỳ có thể liên kết đặc hiệu với globulin miễn dịch hoặc thụ thể tế bào T hoặc theo cách khác tương tác với một phân tử. Theo một số phương án, kháng thể được cho là liên kết đặc hiệu (hoặc liên kết đặc hiệu miễn dịch hoặc phản ứng) với kháng nguyên khi nó nhận biết ưu tiên kháng nguyên đích của nó trong hỗn hợp phức tạp gồm nhiều protein và/hoặc các đại phân tử. Theo các phương án ưu tiên, kháng thể được cho là liên kết đặc hiệu với kháng nguyên khi hằng số phân ly cân bằng (K_D) nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-6}M hoặc nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-7}M, tốt hơn nữa khi hằng số phân ly cân bằng nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-8}M, và còn tốt hơn nữa là khi hằng số phân ly nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-9}M

Trực tiếp hơn, thuật ngữ "epitop" được sử dụng theo nghĩa sinh hóa chung của nó và để chỉ rằng một phần của kháng nguyên đích có thể được nhận diện và được liên kết đặc hiệu bằng chất điều biến kháng thể cụ thể. Nếu kháng nguyên này là polypeptit như SEZ6, các epitop thường có thể được tạo ra từ cả các axit amin liền kề và không liền kề được đặt cạnh nhau do sự gấp bậc ba của protein("các epitop cấu hình"). Trong epitop cấu hình này, các điểm tương tác xảy ra giữa các gốc axit amin trên protein này cách nhau theo đường thẳng. Epitop được tạo ra từ các axit amin liên tục (đôi khi được gọi là epitop "tuyến tính" hoặc "liên tục") thường vẫn được giữ lại khi biến tính protein, trong khi đó epitop được hình thành bởi sự gấp bậc ba thường bị mất khi biến tính protein. Trong bất kỳ trường hợp nào epitop của kháng thể thường bao gồm ít nhất 3, và phổ biến hơn là, ít nhất 5 hoặc 8-10 axit amin trong cấu hình không gian duy nhất.

Về mặt này cần hiểu rằng, theo một số phương án nhất định, epitop có thể được kết hợp, hoặc nằm ở, một hoặc nhiều miền, vùng chức năng hoặc môtip của protein SEZ6 (ví dụ, các axit amin 1 đến 906 của chất đồng đẳng 1 trưởng thành). Như được bàn luận chi tiết hơn ở đây, vùng ngoại bào của protein SEZ6 chứa một chuỗi các vùng chức năng được nhận biết thông thường bao gồm năm vùng chức năng Sushi và hai vùng chức năng CUB cùng với vùng chức năng đầu cùng N. Đối với các mục đích của phần mô tả này, thuật ngữ "vùng chức năng" được sử dụng theo nghĩa được thừa nhận

rộng rãi và cần được hiểu là để chỉ thực thể cấu trúc được bảo tồn có thể xác định được hoặc nhận diện được trong protein mà biểu hiện nội dung cấu trúc bậc hai riêng biệt. Trong nhiều trường hợp, các vùng chức năng tương đồng có các chức năng chung thường sẽ thể hiện sự tương đồng về trình tự và có thể được thấy ở nhiều protein khác nhau (ví dụ, các vùng chức năng Sushi được phát hiện ở số lượng lớn các protein khác nhau). Tương tự, thuật ngữ "môtip" sẽ được sử dụng theo nghĩa phổ biến của nó và thường để chỉ một vùng được bảo tồn ngắn của protein mà thường gồm mười đến hai mươi gốc axit amin liên tục. Như được bàn luận xuyên suốt, các phương án được chọn bao gồm chất điều biến mà kết hợp hoặc liên kết với epitop trong các miền, vùng chức năng hoặc môtip đặc hiệu của SEZ6.

Trong bất kỳ trường hợp nào, khi epitop mong muốn trên kháng nguyên được xác định, có thể tạo ra các kháng thể với epitop đó, ví dụ, bằng cách gây miễn dịch bằng peptit chứa epitop này bằng cách sử dụng các kỹ thuật được mô tả trong sáng chế. Theo cách khác, trong suốt quá trình tìm hiểu, việc tạo ra và xác định đặc trưng của các kháng thể có thể làm sáng tỏ thông tin về các epitop mong muốn nằm trong các vùng chức năng hoặc môtip cụ thể. Từ thông tin này, sau đó có thể sàng lọc cạnh tranh các kháng thể để liên kết với cùng một epitop này. Một phương pháp để đạt được điều này là thực hiện các thử nghiệm cạnh tranh để tìm ra các kháng thể mà liên kết cạnh tranh với một kháng thể khác, tức là các kháng thể cạnh tranh để liên kết với kháng nguyên này. Một quy trình quy mô lớn để phân nhóm các kháng thể dựa vào sự cạnh tranh chéo của chúng được mô tả trong WO 03/48731. Các phương pháp phân nhóm hoặc lập bản đồ mức độ vùng chức năng hoặc epitop bao gồm cạnh tranh chất điều biến hoặc sự biểu hiện phân đoạn kháng nguyên trên nấm men được nêu trong Ví dụ 9 và 10 dưới đây.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "phân nhóm" để chỉ các phương pháp được sử dụng để phân nhóm hoặc phân loại các kháng thể dựa vào các đặc trưng liên kết kháng nguyên và cạnh tranh của chúng. Mặc dù các kỹ thuật này là hữu dụng để xác định và phân loại chất điều biến theo sáng chế, các nhóm này không luôn luôn tương quan trực tiếp với epitop và việc xác định ban đầu liên kết epitop này có thể được cải tiến thêm và xác nhận bằng hệ phương pháp khác đã được thừa nhận trong lĩnh vực này như được mô tả ở đây. Tuy nhiên, như được thảo luận và thể hiện trong phần Ví dụ dưới đây, việc phân chia dựa trên thực nghiệm chất điều biến kháng thể vào mỗi

nhóm riêng cung cấp thông tin cho thấy tiềm năng điều trị bệnh của chất điều biến được mô tả.

Cụ thể hơn, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này có thể xác định xem kháng thể tham chiếu được chọn (hoặc đoạn của nó) liên kết với cùng một epitop hay cạnh tranh chéo để liên kết với kháng thể thử nghiệm thứ hai (tức là, trong cùng lớp này) bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này và được nêu trong phần Ví dụ ở đây. Theo một phương án, chất điều biến kháng thể tham chiếu được kết hợp với kháng nguyên SEZ6 trong các điều kiện bão hòa và sau đó khả năng của chất điều biến kháng thể thử nghiệm hoặc thứ cấp để liên kết với SEZ6 được xác định nhờ sử dụng các kỹ thuật hóa miễn dịch chuẩn. Nếu kháng thể thử nghiệm này có thể gần như là liên kết với SEZ6 cùng lúc với kháng thể kháng SEZ6 đối chứng thì kháng thể thử nghiệm hoặc thứ cấp này liên kết với epitop khác với kháng thể sơ cấp hoặc tham chiếu. Tuy nhiên, nếu kháng thể thử nghiệm không thể gần như là liên kết với SEZ6 một cách đồng thời thì kháng thể thử nghiệm này liên kết vào cùng epitop, epitop chồng lấp, hoặc epitop ở gần (ít nhất về mặt không gian) với epitop được gắn bởi kháng thể sơ cấp này. Tức là, kháng thể thử nghiệm cạnh tranh liên kết với kháng nguyên và trong cùng bin với kháng thể tham chiếu.

Thuật ngữ "cạnh tranh" hoặc "kháng thể cạnh tranh" khi được sử dụng để đề cập đến chất điều biến được mô tả để chỉ sự cạnh tranh giữa các kháng thể như được xác định bởi thử nghiệm, trong đó kháng thể thử nghiệm hoặc đoạn có chức năng miễn dịch đang được thử nghiệm ngăn chặn hoặc ức chế liên kết đặc hiệu của kháng thể tham chiếu với kháng nguyên chung. Thông thường, thử nghiệm này bao gồm sử dụng kháng nguyên tinh chế (ví dụ, SEZ6 hoặc vùng hoặc đoạn của chúng) được gắn vào bề mặt rắn hoặc các tế bào mang chúng, globulin miễn dịch thử nghiệm không được đánh dấu và globulin miễn dịch tham chiếu được đánh dấu. Sự ức chế cạnh tranh được đo bằng cách xác định lượng chất đánh dấu được liên kết với bề mặt rắn hoặc tế bào khi có mặt globulin miễn dịch thử nghiệm. Thông thường globulin miễn dịch thử nghiệm có mặt với lượng dư và/hoặc được cho liên kết trước. Các kháng thể được nhận diện bằng thử nghiệm cạnh tranh (các kháng thể cạnh tranh) bao gồm các kháng thể liên kết với cùng epitop với kháng thể tham chiếu và các kháng thể liên kết với epitop bên cạnh đủ gần epitop được liên kết bởi kháng thể tham chiếu để xảy ra sự cản trở về không gian. Chi tiết hơn về các phương pháp xác định liên kết cạnh tranh được đưa ra

trong phần Ví dụ ở đây. Thông thường khi kháng thể cạnh tranh có mặt với lượng dư, nó sẽ ức chế liên kết đặc hiệu của kháng thể tham chiếu với kháng nguyên chung ít nhất khoảng 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% hoặc 75%. Trong một số trường hợp, liên kết bị ức chế ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 95%, hoặc 97% hoặc nhiều hơn.

Ngược lại, nếu kháng thể tham chiếu được liên kết, tốt hơn là nó ức chế liên kết của kháng thể thử nghiệm được bổ sung sau (tức là, chất điều biến SEZ6) ít nhất 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% hoặc 75%. Trong một số trường hợp, liên kết của kháng thể thử nghiệm bị ức chế ít nhất 80%, 85%, 90%, 95%, hoặc 97% hoặc nhiều hơn.

Liên quan đến sáng chế, và như được nêu trong các Ví dụ 9 và 10 dưới đây, đã xác định được (bằng cộng hưởng plasmon bề mặt hoặc giao thoa kế sinh lớp) rằng vùng chức năng ngoại bào của SEZ6 xác định ít nhất bảy bin nhờ sự liên kết cạnh tranh được gọi là "bin A" đến "bin F" và bin U ở đây.

Về mặt này, và như đã biết trong lĩnh vực này và chi tiết trong phần Ví dụ dưới đây, việc phân nhóm mong muốn hoặc dữ liệu liên kết cạnh tranh có thể thu được nhờ sử dụng thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA) trực tiếp hoặc không trực tiếp pha rắn, thử nghiệm miễn dịch enzym trực tiếp hoặc không trực tiếp pha rắn(EIA hoặc ELISA), thử nghiệm bánh kẹp cạnh tranh, hệ Biacore™ 2000 (tức là, cộng hưởng plasmon bề mặt – GE Healthcare), máy phân tích ForteBio® Analyzer (tức là, đo giao thoa lớp sinh học - ForteBio, Inc.) hoặc đếm tế bào theo dòng chảy. Thuật ngữ "cộng hưởng plasmon bề mặt", như được sử dụng ở đây, để chỉ hiện tượng quang học cho phép phân tích các các tương tác đặc hiệu thời gian thực bằng cách phát hiện sự biến đổi trong nồng độ protein trong nền cảm biến sinh học. Thuật ngữ "đo giao thoa lớp sinh học" để chỉ kỹ thuật phân tích quang học mà phân tích mẫu giao thoa của ánh sáng trắng được phản xạ từ hai bề mặt: lớp protein được cố định trên đầu cảm biến sinh học, và lớp tham chiếu bên trong. Sự biến đổi bất kỳ về số lượng các phân tử được liên kết với đầu cảm biến sinh học này gây ra sự chuyển đổi trong mẫu giao thoa mà có thể đo được theo thời gian thực. Theo các phương án đặc biệt ưu tiên phân tích (cho dù là cộng hưởng plasmon bề mặt, đo giao thoa lớp sinh học hoặc đếm tế bào theo dòng chảy) được thực hiện nhờ sử dụng thiết bị Biacore hoặc ForteBio hoặc máy đếm tế bào theo dòng chảy (ví dụ, FACSAria II) như được chứng minh trong phần ví dụ dưới đây.

Để xác định thêm đặc trưng của các epitop mà chất điều biến kháng thể SEZ6 được mô tả kết hợp hoặc gắn vào đó, việc lập bản đồ epitop mức-vùng chức năng được thực hiện nhờ sử dụng sự cải biến quy trình được mô tả bởi Cochran et al. (J Immunol Methods. 287 (1-2):147-158 (2004) được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Vắn tắt là, các vùng chức năng riêng biệt của SEZ6 chứa các trình tự axit amin đặc hiệu được biểu hiện trên bề mặt của nấm men và liên kết bởi mỗi kháng thể SEZ6 được xác định nhờ phép phân tích tế bào theo dòng. Các kết quả được thảo luận dưới đây trong Ví dụ 10 và được thể hiện trong các Fig. 14A và 14B.

Các kỹ thuật lập bản đồ epitop thích hợp khác bao gồm các thể đột biến quét alanin, điểm peptit (Reineke (2004) Methods Mol Biol 248:443-63) (ở đây được kết hợp cụ thể bằng cách viện dẫn toàn bộ), hoặc phân tích cắt peptit. Ngoài ra, các phương pháp như cắt epitop, chiết epitop và cải biến hóa học kháng nguyên có thể được sử dụng (Tomer (2000) Protein Science 9: 487-496) (ở đây được kết hợp cụ thể bằng cách viện dẫn toàn bộ). Theo các phương án khác, lập thông số hỗ trợ cải biến (Modification-Assisted Profiling-MAP), còn được biết là lập thông số kháng thể dựa trên cấu trúc kháng nguyên (ASAP) đưa ra phương pháp phân loại số lượng lớn kháng thể đơn dòng (mAb) kháng lại cùng một kháng nguyên theo các tương tự về profin liên kết của mỗi kháng thể đối với bề mặt kháng nguyên được cải biến hóa học hoặc bằng enzym (bằng Mỹ số 2004/0101920, ở đây được kết hợp cụ thể bằng cách viện dẫn toàn bộ). Mỗi hệ thống phân loại có thể phản ánh một epitop duy nhất khác biệt rõ ràng với hoặc chồng lấp một phần với epitop được thể hiện bởi hệ phân loại khác. Kỹ thuật này cho phép lọc nhanh các kháng thể giống nhau về mặt di truyền, sao cho việc xác định đặc trưng có thể được tập trung vào các kháng thể khác biệt về mặt di truyền. Sẽ hiểu rằng MAP có thể được sử dụng để phân loại chất điều biến kháng thể hSEZ6 theo sáng chế thành các nhóm kháng thể liên kết với các epitop khác nhau.

Các chất hữu ích để làm thay đổi cấu trúc của kháng nguyên được cố định bao gồm enzym như enzym thủy phân protein (ví dụ, trypsin, endoproteinaza Glu-C, endoproteinaza Asp-N, chymotrypsin, v.v..). Các chất hữu ích để làm thay đổi cấu trúc của kháng nguyên được cố định còn có thể là chất hóa học, như, sucxinimidyl este và dẫn xuất của chúng, các hợp chất chứa amin bậc một, hydrazin và carbohydrazin, axit amin tự do, v.v..

Protein kháng nguyên có thể được cố định trên bề mặt các chip cảm biến sinh học hoặc các hạt polystyren. Trường hợp sau có thể được xử lý bằng, ví dụ, thử nghiệm như thử nghiệm thăm dò nhiều thành phần LUMINEX™ (Luminex Corp.). Bởi vì LUMINEX có khả năng xử lý nhiều phân tích đến 100 loại hạt khác nhau, LUMINEX cung cấp hầu hết các bề mặt kháng nguyên không giới hạn với nhiều cải biến khác nhau, dẫn đến tăng độ phân giải trong thông số epitop của kháng thể so với thử nghiệm cảm biến sinh học.

E. Các đặc trưng liên kết của chất điều biến

Ngoài tính đặc hiệu epitop, các kháng thể được mô tả có thể được xác định đặc trưng nhờ sử dụng các đặc tính vật lý như, ví dụ, ái lực liên kết. Về mặt này sáng chế còn bao gồm thêm việc sử dụng các kháng thể mà có ái lực liên kết cao đối với một hoặc nhiều chất đồng đẳng SEZ6 hoặc, trong trường hợp các kháng thể pan, nhiều hơn một thành viên thuộc họ SEZ6.

Thuật ngữ "K_D", như được sử dụng ở đây, để chỉ hằng số phân ly của tương tác kháng thể-kháng nguyên cụ thể. Kháng thể theo sáng chế được cho là liên kết đặc hiệu miễn dịch với kháng nguyên đích của nó khi hằng số phân ly K_D ($k_{đóng}/k_{mở}$) là $\leq 10^{-7}$M. Kháng thể liên kết đặc hiệu với kháng nguyên với ái lực cao khi $K_D \leq 5x10^{-9}$M, và có ái lực rất cao khi $K_D \leq 5x10^{-10}$M. Theo một phương án của sáng chế, kháng thể này có $K_D \leq 10^{-9}$M và tốc độ phân ly khoảng $1x10^{-4}$/giây. Theo một phương án của sáng chế, tốc độ phân ly này là $< 1x10^{-5}$/giây. Theo các phương án khác của sáng chế, các kháng thể này sẽ liên kết với SEZ6 với K_D nằm trong khoảng từ 10^{-7}M đến 10^{-10}M, và theo một phương án khác nữa nó sẽ liên kết với $K_D \leq 2x10^{-10}$M. Các phương án được chọn khác nữa của sáng chế bao gồm các kháng thể mà có hằng số phân ly hoặc K_D ($k_{đóng}/k_{mở}$) nhỏ hơn 10^{-2}M, nhỏ hơn $5x10^{-2}$M, nhỏ hơn 10^{-3}M, nhỏ hơn $5x10^{-3}$M, nhỏ hơn 10^{-4}M, nhỏ hơn $5x10^{-4}$M, nhỏ hơn 10^{-5}M, nhỏ hơn $5x10^{-5}$M, nhỏ hơn 10^{-6}M, nhỏ hơn $5x10^{-6}$M, nhỏ hơn 10^{-7}M, nhỏ hơn $5x10^{-7}$M, nhỏ hơn 10^{-8}M, nhỏ hơn $5x10^{-8}$M, nhỏ hơn 10^{-9}M, nhỏ hơn $5x10^{-9}$M, nhỏ hơn 10^{-10}M, nhỏ hơn $5x10^{-10}$M, nhỏ hơn 10^{-11}M, nhỏ hơn $5x10^{-11}$M, nhỏ hơn 10^{-12}M, nhỏ hơn $5x10^{-12}$M, nhỏ hơn 10^{-13}M, nhỏ hơn $5x10^{-13}$M, nhỏ hơn 10^{-14}M, nhỏ hơn $5x10^{-14}$M, nhỏ hơn 10^{-15}M hoặc nhỏ hơn $5x10^{-15}$M.

Theo các phương án cụ thể, kháng thể theo sáng chế mà liên kết đặc hiệu miễn dịch với SEZ6 có hằng số tốc độ kết hợp hoặc tốc độ $k_{mở}$ (hoặc k_a) (SEZ6 (Ab) + kháng

nguyên $(Ag)^{k_{mở}}$←Ab-Ag) ít nhất là $10^5M^{-1}s^{-1}$, ít nhất $2x10^5M^{-1}s^{-1}$, ít nhất $5x10^5M^{-1}s^{-1}$, ít nhất $10^6M^{-1}s^{-1}$, ít nhất $5x10^6M^{-1}s^{-1}$, ít nhất $10^7M^{-1}s^{-1}$, ít nhất $5x10^7M^{-1}s^{-1}$, hoặc ít nhất $10^8M^{-1}s^{-1}$.

Theo một phương án khác, kháng thể theo sáng chế mà liên kết đặc hiệu miễn dịch với SEZ6 có hằng số tốc độ phân ly hoặc tốc độ $k_{đóng}$ (hoặc $k_{d)}$ (SEZ6 (Ab) + kháng nguyên $(Ag)^{k_{đóng}}$←Ab-Ag) là nhỏ hơn $10^{-1}s^{-1}$, nhỏ hơn $5x10^{-1}s^{-1}$, nhỏ hơn $10^{-2}s^{-1}$, nhỏ hơn $5x10^{-2}s^{-1}$, nhỏ hơn $10^{-3}s^{-1}$, nhỏ hơn $5x10^{-3}s^{-1}$, nhỏ hơn $10^{-4}s^{-1}$, nhỏ hơn $5x10^{-4}s^{-1}$, nhỏ hơn $10^{-5}s^{-1}$, nhỏ hơn $5x10^{-5}s^{-1}$, nhỏ hơn $10^{-6}s^{-1}$, nhỏ hơn $5x10^{-6}s^{-1}$ nhỏ hơn $10^{-7}s^{-1}$, nhỏ hơn $5x10^{-7}s^{-1}$, nhỏ hơn $10^{-8}s^{-1}$, nhỏ hơn $5x10^{-8}s^{-1}$, nhỏ hơn $10^{-9}s^{-1}$, nhỏ hơn $5x10^{-9}s^{-1}$ hoặc nhỏ hơn $10^{-10}s^{-1}$.

Theo các phương án được chọn khác của sáng chế, các kháng thể kháng SEZ6 sẽ có hằng số ái lực hoặc K_a ($k_{mở}/k_{đóng}$) ít nhất là 10^2M^{-1}, ít nhất $5x10^2M^{-1}$, ít nhất 10^3M^{-1}, ít nhất $5x10^3M^{-1}$, ít nhất 10^4M^{-1}, ít nhất $5x10^4M^{-1}$, ít nhất 10^5M^{-1}, ít nhất $5x10^5M^{-1}$, ít nhất 10^6M^{-1}, ít nhất $5x10^6M^{-1}$, ít nhất 10^7M^{-1}, ít nhất $5x10^7M^{-1}$, ít nhất 10^8M^{-1}, ít nhất $5x10^8M^{-1}$, ít nhất 10^9M^{-1}, ít nhất $5x10^9M^{-1}$, ít nhất $10^{10}M^{-1}$, ít nhất $5x10^{10}M^{-1}$, ít nhất $10^{11}M^{-1}$, ít nhất $5x10^{11}M^{-1}$, ít nhất $10^{12}M^{-1}$, ít nhất $5x10^{12}M^{-1}$, ít nhất $10^{13}M^{-1}$, ít nhất $5x10^{13}M^{-1}$, ít nhất $10^{14}M^{-1}$, ít nhất $5x10^{14}M^{-1}$, ít nhất $10^{15}M^{-1}$ hoặc ít nhất $5x10^{15}M^{-1}$.

Ngoài các đặc trưng của chất điều biến nói trên, các kháng thể theo sáng chế có thể còn có thể được xác định đặc trưng nhờ sử dụng các đặc tính vật lý bổ sung bao gồm, ví dụ, độ ổn định nhiệt (tức là, nhiệt độ nóng chảy; Tm), và điểm đẳng điện. (Xem, ví dụ, Bjellqvist et al., 1993, Electrophoresis 14:1023; Vermeer et al., 2000, Biophys. J. 78:394-404; Vermeer et al., 2000, Biophys. J. 79: 2150-2154 mỗi tài liệu này được đưa vào đây bằng các viện dẫn).

VIII. Chất điều biến liên hợp

A. Tổng quan

Khi chất điều biến theo sáng chế được tạo ra và/hoặc được bào chế và được chọn theo phần mô tả ở đây, chúng có thể được liên kết với, được dung hợp với, kết hợp với (ví dụ, cộng hóa trị hoặc không cộng hóa trị) hoặc theo cách khác được liên hợp với các gốc dược tính hoặc các gốc chẩn đoán hoặc chất cải biến tương thích sinh học. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "liên hợp" hoặc "liên hợp chất điều biến" hoặc "liên hợp kháng thể" được sử dụng rộng rãi và được hiểu là để chỉ phân tử hoặc

thuốc có hoạt tính sinh học hoặc có thể phát hiện được bất kỳ được liên hợp với chất điều biến được mô tả bất kể phương pháp tạo ra liên hợp. Về vấn đề này, cần phải hiểu rằng các thể liên hợp này có thể, ngoài chất điều biến được mô tả, bao gồm các peptit, các polypeptit, các protein, các tiền dược chất được chuyển hóa thành các chất hoạt động *in vivo*, polyme, các phân tử axit nucleic, các phân tử nhỏ, các tác nhân liên kết, các chất bắt chước, các dược chất tổng hợp, phân tử vô cơ, phân tử hữu cơ và chất đồng vị phóng xạ. Hơn nữa, như được nêu trên, thể liên hợp chọn lọc có thể được liên hợp cộng hóa trị hoặc không cộng hóa trị với, liên kết với chất điều biến này và thể hiện các hệ số mol theo tỷ lệ mol hóa lượng pháp khác nhau phụ thuộc, ít nhất một phần, vào phương pháp được sử dụng để thực hiện liên hợp này.

Các khía cạnh đặc biệt ưu tiên của sáng chế bao gồm các thể liên hợp chất điều biến kháng thể hoặc các thể liên hợp dược chất-kháng thể mà có thể được sử dụng để chẩn đoán và/hoặc điều trị các rối loạn tăng sinh. Cần phải hiểu rằng, trừ khi được quy định khác theo ngữ cảnh, thuật ngữ "liên hợp kháng thể-dược chất" hoặc "ADC" hoặc công thức M-[L-D]n được hiểu là bao gồm các thể liên hợp chứa cả gốc điều trị và chẩn đoán bệnh. Theo các phương án này, các hợp chất liên hợp kháng thể-dược chất sẽ chứa chất điều biến SEZ6 (thường là kháng thể kháng SEZ6) làm chất điều biến hoặc đơn vị liên kết tế bào (được viết tắt là CBA, M, hoặc Ab ở đây), các gốc điều trị bệnh (ví dụ, chất chống ung thư) hoặc gốc chẩn đoán (D), và tùy ý cầu liên kết (L) mà nối dược chất này và chất liên kết kháng nguyên. Với các mục đích của phần mô tả này "n" sẽ được hiểu là số nguyên từ 1 đến 20. Theo phương án được ưu tiên, chất điều biến là mAb SEZ6 chứa ít nhất một CDR từ các vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được mô tả nêu trên.

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này cần phải hiểu rằng nhiều phản ứng khác nhau là sẵn có để gắn hoặc kết hợp các gốc điều trị bệnh hoặc các gốc chẩn đoán và/hoặc các cầu liên kết với chất liên kết. Theo các phương án chọn lọc, điều này có thể được thực hiện bằng phản ứng của các gốc axit amin của chất liên kết, ví dụ, phân tử kháng thể, bao gồm nhóm amin của lysin, nhóm axit carboxylic tự do của axit glutamic và axit aspartic, nhóm sulfhydryl của xystein và các gốc khác của axit amin thơm. Một trong các phương pháp liên kết cộng hóa trị không đặc hiệu được sử dụng phổ biến nhất bao gồm phản ứng carbodiimit để nối nhóm carboxyl (hoặc amino) của một hợp chất với nhóm amino (hoặc carboxyl) của kháng thể này. Ngoài ra, các chất

hai nhó chức như dialdehyt hoặc imidoeste đã được sử dụng để nối nhóm amino của một hợp chất với các nhóm amino của phân tử kháng thể. Cũng có sẵn để liên kết dược chất với chất liên kết là phản ứng bazơ Schiff. Phương pháp này bao gồm oxi hóa periodat của dược chất mà chứa các nhóm glycol hoặc hydroxy, do đó tạo ra aldehyt, mà sau đó được cho phản ứng với chất liên kết. Sự liên kết xảy ra thông qua sự hình thành bazơ Schiff với các nhóm amino của chất liên kết này. Isothioxyanat và azlacton cũng có thể được sử dụng làm chất tạo cặp để gắn cộng hóa trị dược chất với chất liên kết.

Theo các phương án khác chất điều biến được mô tả theo sáng chế có thể được kết hợp hoặc được liên hợp với các protein, các polypeptit hoặc các peptit mà cung cấp các đặc trưng được chọn (ví dụ, độc tố sinh học, chất đánh dấu sinh học, nhãn tinh chế, v.v..). Theo một số phương án ưu tiên, sáng chế bao gồm việc sử dụng chất điều biến hoặc đoạn của nó được dung hợp tái tổ hợp hoặc được liên hợp hóa học (bao gồm cả các thể liên hợp cộng hóa trị và các thể liên hợp không cộng hóa trị) với protein hoặc peptit khác loại, trong đó protein hoặc peptit này chứa ít nhất 10, ít nhất 20, ít nhất 30, ít nhất 40, ít nhất 50, ít nhất 60, ít nhất 70, ít nhất 80, ít nhất 90 hoặc ít nhất 100 axit amin. Các cấu trúc này không cần thiết phải được liên kết trực tiếp, mà có thể xảy ra qua các trình tự axit amin cầu liên kết. Ví dụ, các kháng thể có thể được sử dụng để hướng đích các polypeptit khác loại vào các loại tế bào cụ thể biểu hiện SEZ6, cả *in vitro* hoặc *in vivo*, bằng cách dung hợp hoặc liên hợp chất điều biến theo sáng chế với các kháng thể đặc hiệu đối với các thụ thể trên bề mặt tế bào cụ thể để tạo ra các cấu trúc đặc hiệu kép. Hơn nữa, chất điều biến được dung hợp hoặc kết hợp với các polypeptit khác loại cũng có thể được sử dụng trong các thử nghiệm miễn dịch *in vitro* và có thể đặc biệt phù hợp với các hệ phương pháp tinh chế (ví dụ, các đuôi his) như đã biết trong lĩnh vực này. Xem ví dụ, Công bố đơn quốc tế số WO 93/21232; Patent châu Âu số EP 439,095; Naramura et al., 1994, Immunol. Lett. 39:91-99; Bằng Mỹ số. 5,474,981; Gillies et al., 1992, PNAS 89:1428-1432; và Fell et al., 1991, J. Immunol. 146:2446-2452.

B. Các cầu liên kết

Ngoài các cầu liên kết hoặc đệm peptit nêu trên, cần phải hiểu rằng một số dạng hoặc loại cầu liên kết khác có thể được sử dụng để liên hợp chất điều biến được mô tả với các gốc hoạt dược hoặc các gốc chẩn đoán hoặc chất cải biến tương thích sinh học.

Theo một số phương án, cầu liên kết này có thể cắt được trong các điều kiện bên nội bào, sao cho sự cắt cầu liên kết giải phóng đơn vị thuốc từ kháng thể trong môi trường trong tế bào. Theo các phương án khác nữa, đơn vị cầu liên kết này không thể cắt được và dược chất được giải phóng, ví dụ, do sự phân hủy của kháng thể.

Các cầu liên kết của ADC tốt hơn là ổn định ngoại bào, ngăn cản sự kết tụ các phân tử ADC và giữ cho ADC hòa tan tự do trong môi trường nước và ở trạng thái đơn phân. Trước khi vận chuyển hoặc phân phối vào tế bào, liên hợp kháng thể-dược chất (ADC) tốt hơn là ổn định và vẫn nguyên vẹn, tức là kháng thể vẫn được liên kết với gốc thuốc. Các cầu liên kết này là ổn định bên ngoài tế bào đích và có thể được cắt với một tỷ lệ hiệu dụng nào đó bên trong tế bào này. Cầu liên kết hữu hiệu sẽ: (i) duy trì các đặc tính liên kết đặc hiệu của kháng thể; (ii) cho phép phân phối nội bào thể liên hợp hoặc gốc dược chất; (iii) vẫn ổn định và nguyên vẹn, tức là không bị cắt, cho đến khi thể liên hợp được phân phối hoặc được vận chuyển vào vị trí đích của nó; và (iv) duy trì tác dụng gây độc tế bào, diệt tế bào hoặc tác dụng kìm tế bào của gốc dược chất PBD. Độ ổn định của ADC này có thể được đo bằng các kỹ thuật phân tích chuẩn như khối phổ, HPLC, và kỹ thuật tách/phân tích LC/MS. Sự liên kết cộng hóa trị của kháng thể và gốc dược chất đòi hỏi cầu nói phải có hai nhóm chức phản ứng, tức là hóa trị hai theo nghĩa phản ứng. Các chất phản ứng cầu liên kết hóa trị hai hữu dụng để liên kết hai hoặc nhiều gốc chức năng hoặc có hoạt tính sinh học, như các peptit, các axit nucleic, dược chất, độc tố, các kháng thể, hapten, và các nhóm chỉ thị đã biết, và các phương pháp đã được mô tả về khả năng tạo ra các thể liên hợp của chúng (Hermanson, G.T. (1996) Bioconjugate Technologies; Academic Press: New York, p 234-242).

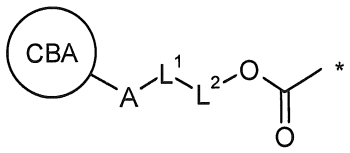
Cuối cùng, một số phương án theo sáng chế bao gồm việc sử dụng cầu liên kết mà có thể cắt được bằng tác nhân cắt có mặt trong môi trường nội bào (ví dụ, trong lysosom hoặc thể nội bào hoặc hốc). Cầu liên kết này có thể là, ví dụ, cầu liên kết peptit mà được cắt bởi peptidaza nội bào hoặc enzym proteaza, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, proteaza lysosom hoặc endosom. Theo một số phương án, cầu liên kết peptit này dài ít nhất hai axit amin hoặc ít nhất ba axit amin. Các tác nhân cắt có thể bao gồm cathepsin B và D và plasmin, mỗi tác nhân này được biết là thủy phân dẫn xuất dược chất dipeptit dẫn đến sự giải phóng dược chất hoạt tính bên trong tế bào đích. Ví dụ về các cầu liên kết peptit mà có thể cắt được bằng proteaza phụ thuộc thiol

Cathepsin-B là các peptit chứa Phe-Leu do Cathepsin-B đã được phát hiện là được biểu hiện cao trong mô ung thư. Ví dụ khác về các cầu liên kết này được mô tả, ví dụ, trong bằng Mỹ số 6.214.345 và bằng Mỹ số 2012/0078028 mỗi tài liệu được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ. Theo phương án ưu tiên đặc biệt, cầu liên kết peptit có thể cắt được bằng proteaza nội bào là cầu liên kết Val-Cit, cầu liên kết Ala-Val hoặc cầu liên kết Phe-Lys như được mô tả trong bằng Mỹ số 6.214.345. Lợi thế của việc sử dụng phản ứng giải phóng chất điều trị bệnh bằng cách thủy phân protein nội bào là ở chỗ chất này thường bị nhược độc khi được liên hợp và độ ổn định trong huyết thanh của các thể liên hợp này thường cao.

Theo các phương án khác, cầu liên kết có thể cắt được này nhạy với độ pH, tức là, nhạy với sự thủy phân ở một số trị số độ pH. Thông thường, cầu liên kết nhạy với độ pH có thể thủy phân trong các điều kiện axit. Ví dụ, cầu liên kết không bền với axit có thể bị thủy phân trong lysosom (ví dụ, hydrazon, oxim, semicarbazon, thiosemicarbazon, cis-aconitic amit, orthoeste, axetal, ketal, hoặc tương tự) có thể được sử dụng (Xem, ví dụ, bằng Mỹ số 5,122,368; 5,824,805; 5,622,929). Các cầu liên kết này tương đối ổn định trong các điều kiện độ pH trung tính, như các điều kiện trong máu, nhưng không ổn định ở độ pH thấp 5,5 hoặc 5,0, độ pH xấp xỉ của lysosom.

Theo các phương án khác nữa, cầu liên kết này có thể cắt được trong các điều kiện khử (ví dụ, cầu liên kết disulfua). Nhiều loại cầu liên kết disulfua khác nhau đã biết trong lĩnh vực này, bao gồm, ví dụ, các cầu liên kết có thể được tạo ra nhờ sử dụng SATA (N-sucxinimidyl-S-axetylthioaxetat), SPDP (N-sucxinimidyl-3-(2-pyridyldithio)propionat), SPDB (N-sucxinimidyl-3-(2-pyridyldithio) butyrat) và SMPT (N-sucxinimidyl-oxycarbonyl-alpha-metyl-alpha-(2-pyridyl-dithio)toluen). Theo các phương án cụ thể khác nữa, cầu liên kết này là cầu liên kết malonat (Johnson et al., 1995, *Anticancer Res.* 15:1387-93), cầu liên kết maleimidobenzoyl (Lau et al., 1995, *Bioorg-Med-Chem.* 3(10):1299-1304), hoặc hợp chất tương tự 3-N-amit (Lau et al., 1995, *Bioorg-Med-Chem.* 3(10):1305-12). Theo các phương án khác nữa, đơn vị cầu liên kết này không cắt được và dược chất được giải phóng bằng cách phân hủy kháng thể. (Xem Công bố đơn yêu cầu cấp bằng Mỹ số 2005/0238649 được kết hợp bằng cách viện dẫn ở đây toàn bộ và cho tất cả các mục đích).

Cụ thể hơn, theo các phương án ưu tiên (nêu trong bằng Mỹ số 2011/0256157 được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ) các cầu liên kết thích hợp bao gồm:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm liên kết với chất gây độc tế bào, CBA chất liên kết tế bào/chất điều biến, L^1 là cầu liên kết, A là cầu liên kết nối L^1 với chất liên kết tế bào, L^2 là liên kết cộng hóa trị hoặc cùng với -OC(=O)- tạo ra cầu liên kết tự phân, và L^1 hoặc L^2 là cầu liên kết phân cắt được.

L^1 tốt hơn là cầu liên kết có thể cắt được, và có thể được gọi là yếu tố kích hoạt để hoạt hóa cầu liên kết để cắt.

Bản chất của L^1 và L^2, nếu có mặt, có thể thay đổi nhiều. Các nhóm này được chọn dựa trên cơ sở các đặc điểm phân cắt của chúng, các đặc điểm này có thể phụ thuộc vào các ở các vị trí mà thể liên hợp được phân phối. Các cầu liên kết mà được cắt bởi tác dụng của enzym được ưu tiên hơn, mặc dù các cầu liên kết phân cắt được bằng sự thay đổi độ pH (ví dụ, không bền với axit hoặc bazơ), nhiệt độ hoặc khi chiếu xạ (ví dụ không bền với ánh sáng) cũng có thể được sử dụng. Các cầu liên kết mà có thể cắt được trong các điều kiện khử hoặc oxi hóa cũng có thể được sử dụng trong sáng chế.

L^1 có thể bao gồm trình tự axit amin liên tiếp. Trình tự axit amin này có thể là cơ chất đích cho sự phân cắt bằng enzym, do đó cho phép giải phóng R^{10} từ vị trí N10.

Theo một phương án, L^1 có thể cắt được nhờ tác dụng của enzym. Theo một phương án, enzym là esteaza hoặc peptidaza.

Theo một phương án, L^2 có mặt và cùng với-C(=O)O- tạo ra cầu liên kết tự phân. Theo một phương án, L^2 là cơ chất cho hoạt tính enzym, do đó cho phép giải phóng R^{10} từ vị trí N10.

Theo một phương án, khi L^1 có thể cắt nhờ tác dụng của enzym và L^2 có mặt, enzym này cắt liên kết giữa L^1 và L^2.

L^1 và L^2, khi có mặt, có thể được nối bằng liên kết được chọn từ:

-C(=O)NH-, -C(=O)O-, -NHC(=O)-, -OC(=O)-, -OC(=O)O-, -NHC(=O)O-, -OC(=O)NH-, và -NHC(=O)NH-.

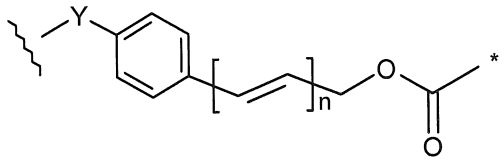
Nhóm amino của L^1 mà nối với L^2 có thể là đầu cùng N của axit amin hoặc có thể thu được từ nhóm amino của chuỗi bên của axit amin, ví dụ chuỗi bên của axit amin lysin.

Nhóm carboxyl của L^1 mà nối với L^2 có thể là đầu cùng C của axit amin hoặc có thể thu được từ nhóm carboxyl của chuỗi bên của axit amin, ví dụ chuỗi bên của axit amin axit glutamic.

Nhóm hydroxyl của L^1 mà nối với L^2 có thể thu được từ nhóm hydroxyl của chuỗi bên của axit amin, ví dụ chuỗi bên của axit amin serin.

Thuật ngữ "chuỗi bên của axit amin" bao gồm các nhóm được tìm thấy trong: (i) axit amin có trong tự nhiên như alanin, arginin, asparagin, axit aspartic, xystein, glutamin, axit glutamic, glyxin, histidin, isoleuxin, leuxin, lysin, metionin, phenylalanin, prolin, serin, treonin, tryptophan, tyrosin, và valin; (ii) axit amin không thiết yếu như ornithin và xitrulin; (iii) axit amin không tự nhiên, beta-axit amin, chất tương tự tổng hợp và dẫn xuất của axit amin có trong tự nhiên; và (iv) tất cả chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang, các hợp chất được làm giàu đồng phân, chất được đánh dấu đồng vị (ví dụ ^2H, ^3H, ^{14}C, ^{15}N), các dạng được bảo vệ, và hỗn hợp raxemic của nó.

Theo một phương án, -C(=O)O- và L^2 cùng nhau tạo ra nhóm:



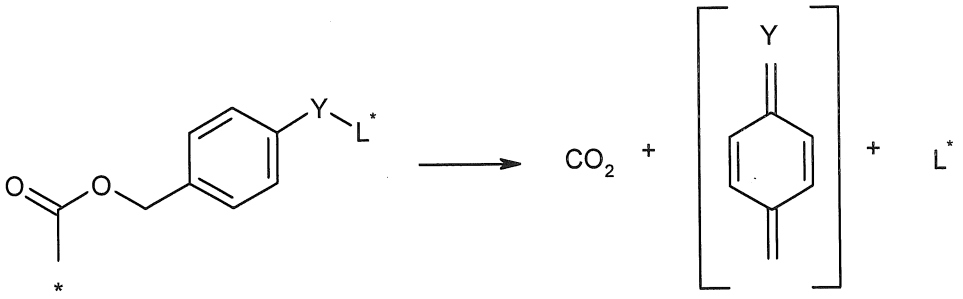
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm liên kết với dược chất hoặc vị trí của chất gây độc tế bào, đường lượn sóng biểu thị điểm liên kết với cầu liên kết L^1, Y là -N(H)-, -O-, -C(=O)N(H)- hoặc -C(=O)O-, và n là 0 đến 3. Vòng phenylen tùy ý được thế bởi một, hai hoặc ba phần tử thế như được mô tả ở đây. Theo một phương án, nhóm phenylen này tùy ý được thế bởi halo, NO_2, R hoặc OR.

Theo một phương án, Y là NH.

Theo một phương án, n là 0 hoặc 1. Tốt hơn, n là 0.

Trong đó Y là NH và n là 0, cầu liên kết tự phân này có thể được đề cập là cầu liên kết p-aminobenzylcarbonyl (PABC).

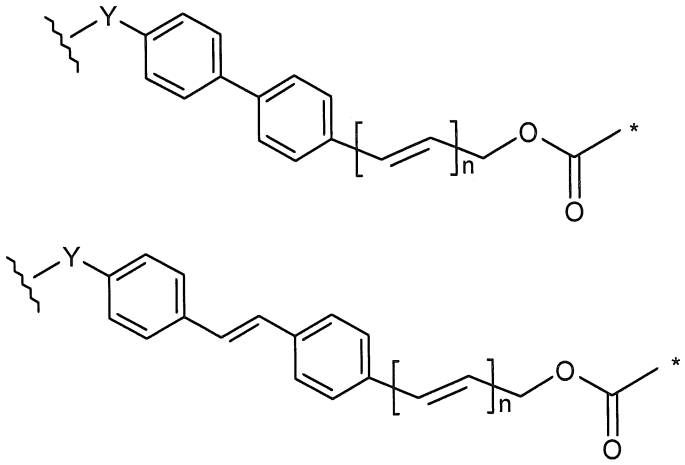
Cầu liên kết tự phân này sẽ cho phép giải phóng hợp chất được bảo vệ khi vị trí ở xa được kích hoạt, xảy ra theo các đường được thể hiện dưới đây (đối với n=0):



trong đó L^* là dạng được hoạt hóa của phần còn lại của cầu liên kết này. Các nhóm này có ưu điểm là tách vị trí hoạt hóa khỏi hợp chất đang được bảo vệ. Như được mô tả trên đây, nhóm phenylen có thể tùy ý được thế.

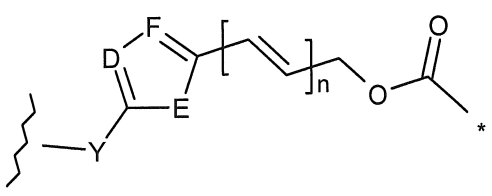
Theo một phương án được mô tả ở đây, nhóm L^* là cầu liên kết L^1 như được mô tả ở đây, có thể bao gồm nhóm đipeptit.

Theo phương án khác, -C(=O)O- và L^2 cùng nhau tạo ra nhóm được chọn từ:



trong đó dấu hoa thị, đường lượn sóng, Y, và n là như được xác định trên đây. Mỗi vòng phenylen tùy ý được thế bởi một, hai hoặc ba phần tử thế như được mô tả ở đây. Theo một phương án, vòng phenylen có phần tử thế Y tùy ý được thế và vòng phenylen không có phần tử thế Y không được thế. Theo một phương án, vòng phenylen có phần tử thế Y không được thế và vòng phenylen không có phần tử thế Y tùy ý được thế.

Theo phương án khác, -C(=O)O- và L^2 cùng nhau tạo ra nhóm được chọn từ:



trong đó dấu hoa thị, đường lượn sóng, Y, và n là như được xác định trên đây, E là O, S hoặc NR, D là N, CH, hoặc CR, và F là N, CH, hoặc CR.

Theo một phương án, D là N.

Theo một phương án, D là CH.

Theo một phương án, E là O hoặc S.

Theo một phương án, F là CH.

Theo phương án ưu tiên, cầu liên kết là cầu liên kết không bền với cathepsin.

Theo một phương án, L^1 bao gồm đipeptit. Đipeptit có là -NH-X_1-X_2-CO-, trong đó -NH- và -CO- lần lượt là các đầu cùng N và C của các nhóm axit amin X_1 và X_2. Axit amin trong đipeptit có thể là tổ hợp bất kỳ của các axit amin tự nhiên. Khi cầu liên kết này là cầu liên kết không bền với cathepsin, đipeptit này có thể là vị trí tác dụng để cắt qua trung gian cathepsin.

Ngoài ra, đối với các nhóm axit amin có chức năng chuỗi bên carboxyl hoặc amino, ví dụ Glu và Lys tương ứng, CO và NH có thể thể hiện chức năng chuỗi bên đó.

Theo một phương án, nhóm -X_1-X_2- trong đipeptit, -NH-X_1-X_2-CO-, được chọn từ:

-Phe-Lys-, -Val-Ala-, -Val-Lys-, -Ala-Lys-, -Val-Cit-, -Phe-Cit-, -Leu-Cit-, -Ile-Cit-, -Phe-Arg- và -Trp-Cit- trong đó Cit là xitrulin.

Tốt hơn, nhóm -X_1-X_2- trong đipeptit, -NH-X_1-X_2-CO-, được chọn từ:

-Phe-Lys-, -Val-Ala-, -Val-Lys-, -Ala-Lys-, và -Val-Cit-.Tốt nhất là, nhóm -X_1-X_2- trong đipeptit, -NH-X_1-X_2-CO-, là -Phe-Lys- hoặc -Val-Ala-.

Các tổ hợp đipeptit khác có thể được sử dụng, bao gồm các tổ hợp được mô tả bởi Dubowchik *et al.*, *Bioconjugate Chemistry*, 2002, 13,855-869, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Theo một phương án, chuỗi bên của axit amin này được tạo dẫn xuất, khi thích hợp. Ví dụ, nhóm amino hoặc nhóm carboxyl của chuỗi bên axit amin có thể được tạo dẫn xuất.

Theo một phương án, nhóm amino NH_2 của axit amin chuỗi bên, như lysin, là dạng được tạo dẫn xuất được chọn từ nhóm bao gồm NHR và NRR'.

Theo một phương án, nhóm carboxyl COOH của axit amin chuỗi bên, như axit aspartic, là dạng được tạo dẫn xuất được chọn từ nhóm bao gồm COOR, $CONH_2$, CONHR và CONRR'.

Theo một phương án, chuỗi bên axit amin được bảo vệ hóa học, khi thích hợp. Nhóm bảo vệ chuỗi bên có thể là nhóm như được thảo luận dưới đây liên quan đến nhóm R^L. Các trình tự axit amin được bảo vệ có thể được cắt bằng enzym. Ví dụ, đã được chứng minh là trình tự đipeptit chứa gốc Lys của chuỗi bên được bảo vệ Boc có thể cắt được bằng cathepsin.

Các nhóm bảo vệ cho chuỗi bên của axit amin là đã biết rõ trong lĩnh vực này và được mô tả trong Novabiochem Catalog. Chiến lược nhóm bảo vệ bổ sung được đưa ra trong ấn phẩm Protective Groups in Organic Synthesis, Greene and Wuts.

Các nhóm bảo vệ chuỗi bên tiềm năng như được thể hiện dưới đây cho các axit amin có nhóm chức chuỗi bên phản ứng:

Arg: Z, Mtr, Tos;

Asn: Trt, Xan;

Asp: Bzl, t-Bu;

Cys: Acm, Bzl, Bzl-OMe, Bzl-Me, Trt;

Glu: Bzl, t-Bu;

Gln: Trt, Xan;

His: Boc, Dnp, Tos, Trt;

Lys: Boc, Z-Cl, Fmoc, Z, Alloc;

Ser: Bzl, TBDMS, TBDPS;

Thr: Bz;

Trp: Boc;

Tyr: Bzl, Z, Z-Br.

Theo một phương án, nhóm bảo vệ chuỗi bên được chọn là trực giao với nhóm được đề xuất là, hoặc là một phần của, nhóm gắn mũ, khi có mặt. Do đó, việc loại bỏ nhóm bảo vệ chuỗi bên không loại bỏ nhóm gắn mũ, hoặc nhóm chức bảo vệ bất kỳ mà là một phần của nhóm gắn mũ.

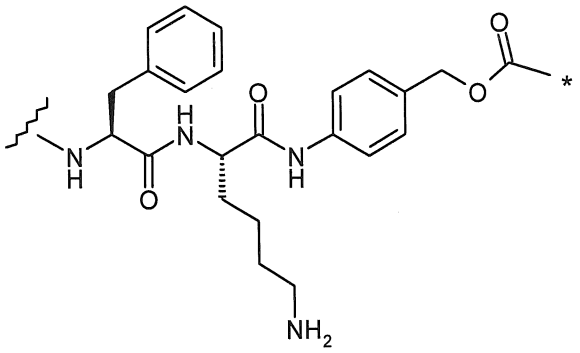
Theo các phương án khác của sáng chế, các axit amin được chọn là các axit amin không có nhóm chức chuỗi bên phản ứng. Ví dụ, axit amin có thể được chọn từ: Ala, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, và Val.

Theo một phương án, đipeptit được sử dụng kết hợp với cầu liên kết tự phân. Cầu liên kết tự phân này có thể được nối vào -X_2-.

Khi cầu liên kết tự phân có mặt, -X_2- được nối trực tiếp với cầu liên kết tự phân. Tốt hơn, nếu nhóm -X_2-CO- được nối với Y, trong đó Y là NH, do đó tạo ra nhóm -X_2-CO-NH-.

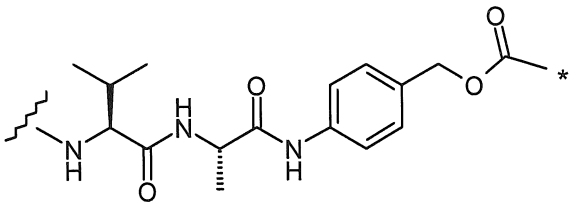
-NH-X_1- được nối trực tiếp với A. A có thể bao gồm nhóm chức -CO- do đó tạo ra liên kết amit với -X_1-.

Theo một phương án, L^1 và L^2 cùng với -OC(=O)- bao gồm nhóm NH-X_1-X_2-CO-PABC-. Nhóm PABC này được nối trực tiếp với chất gây độc tế bào. Tốt hơn, nếu cầu liên kết tự phân này và đipeptit cùng nhau tạo ra nhóm -NH-Phe-Lys-CO-NH-PABC-, được minh họa dưới đây:



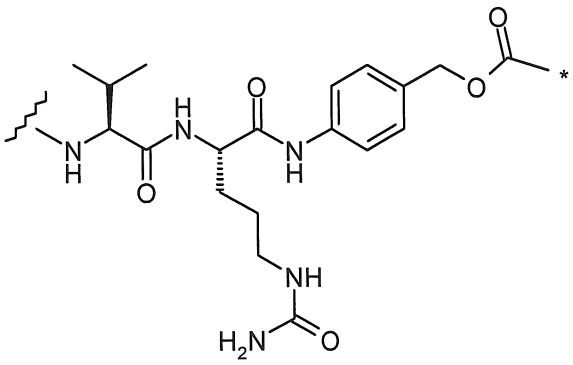
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào gốc gây độc tế bào được chọn, và đường lượn sóng biểu thị điểm gắn vào phần còn lại của cầu liên kết L^1 hoặc điểm gắn vào A. Tốt hơn, nếu đường lượn sóng biểu thị điểm gắn vào A. Chuỗi bên của axit amin Lys có thể được bảo vệ, ví dụ, bằng Boc, Fmoc, hoặc Alloc, như được mô tả trên đây.

Theo cách khác, cầu liên kết tự phân và đipeptit cùng nhau tạo ra nhóm -NH-Val-Ala-CO-NH-PABC-, được minh họa dưới đây:



trong đó dấu hoa thị và đường lượn sóng là như được xác định trên đây.

Theo cách khác, cầu liên kết tự phân và đipeptit cùng nhau tạo ra nhóm -NH-Val-Cit-CO-NH-PABC-, được minh họa dưới đây:



trong đó dấu hoa thị và đường lượn sóng là như được xác định trên đây.

Theo một số phương án của sáng chế, có thể được ưu tiên hơn là nếu gốc dược chất chứa liên kết imin không được bảo vệ, ví dụ nếu gốc B có mặt, thì cầu liên kết này không chứa nhóm amino tự do (H_2N-). Do đó nếu cầu liên kết này có cấu trúc -A-L^1-L^2- thì tốt hơn cầu liên kết này không chứa nhóm amino tự do. Sự ưu tiên này đặc biệt thích hợp khi cầu liên kết chứa đipeptit, ví dụ là L^1; theo phương án này, sẽ được ưu tiên hơn, nếu một trong hai axit amin không được chọn từ lysin.

Không mong muốn bị giới hạn bởi lý thuyết, sự kết hợp của liên kết imin không được bảo vệ trong gốc dược chất và nhóm amino tự do trong cầu liên kết này có thể gây ra sự dime hóa gốc dược chất-cầu liên kết mà có thể cản trở sự liên hợp của gốc dược chất-cầu liên kết này với kháng thể. Phản ứng chéo của các nhóm này có thể được thúc đẩy trong trường hợp nhóm amino tự do có mặt dưới dạng ion amoni (H_3N^+-), như khi axit mạnh (ví dụ TFA) được sử dụng để khử bảo vệ nhóm amino tự do.

Theo một phương án, A là liên kết cộng hóa trị. Do đó, L^1 và chất liên kết tế bào được nối trực tiếp. Ví dụ, trong đó L^1 bao gồm trình tự axit amin liên tục, đầu cùng N của trình tự này có thể nối trực tiếp với tác nhân liên kết tế bào.

Do đó, khi A là liên kết cộng hóa trị, liên kết giữa tác nhân liên kết tế bào và L^1 có thể được chọn từ:

-C(=O)NH-, -C(=O)O-, -NHC(=O)-, -OC(=O)-, -OC(=O)O-, -NHC(=O)O-, -OC(=O)NH-, -NHC(=O)NH-, -C(=O)NHC(=O)-, -S-, -S-S-, -CH_2C(=O)-, và =N-NH-.

Nhóm amin của L^1 mà nối với chất điều biến SEZ6 có thể là đầu cùng N của axit amin hoặc có thể thu được từ nhóm amino của chuỗi bên axit amin, ví dụ chuỗi bên axit amin lysin.

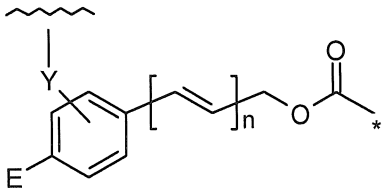
Nhóm carboxyl của L^1 mà liên kết với chất điều biến có thể là đầu cùng C của axit amin hoặc có thể thu được từ nhóm carboxyl của chuỗi bên của axit amin, ví dụ chuỗi bên của axit amin axit glutamic.

Nhóm hydroxyl của L^1 mà liên kết với chất liên kết tế bào có thể thu được từ nhóm hydroxyl của chuỗi bên axit amin, ví dụ chuỗi bên của axit amin serin.

Nhóm thiol của L^1 mà liên kết với chất điều biến có thể thu được từ nhóm thiol của chuỗi bên axit amin, ví dụ chuỗi bên của axit amin serin.

Nhận xét trên đây về các nhóm amino, carboxyl, hydroxyl và thiol của L^1 cũng áp dụng với tác nhân liên kết tế bào.

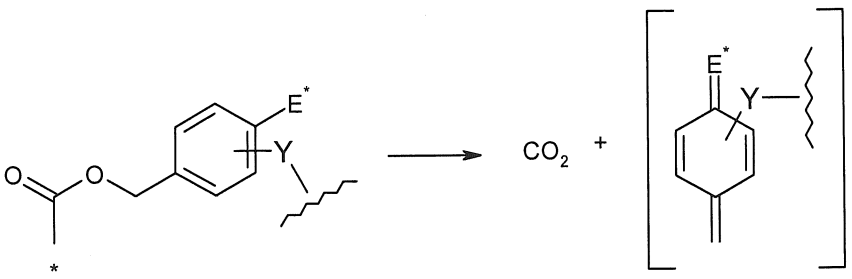
Theo một phương án, L^2 cùng với-OC(=O)- biểu thị:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào vị trí N10, đường lượn sóng biểu thị điểm gắn vào L^1, n là 0 đến 3, Y là liên kết cộng hóa trị hoặc nhóm chức, và E là nhóm có thể hoạt hóa được, ví dụ nhờ tác dụng của enzym hoặc ánh sáng, do đó tạo ra đơn vị tự phân. Vòng phenylen tùy ý còn được thế bởi một, hai hoặc ba phần tử thế như được mô tả ở đây. Theo một phương án, nhóm phenylen tùy ý còn được thế bởi halo, NO_2, R hoặc OR. Tốt hơn, nếu n là 0 hoặc 1, tốt nhất n là 0.

E được chọn sao cho nhóm này dễ được hoạt hóa, ví dụ bằng ánh sáng hoặc nhờ tác dụng của enzym. E có thể là $-NO_2$ hoặc axit glucoronic. Trường hợp đầu có thể nhạy với tác dụng của nitroreductaza, trường hợp sau nhạy cảm với tác dụng của β-glucoronidaza.

Theo phương án này, cầu liên kết tự phân sẽ cho phép giải phóng hợp chất được bảo vệ khi E được hoạt hóa, xảy ra theo phương trình được thể hiện dưới đây (với n=0):



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào vị trí N10, E^* là dạng hoạt hóa của E, và Y là như được mô tả trên đây. Các nhóm này có ưu điểm là tách vị trí hoạt hóa khỏi hợp chất đang được bảo vệ. Như được mô tả trên đây, nhóm phenylen có thể tùy ý được thế thêm.

Nhóm Y có thể là liên kết cộng hóa trị với L^1.

Nhóm Y có thể là nhóm chức được chọn từ:

-C(=O)-, -NH-, -O-, -C(=O)NH-, -C(=O)O-, -NHC(=O)-, -OC(=O)-, -OC(=O)O-, -NHC(=O)O-, -OC(=O)NH-, -NHC(=O)NH-, -NHC(=O)NH, -C(=O)NHC(=O)-, và -S-.

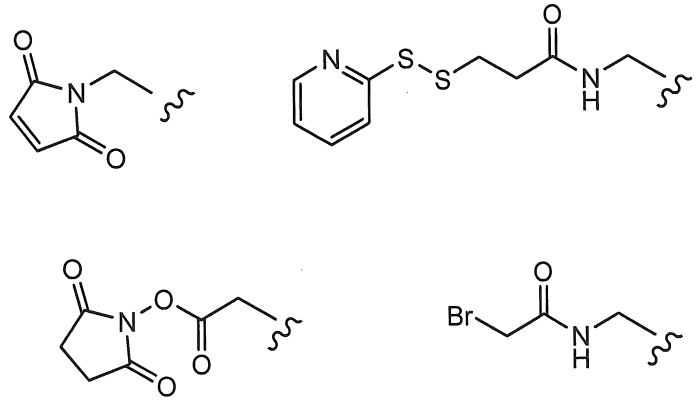
Trong đó L^1 là đipeptit, tốt hơn, nếu Y là -NH- hoặc -C(=O)-, do đó tạo ra liên kết amit giữa L^1 và Y. Theo phương án này, trình tự đipeptit không cần phải là cơ chất cho tác dụng của enzym.

Theo phương án khác, A nhóm đệm. Do đó, L^1 và chất liên kết tế bào được liên kết trực tiếp.

L^1 và A có thể được nối bằng liên kết được chọn từ:

-C(=O)NH-, -C(=O)O-, -NHC(=O)-, -OC(=O)-, -OC(=O)O-, -NHC(=O)O-, -OC(=O)NH-, và -NHC(=O)NH-.

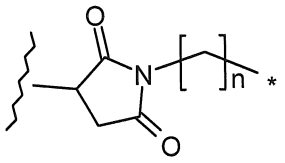
Tốt hơn, nếu cầu liên kết này chứa nhóm chức ái điện tử để phản ứng với nhóm chức ái nhân trên chất điều biến. Các nhóm ái nhân trên kháng thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: (i) các nhóm amin đầu cùng N, (ii) các nhóm amin của chuỗi bên, ví dụ lysin, (iii) các nhóm thiol của chuỗi bên, ví dụ xystein, và (iv) các nhóm hydroxyl hoặc amino của đường khi kháng thể được glycosyl hóa. Các nhóm amin, thiol, và hydroxyl là các nhóm ái nhân và có thể phản ứng để tạo ra liên kết cộng hóa trị với nhóm ái điện tử trên các gốc cầu liên kết và chất phản ứng của cầu liên kết bao gồm: (i) các nhóm maleimit (ii) các disulfua được hoạt hóa, (iii) este hoạt động như NHS (N-hydroxysuccinimit) este, HOBt (N-hydroxybenzotriazol) este, haloformat, và axit halogenua; (iv) alkyl và benzyl halogenua như haloaxetamit; và (v) aldehyt, keton, carboxyl, và, một trong số các nhóm này được lấy làm ví dụ như sau:



Một số kháng thể có các disulfua liên chuỗi có thể khử được, tức là các cầu xystein. Các kháng thể có thể được làm cho phản ứng để liên hợp với chất phản ứng cầu liên kết bằng cách xử lý với chất khử như DTT (dithiothreitol). Mỗi cầu xystein do đó sẽ tạo ra, theo lý thuyết, hai chất ái nhân thiol phản ứng. Các nhóm ái nhân khác có thể được đưa vào các kháng thể thông qua phản ứng của lysin với 2-iminothiolan (chất phản ứng Traut) dẫn đến sự chuyển hóa của amin thành thiol. Các nhóm thiol phản ứng có thể có thể được đưa vào kháng thể (hoặc đoạn của nó) bằng cách đưa vào một, hai, ba, bốn, hoặc nhiều gốc xystein (ví dụ, điều chế các kháng thể đột biến chứa một hoặc nhiều gốc axit amin xystein không tự nhiên). US 7,521,541 mô tả việc thao tác di truyền các kháng thể bằng cách đưa vào axit amin xystein phản ứng.

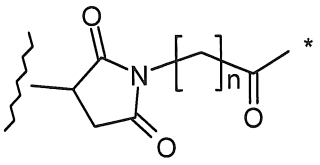
Theo một số phương án, cầu liên kết có nhóm ái nhân phản ứng mà phản ứng với nhóm ái điện tử có mặt trên kháng thể. Các nhóm ái điện tử hữu dụng trên kháng thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các nhóm aldehyt và keton carbonyl. Nguyên tử khác loại của nhóm ái nhân của cầu liên kết có thể phản ứng với nhóm ái điện tử trên kháng thể và tạo ra liên kết cộng hóa trị với đơn vị kháng thể. Các nhóm ái nhân hữu dụng trên cầu liên kết bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, hydrazit, oxim, amino, hydroxyl, hydrazin, thiosemicarbazon, hydrazin carboxylat, và arylhydrazit. Nhóm ái điện tử trên kháng thể tạo ra vị trí thuận tiện để gắn vào cầu liên kết.

Theo một phương án, nhóm A là:



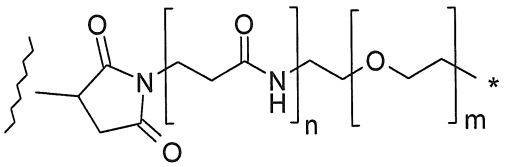
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^1, đường lượn sóng biểu thị điểm gắn với tác nhân liên kết tế bào, và n là 0 đến 6. Theo một phương án, n là 5.

Theo một phương án, nhóm A là:



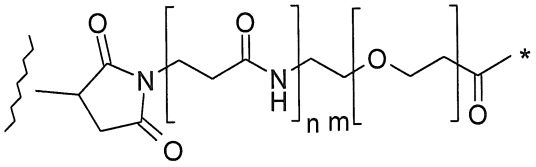
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^1, đường lượn sóng biểu thị điểm gắn với tác nhân liên kết tế bào, và n là 0 đến 6. Theo một phương án, n là 5.

Theo một phương án, nhóm A là:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^1, đường lượn sóng biểu thị điểm gắn với tác nhân liên kết tế bào, n là 0 hoặc 1, và m là 0 đến 30. Theo phương án được ưu tiên, n là 1 và m là 0 đến 10, 1 đến 8, tốt hơn là 4 đến 8, và tốt nhất là 4 hoặc 8. Theo phương án khác, m là 10 đến 30, và tốt hơn là 20 đến 30. Theo cách khác, m là 0 đến 50. Theo phương án này, m tốt hơn là 10-40 và n là 1.

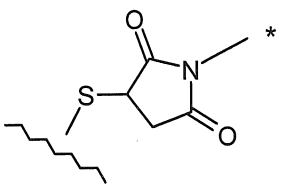
Theo một phương án, nhóm A là:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^1, đường lượn sóng biểu thị điểm gắn với tác nhân liên kết tế bào, n là 0 hoặc 1, và m là 0 đến 30. Theo phương án được ưu tiên, n là 1 và m là 0 đến 10, 1 đến 8, tốt hơn là 4 đến 8, và tốt nhất là 4 hoặc 8. Theo phương án khác, m là 10 đến 30, và tốt hơn là 20 đến 30. Theo cách khác, m là 0 đến 50. Theo phương án này, m tốt hơn là 10-40 và n là 1.

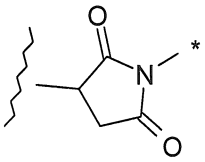
Theo một phương án, liên kết giữa tác nhân liên kết tế bào và A là qua gốc thiol của tác nhân liên kết tế bào và nhóm maleimit của A.

Theo một phương án, liên kết giữa tác nhân liên kết tế bào và A là:



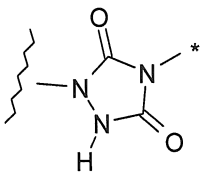
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào phần còn lại của A và đường lượn sóng biểu thị điểm gắn vào phần còn lại của tác nhân liên kết tế bào. Theo phương án này, nguyên tử S thường có nguồn gốc từ chất điều biến.

Trong mỗi phương án trong số các phương án nêu trên, nhóm chức thay thế có thể được sử dụng thay cho nhóm có nguồn gốc từ maleimit được thể hiện dưới đây:



trong đó đường lượn sóng biểu thị điểm gắn với tác nhân liên kết tế bào như trước đây, và dấu hoa thị biểu thị liên kết với phần còn lại của nhóm A.

Theo một phương án, nhóm có nguồn gốc từ maleimit được thay thế bằng nhóm:

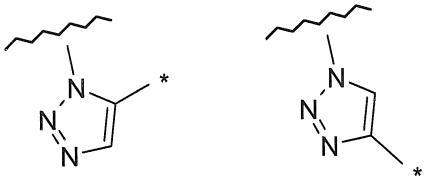


trong đó đường lượn sóng biểu thị điểm gắn với tác nhân liên kết tế bào, và dấu hoa thị biểu thị liên kết với phần còn lại của nhóm A.

Theo một phương án, nhóm có nguồn gốc từ maleimit được thay thế bằng nhóm, tùy ý cùng với tác nhân liên kết tế bào, được chọn từ:

-C(=O)NH-, -C(=O)O-, -NHC(=O)-, -OC(=O)-, -OC(=O)O-, -NHC(=O)O-, -OC(=O)NH-, -NHC(=O)NH-, -NHC(=O)NH, -C(=O)NHC(=O)-, -S-, -S-S-, -CH_2C(=O)-, -C(=O)CH_2-, =N-NH- và -NH-N=.

Theo một phương án, nhóm có nguồn gốc từ maleimit được thay thế bằng nhóm, tùy ý cùng với tác nhân liên kết tế bào, được chọn từ:



trong đó đường lượn sóng biểu thị điểm gắn với chất liên kết tế bào hoặc liên kết với phần còn lại của nhóm A, và dấu hoa thị biểu thị phần còn lại của điểm gắn với tác nhân liên kết tế bào hoặc liên kết với phần còn lại của nhóm A.

Các nhóm khác thích hợp để nối L^1 với chất điều biến đã chọn được mô tả trong WO 2005/082023.

Theo phương án được ưu tiên khác, chất điều biến theo sáng chế có thể được liên hợp với các polyme tương thích sinh học bao gồm các đơn vị cầu liên kết dược chất. Về mặt này một loại polyme thích hợp bao gồm polyme Fleximer® (Mersana Therapeutics). Các polyme này được báo cáo là có thể phân hủy sinh học được, được dung nạp tốt và có hiệu lực trong lâm sàng. Hơn nữa, các polyme này là thích hợp với nhiều công nghệ và hóa học tạo cầu liên kết tùy biến cho phép kiểm soát dược động học, định vị sự giải phóng dược chất và cải thiện sự phân bố sinh học.

Chất điều biến chọn lọc cũng có thể được liên hợp trực tiếp với chất đồng vị phóng xạ hoặc có thể bao gồm chất tạo chelat vòng lớn hữu dụng để liên hợp với các ion kim loại phóng xạ (như được mô tả ở đây). Theo một số phương án, chất tạo chelat vòng lớn là axit 1,4,7,10-tetraazaxyclododecan-N,N',N'',N''- tetraaxetic (DOTA) có thể được gắn lên kháng thể thông qua phân tử cầu liên kết. Các phân tử cầu liên kết này đã được biết phổ biến trong lĩnh vực này và được mô tả trong Denardo et al., 1998, Clin Cancer Res. 4:2483; Peterson et al., 1999, Bioconjug. Chem. 10:553; và Zimmerman et al., 1999, Nucl. Med. Biol. 26:943.

Nói chung, các kỹ thuật để liên hợp các gốc điều trị bệnh hoặc chất gây độc tế bào với chất điều biến là đã biết. Như đã bàn luận trên đây, các gốc có thể được kết hợp với chất điều biến bằng phương pháp bất kỳ đã được thừa nhận trong lĩnh vực này, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở liên kết aldehyt/Schiff, liên kết sulphydryl, liên kết không bền với axit, liên kết cis-aconityl, liên kết hydrazon, liên kết phân hủy được bằng enzym (nhìn chung xem Garnett, 2002, Adv Drug Deliv Rev 53:171). Cũng xem, ví dụ, Amon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", trong Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", trong Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson et al. (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", trong Monoclonal Antibodies '84: Biological and Clinical Applications, Pinchera et al. (eds.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, and Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", trong Monoclonal Antibodies For Cancer Detection and Therapy, Baldwin et al. (eds.),

pp. 303-16 (Academic Press 1985), và Thorpe et al., 1982, Immunol. Rev. 62:119. Theo các phương án ưu tiên, chất điều biến SEZ6 mà được liên hợp với gốc điều trị bệnh hoặc chất gây độc tế bào có thể được nội nhập bởi tế bào khi liên kết với phân tử SEZ6 đã được liên kết với bề mặt tế bào nhờ đó phân phối phần tải chữa bệnh.

C. Chất cải biến tương thích sinh học

Theo các phương án đã chọn, chất điều biến theo sáng chế có thể được liên hợp hoặc theo cách khác được kết hợp với chất cải biến tương thích sinh học mà có thể được sử dụng để điều chỉnh, thay đổi, cải thiện hoặc làm giảm các đặc trưng của chất điều biến theo mong muốn. Ví dụ, các kháng thể hoặc các cấu trúc dung hợp có thời gian bán hủy *in vivo* tăng có thể được tạo ra bằng cách gắn với các phân tử polyme có khối lượng phân tử tương đối cao như polyetylen glycol (PEG) có bán trên thị trường hoặc các polyme tương tự tương thích sinh học. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này cần phải hiểu rằng PEG có thể thu được với nhiều cấu hình phân tử và khối lượng phân tử khác nhaumà có thể được chọn tạo ra các đặc điểm đặc hiệu cho kháng thể (ví dụ thời gian bán thải có thể được biến đổi). PEG có thể được gắn vào chất điều biến hoặc các đoạn kháng thể hoặc dẫn xuất có hoặc không có cầu liên kết đa chức năng thông qua liên hợp đặc hiệu vị trí của PEG với đầu cùng N- hoặc C- của các kháng thể này hoặc các đoạn kháng thể hoặc thông qua các nhóm amino epsilon có mặt trên các gốc lysin. Việc tạo dẫn xuất polyme mạch thẳng hoặc mạch nhánh mà dẫn đến làm giảm ít nhất hoạt tính sinh học có thể được sử dụng. Mức độ liên hợp có thể được kiểm soát chặt chẽ bằng kỹ thuật SDS-PAGE và khối phổ để đảm bảosự liên hợp tối ưu của các phân tử PEG với các phân tử kháng thể. PEG không phản ứng có thể được tách ra từ các thể liên hợp kháng thể-PEG bằng ví dụ, phương pháp sắc ký loại cỡ hoặc sắc ký trao đổi ion. Theo cách tương tự, chất điều biến được mô tả có thể được kết hợp với albumin để tạo ra kháng thể hoặc phân đoạn kháng thể ổn định hơn trên *in vivo* hoặc có thời gian bán thải dài hơn trên *in vivo*. Các kỹ thuật này đã biết trong lĩnh vực này, xem ví dụ, Các công bố đơn quốc tế số WO 93/15199, WO 93/15200, và WO 01/77137; và Patent châu Âu số 0 413, 622. Các thể liên hợp tương thích sinh học khác là rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này và có thể được xác định dễ dàng theo phần mô tả của sáng chế.

D. Chất phát hiện hoặc chẩn đoán

Theo các phương án ưu tiên khác, chất điều biến theo sáng chế, hoặc các đoạn hoặc dẫn xuất của chúng, được kết hợp với chất chẩn đoán và phát hiện được, chất chỉ thị hoặc chất đánh dấu mà có thể là, ví dụ, phân tử sinh học (ví dụ, peptit hoặc nucleotit), phân tử nhỏ, florophore, hoặc đồng vị phóng xạ. Chất điều biến được đánh dấu có thể là hữu dụng để kiểm soát sự phát triển hoặc tiến triển của rối loạn tăng sinh quá mức hoặc là một phần của quy trình kiểm tra lâm sàng để xác định hiệu quả của liệu pháp điều trị cụ thể bao gồm chất điều biến được mô tả (tức là chất chẩn đoán) hoặc để xác định lộ trình điều trị tiếp theo. Các chất đánh dấu hoặc chất chỉ thị này cũng có thể là hữu dụng trong việc tinh chế chất điều biến được chọn, phân tích chất điều biến (ví dụ, liên kết epitop hoặc phân loại kháng thể), phân tách hoặc phân lập TIC hoặc trong quy trình cận lâm sàng hoặc các nghiên cứu chất độc.

Phân tích chẩn đoán và/hoặc phát hiện này có thể được thực hiện bằng cách bắt cặp chất điều biến với cơ chất phát hiện được bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các enzym khác nhau bao gồm ví dụ peroxidaza của cây cải ngựa, phosphataza kiềm, beta-galactosidaza, hoặc axetylcholinesteaza; các nhóm giả, chẳng hạn như, nhưng không chỉ giới hạn ở streptavidinlbiotin và avidin/biotin; chất phát huỳnh quang, chẳng hạn như, nhưng không chỉ giới hạn ở, umbeliferon, fluoresxein, fluoresxein isothioxynat, rhodamin, diclotriazinylamin fluoresxein, dansyl clorua hoặc phycoerythrin; chất phát quang, như nhưng không chỉ giới hạn ở, luminol; chất phát quang sinh học, chẳng hạn như, nhưng không chỉ giới hạn ở, luxiferaza, luxiferin, và aequorin; chất có hoạt tính phóng xạ, chẳng hạn như, nhưng không chỉ giới hạn ở iodin (^{131}I, ^{125}I, ^{123}I, ^{121}I,), cacbon (^{14}C), lưu huỳnh (^{35}S), triti (^{3}H), inđi (^{115}In, ^{113}In, ^{112}In, ^{111}In,), và tecneti (^{99}Tc), tali (^{201}Ti), gali (^{68}Ga, ^{67}Ga), paladi (^{103}Pd), môlypden (^{99}Mo), xenon (^{133}Xe), flo (^{18}F), ^{153}Sm, ^{177}Lu, ^{159}Gd, ^{149}Pm, ^{140}La, ^{175}Yb, ^{166}Ho, ^{90}Y, ^{47}Sc, ^{186}Re, ^{188}Re, ^{142}Pr, ^{105}Rh, ^{97}Ru, ^{68}Ge, ^{57}Co, ^{65}Zn, ^{85}Sr, ^{32}P, ^{153}Gd, ^{169}Yb, ^{51}Cr, ^{54}Mn, ^{75}Se, ^{113}Sn, và ^{117}thiếc; kim loại phát xạ pozitron sử dụng các phương pháp chụp cắt lớp phát xạ pozitron khác nhau, ion kim loại thuận từ không có hoạt tính phóng xạ, và các phân tử có thể được đánh dấu phóng xạ hoặc kết hợp với chất đồng vị phóng xạ cụ thể. Trong các phương án này phương pháp phát hiện thích hợp là đã được biết trong lĩnh vực này và dễ dàng có được từ các nguồn thương mại.

Như được nêu trên, theo các phương án khác chất điều biến hoặc đoạn của nó có thể được dung hợp hoặc kết hợp với các trình tự hoặc các hợp chất đánh dấu, như peptit hoặc flophore để tạo thuận lợi cho quy trình tinh chế hoặc chẩn đoán hoặc phân tích như hóa mô miễn dịch, đo giao thoa lớp sinh học, cộng hưởng plasmon bề mặt, đếm tế bào theo dòng chảy, ELISA cạnh tranh, FACs, v.v.. Theo các phương án ưu tiên, chất đánh dấu bao gồm đuôi his như được cung cấp bởi vectơ pQE (Qiagen), trong số các kỹ thuật khác, nhiều thiết bị có bán sẵn trên thị trường. Các đuôi peptit hữu dụng cho việc tinh chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở,đuôi hemaglutinin "HA", tương ứng với epitop có nguồn gốc từ protein hemaglutinin của virut cúm (Wilson et al., 1984, Cell 37:767) và đuôi "flag" (bằng Mỹ số 4.703.004).

E. Các gốc điều trị

Như đã đề cập trên đây chất điều biến hoặc các đoạn hoặc dẫn xuất của chúng cũng có thể được liên hợp, liên kết hoặc được dung hợp với hoặc theo cách khác được liên hợp với "gốc điều trị" hoặc "dược chất" như chất chống tăng sinh hoặc chất chống ung thư bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất gây độc tế bào, chất kìm tế bào, chất chống tạo mạch, chất loại bỏ khối u, các chất hóa trị liệu, xạ trị và các chất xạ trị, chất chống ung thư hướng đích, BRMs, các kháng thể điều trị, vacxin chống ung thư, xytokin, liệu pháp hormon, liệu pháp xạ trị và chống di căn và các chất điều trị bằng miễn dịch.

Chất chống ung thư được ưu tiên bao gồm xytochalasin B, gramixidin D, etidi bromua, emetin, mitomyxin, etoposit, tenoposit, vincristin, vinblastin, colchixin, doxorubixin, daunorubixin, dihydroxy anthraxin, maytansinoit như DM-1 và DM-4 (chất sinh miễn dịch, Inc.), dion, mitoxantron, mithramyxin, actinomyxin D, 1-dehydrotestosteron, glucocorticoit, procain, tetracain, lidocain, propranolol, puromyxin, epirubixin, và xyclophosphamit và chất tương tự hoặc tương đồng của nó. Các độc tố tế bào tương thích khác bao gồm dolastatin và auristatin, bao gồm monometyl auristatin E (MMAE) và monometyl auristatin F (MMAF) (Seattle Genetics, Inc.), amanitin như alpha-amanitin, beta-amanitin, gamma-amanitin hoặc epsilon-amanitin (Heidelberg Pharma AG), tác nhân liên kết ADN nhỏ như dẫn xuất duocarmyxin (Syntarga, B.V.) và các đime pyrolobenzodiazepin cải biến (Spirogen, Ltd.), chất ức chế cắt cistron như các thể đồng dạng meayamyxin hoặc dẫn xuất (ví dụ, FR901464 được đề cập trong bằng Mỹ số 7,825,267), tác nhân liên kết ống như các

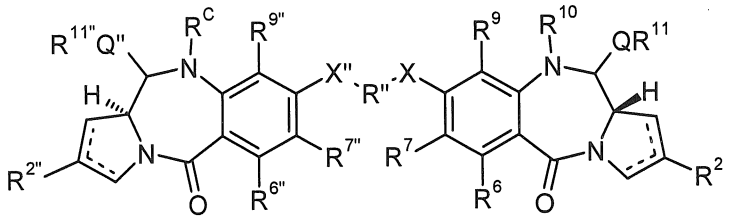
chất tương tự epothilon và paclitaxel và chất hủy ADN như calicheamixis và esperamixin. Hơn thế nữa, theo một số phương án nhất định chất điều biến SEZ6 theo sáng chế có thể được kết hợp với các phân tử liên kết kháng CD3 để thu nạp các tế bào T gây độc tế bào và hướng đích chúng đến các tế bào tạo u (công nghệ BiTE; xem ví dụ, Fuhrmann, S. et. al. Annual Meeting of AACR Abstract No. 5625 (2010) được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Các chất chống ung thư thích hợp bổ sung khác bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất kháng chuyển hóa (ví dụ, methotrexat, 6-mercaptopurin, 6-thioguanin, xytarabin, 5-flouraxil decarbazin), tác nhân alkyl hóa (ví dụ, meclorethamin, thioepa, clorambuxil, melphalan, carmustin (BCNU) và lomustin (CCNU), busulfan, dibromomanitol, streptozotoxin, và cisdiclodiamin platin (II) (DDP) xisplatin), anthraxyclin (ví dụ, daunorubixin (tên cũ là daunomyxin) và doxorubixin), chất kháng sinh (ví dụ, dactinomyxin (tên cũ là actinomyxin), bleomyxin, và anthramyxin (AMC)), và tác nhân kháng-nguyên phân (ví dụ, vincristin và vinblastin). Danh mục các gốc điều trị mở rộng hơn có thể được tìm thấy trong Công bố đơn PCT WO 03/075957 và bằng Mỹ số 2009/0155255 mỗi tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

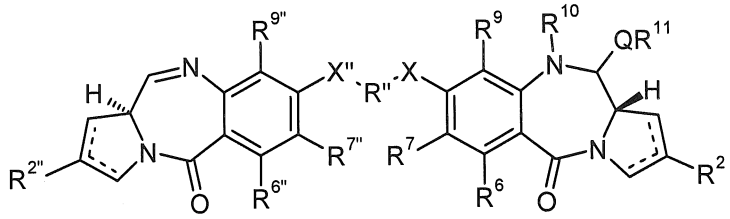
Như được nêu trên, các phương án được chọn theo sáng chế đề cập đến chất điều biến SEZ6 được liên hợp như các thể liên hợp dược chất kháng thể kháng SEZ6 mà chứa pyrolobenzodiazepin (PBD) làm chất gây độc tế bào. Cần phải hiểu rằng PBD là tác nhân alkyl hóa mà gây ra hoạt tính chống khối u bằng cách liên kết cộng hóa trị với ADN trong rãnh nhỏ và ức chế sự tổng hợp axit nucleic. Về mặt này, PBD được thể hiện là có các đặc điể chống khối u hiệu quả trong khi biểu hiện tác dụng ức chế tủy xương rất ít. Các PBD thích hợp với sáng chế có thể được liên kết với chất điều biến SEZ6 nhờ sử dụng bất kỳ trong số vài loại cầu liên kết (ví dụ, cầu liên kết peptidyl chứa gốc maleimido với sulfhydryl tự do) và, theo một số phương án nhất định là ở dạng đime hóa (tức là, các đime PBD). Các PBD thích hợp (và các cầu liên kết tùy ý) có thể được kết hợp với chất điều biến được mô tả, ví dụ, trong các bằng Mỹ số 6,362,331, 7,049,311, 7,189,710, 7,429,658, 7,407,951, 7,741,319, 7,557,099, 8,034,808, 8,163,736 bằng Mỹ số 2011/0256157 và công bố đơn PCT WO2011/130613, WO2011/128650 và WO2011/130616 mỗi tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Do đó, theo các phương án đặc biệt ưu tiên, chất điều

biến này sẽ bao gồm kháng thể kháng SEZ6 được liên hợp hoặc kết hợp với một hoặc nhiều dime PBD (tức là, ADC của SEZ6-PBD).

Theo các phương án đặc biệt ưu tiên, các PBD tương hợp mà có thể được liên hợp với chất điều biến được mô tả trong U.S.P.N. 2011/0256157. Trong phần mô tả này, PBD đime, tức là các phân tử gồm hai gốc PBD có thể được ưu tiên hơn. Do đó, các thể liên hợp được ưu tiên theo sáng chế là các thể có công thức (AB) hoặc (AC):



AB



AC

trong đó:

các đường chấm chấm biểu thị sự có mặt tùy ý của liên kết đôi giữa C1 và C2 hoặc C2 và C3;

R^2 độc lập được chọn từ H, OH, =O, $=CH_2$, CN, R, hoặc, $=CH\text{-}R^D$, $=C(R^D)_2$, O-SO_2-R, CO_2R và COR, và tùy ý được chọn thêm từ halo hoặc đihalo;

trong đó R^D độc lập được chọn từ R, CO_2R, COR, CHO, CO_2H, và halo;

R^6 và R^9 độc lập được chọn từ H, R, OH, hoặc, SH, SR, NH_2, NHR, NRR', NO_2, Me_3Sn và halo;

R^7 độc lập được chọn từ H, R, OH, hoặc, SH, SR, NH_2, NHR, NRR', NO_2, Me_3Sn và halo;

R^{10} là cầu liên kết được nối với chất điều biến hoặc đoạn hoặc dẫn xuất của nó, như được mô tả trên đây;

Q độc lập được chọn từ O, S và NH;

R^{11} hoặc là H, hoặc R hoặc, trong đó Q là O, SO_3M, trong đó M là cation kim loại;

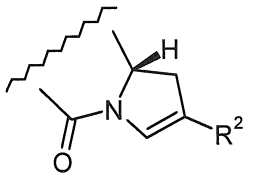
R và R' mỗi nhóm độc lập được chọn từ các nhóm C_{1-12} alkyl, C_{3-20} heteroxyclyl và C_{5-20} aryl tùy ý được thế, và tùy ý liên quan đến nhóm NRR', R và R' cùng với nguyên tử nitơ mà nó gắn vào tạo ra nhân dị vòng 4-, 5-, 6- hoặc 7-cạnh tùy ý được thế; và

trong đó $R^{2"}$, $R^{6"}$, $R^{7"}$,$R^{9"}$, X", Q" và $R^{11"}$ lần lượt là như được xác định theo R^2, R^6, R^7, R^9, X, Q và R^{11} tương ứng, và R^C là nhóm gắn mũ.

Liên kết đôi

Theo một phương án, không có liên kết đôi có mặt giữa C1 và C2, và C2 và C3.

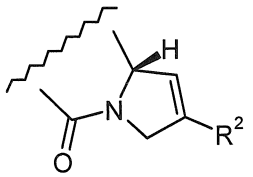
Theo một phương án, các đường chấm chấm biểu thị sự có mặt tùy ý của liên kết đôi giữa C2 và C3, như được thể hiện dưới đây:



.

Theo một phương án, liên kết đôi có mặt giữa C2 và C3 khi R^2 là C_{5-20} aryl hoặc C_{1-12} alkyl.

Theo một phương án, các đường chấm chấm biểu thị sự có mặt tùy ý của liên kết đôi giữa C1 và C2, như được thể hiện dưới đây:



.

Theo một phương án, liên kết đôi có mặt giữa C1 và C2 khi R^2 là C_{5-20} aryl hoặc C_{1-12} alkyl.

R^2

Theo một phương án, R^2 độc lập được chọn từ H, OH, =O, $=CH_2$, CN, R, hoặc, $=CH\text{-}R^D$, $=C(R^D)_2$, $O\text{-}SO_2\text{-}R$, CO_2R và COR, và tùy ý được chọn thêm từ halo hoặc đihalo.

Theo một phương án, R^2 độc lập được chọn từ H, OH, =O, $=CH_2$, CN, R, hoặc, $=CH\text{-}R^D$, $=C(R^D)_2$, $O\text{-}SO_2\text{-}R$, CO_2R và COR.

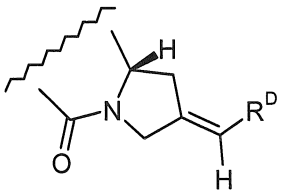
Theo một phương án, R^2 độc lập được chọn từ H, =O, $=CH_2$, R, $=CH\text{-}R^D$, và $=C(R^D)_2$.

Theo một phương án, R^2 độc lập là H.

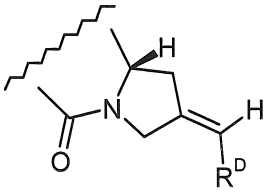
Theo một phương án, R^2 độc lập là =O.

Theo một phương án, R^2 độc lập là $=CH_2$.

Theo một phương án, R^2 độc lập là $=CH-R^D$. Trong hợp chất PBD, nhóm $=CH-R^D$ có thể có cấu hình được thể hiện dưới đây:



(I)



(II)

Theo một phương án, cấu hình này là cấu hình (I).

Theo một phương án, R^2 độc lập là $=C(R^D)_2$.

Theo một phương án, R^2 độc lập là $=CF_2$.

Theo một phương án, R^2 độc lập là R.

Theo một phương án, R^2 độc lập là C_{5-20} aryl tùy ý được thế.

Theo một phương án, R^2 độc lập là C_{1-12} alkyl tùy ý được thế.

Theo một phương án, R^2 độc lập là C_{5-20} aryl tùy ý được thế.

Theo một phương án, R^2 độc lập là C_{5-7} aryl tùy ý được thế.

Theo một phương án, R^2 độc lập là C_{8-10} aryl tùy ý được thế.

Theo một phương án, R^2 độc lập là phenyl tùy ý được thế.

Theo một phương án, R^2 độc lập là naphtyl tùy ý được thế.

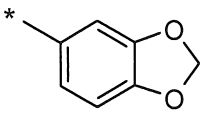
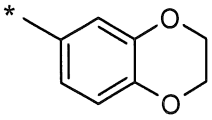
Theo một phương án, R^2 độc lập là pyridyl tùy ý được thế.

Theo một phương án, R^2 độc lập là quinolinyl hoặc isoquinolinyl tùy ý được thế.

Theo một phương án, R^2 mang một đến ba nhóm thế, với 1 và 2 là được ưu tiên hơn, và các nhóm thế một lần là được ưu tiên nhất. Các nhóm thế này có thể ở vị trí bất kỳ.

Khi R^2 là nhóm C_{5-7} aryl, tốt hơn nếu là nhóm thế một lần nằm trên nguyên tử vòng mà không gần kề với liên kết với phần còn lại của hợp chất, tức là tốt hơn, nếu nó là vị trí β hoặc γ với liên kết với phần còn lại của hợp chất. Do đó, khi nhóm C_{5-7} aryl là phenyl, nhóm thế này tốt hơn nếu ở vị trí meta- hoặc para-, và tốt hơn nữa là ở vị trí para-.

Theo một phương án, R^2 được chọn từ:

trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm liên kết.

Khi R^2 là nhóm C_{8-10} aryl, ví dụ quinolinyl hoặc isoquinolinyl, nó có thể mang số lượng nhóm thế bất kỳ ở vị trí bất kỳ của vòng quinolin hoặc isoquinolin. Theo một số phương án, nó mang một, hai hoặc ba phần tử thế, và các phần tử thế này có thể nằm ở vòng gần hoặc xa hoặc cả hai (nếu nhiều hơn một nhóm thế).

Theo một phương án, khi R^2 tùy ý được thế, các nhóm thế được chọn từ các nhóm thế được đưa ra trong phần nhóm thế dưới đây.

Khi R tùy ý được thế, các nhóm thế này tốt hơn nếu được chọn từ:

Halo, Hydroxyl, Ete, Formyl, Axyl, Carboxyl, Este, Axyloxy, Amino, Amido, Axylamido, Aminocarbonyloxy, Ureido, Nitro, Xyano và Thioete.

Theo một phương án, khi R hoặc R^2 tùy ý được thế, các nhóm thế được chọn từ nhóm bao gồm R, hoặc, SR, NRR', NO_2, halo, CO_2R, COR, $CONH_2$, CONHR, và CONRR'.

Khi R^2 là C_{1-12} alkyl, nhóm thế tùy ý có thể còn bao gồm C_{3-20} heteroxyclyl và các nhóm C_{5-20} aryl.

Khi R^2 là C_{3-20} heteroxyclyl, nhóm thế tùy ý có thể còn bao gồm C_{1-12} alkyl và các nhóm C_{5-20} aryl.

Khi R^2 là các nhóm C_{5-20} aryl, nhóm thế tùy ý có thể còn bao gồm C_{3-20} heteroxyclyl và các nhóm C_{1-12} alkyl.

Cần phải hiểu rằng thuật ngữ "alkyl" bao hàm các lớp phụ alkenyl và alkynyl cũng như xycloalkyl. Do đó, khi R^2 là C_{1-12} alkyl tùy ý được thế, cần phải hiểu rằng nhóm alkyl này tùy ý chứa một hoặc nhiều liên kết đôi cacbon-cacbon hoặc liên kết ba, có thể tạo ra một phần của hệ liên hợp. Theo một phương án, nhóm C_{1-12} alkyl tùy ý được thế chứa ít nhất một liên kết đôi cacbon-cacbon hoặc liên kết ba, và liên kết này được liên hợp với liên kết đôi ở giữa C1 và C2, hoặc C2 và C3. Theo một phương án, nhóm C_{1-12} alkyl là nhóm được chọn từ C_{1-12} alkyl, C_{2-12} alkenyl, C_{2-12} alkynyl và C_{3-12} xycloalkyl bão hòa.

Nếu nhóm thế trên R^2 là halo, tốt hơn nếu nó là F hoặc Cl, tốt hơn nữa là Cl.

Nếu nhóm thế trên R^2 là ete, theo một số phương án nó có thể là nhóm alkoxy, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkoxy (ví dụ metoxy, etoxy) hoặc theo một số phương án nó có thể là nhóm C_{5-7} aryloxy (ví dụ phenoxy, pyridyloxy, furanyloxy).

Nếu nhóm thế trên R^2 là C_{1-7} alkyl, tốt hơn nếu nó có thể là nhóm C_{1-4} alkyl (ví dụ metyl, etyl, propyl, butyl).

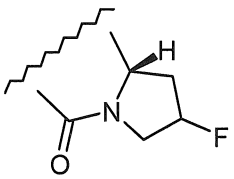
Nếu nhóm thế trên R^2 là C_{3-7} heteroxyclyl, theo một số phương án, nó có thể là nhóm heteroxyclyl chứa C_6 nitơ, ví dụ morpholino, thiomorpholino, piperidinyl, piperazinyl. Các nhóm này có thể được liên kết với phần còn lại của gốc PBD qua nguyên tử nitơ. Các nhóm này có thể được thế thêm, ví dụ, bằng các nhóm C_{1-4} alkyl.

Nếu nhóm thế trên R^2 là bis-oxy-C_{1-3} alkylen, tốt hơn nếu là bis-oxy-metylen hoặc bis-oxy-etylen.

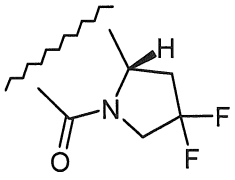
Các nhóm thế được đặc biệt ưu tiên đối với R^2 bao gồm metoxy, etoxy, flo, clo, xyano, bis-oxy-metylen, metyl-piperazinyl, morpholino và metyl-thienyl.

Các nhóm R^2 được thế được đặc biệt ưu tiên bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, 4-metoxy-phenyl, 3-metoxyphenyl, 4-etoxy-phenyl, 3-etoxy-phenyl, 4-flo-phenyl, 4-clo-phenyl, 3,4-bisoxymetylen-phenyl, 4-metylthienyl, 4-xyanophenyl, 4-phenoxyphenyl, quinolin-3-yl và quinolin-6-yl, isoquinolin-3-yl và isoquinolin-6-yl, 2-thienyl, 2-furanyl, metoxynaphtyl, và naphtyl.

Theo một phương án, R^2 là halo hoặc đihalo. Theo một phương án, R^2 là -F hoặc $-F_2$, các nhóm thế này được minh họa dưới đây lần lượt là (III) và (IV):



(III)



(IV)

$\underline{R^D}$

Theo một phương án, R^D độc lập được chọn từ R, CO_2R, COR, CHO, CO_2H, và halo.

Theo một phương án, R^D độc lập là R.

Theo một phương án, R^D độc lập là halo.

$\underline{R^6}$

Theo một phương án, R^6 độc lập được chọn từ H, R, OH, hoặc, SH, SR, NH_2, NHR, NRR', NO_2, Me_3Sn- và Halo.

Theo một phương án, R^6 độc lập được chọn từ H, OH, hoặc, SH, NH_2, NO_2 và Halo.

Theo một phương án, R^6 độc lập được chọn từ H và Halo.

Theo một phương án, R^6 độc lập là H.

Theo một phương án, R^6 và R^7 cùng nhau tạo ra nhóm $-O-(CH_2)_p-O-$, trong đó p là 1 hoặc 2.

R^7

R^7 độc lập được chọn từ H, R, OH, hoặc, SH, SR, NH_2, NHR, NRR', NO_2, Me_3Sn và halo.

Theo một phương án, R^7 độc lập là OR.

Theo một phương án, R^7 độc lập là OR^{7A}, trong đó R^{7A} độc lập là C_{1-6} alkyl tùy ý được thế.

Theo một phương án, R^{7A} độc lập là C_{1-6} alkyl no tùy ý được thế.

Theo một phương án, R^{7A} độc lập là C_{2-4} alkenyl tùy ý được thế.

Theo một phương án, R^{7A} độc lập là Me.

Theo một phương án, R^{7A} độc lập là CH_2Ph.

Theo một phương án, R^{7A} độc lập là alyl.

Theo một phương án, hợp chất này là đime, trong đó các nhóm R^7 của mỗi monome cùng nhau tạo thành cầu đime có công thức X-R''-X nối các monome.

R^8

Theo một phương án, hợp chất này là đime, trong đó các nhóm R^8 của mỗi monome cùng nhau tạo thành cầu đime có công thức X-R''-X nối các monome.

Theo một phương án, R^8 độc lập là OR^{8A}, trong đó R^{8A} độc lập là C_{1-4} alkyl tùy ý được thế.

Theo một phương án, R^{8A} độc lập là C_{1-6} alkyl bão hòa tùy ý được thế hoặc C_{2-4} alkenyl tùy ý được thế.

Theo một phương án, R^{8A} độc lập là Me.

Theo một phương án, R^{8A} độc lập là CH_2Ph.

Theo một phương án, R^{8A} độc lập là alyl.

Theo một phương án, R^8 và R^7 cùng nhau tạo ra nhóm -O-$(CH_2)_p$-O-, trong đó p là 1 hoặc 2.

Theo một phương án, R^8 và R^9 cùng nhau tạo ra nhóm -O-$(CH_2)_p$-O-, trong đó p là 1 hoặc 2.

R^9

Theo một phương án, R^9 độc lập được chọn từ H, R, OH, hoặc, SH, SR, NH_2, NHR, NRR', NO_2, Me_3Sn- và Halo.

Theo một phương án, R^9 độc lập là H.

Theo một phương án, R^9 độc lập là R hoặc OR.

R và R'

Theo một phương án, R độc lập được chọn từ C_{1-12} alkyl tùy ý được thế, C_{3-20} heteroxyclyl và các nhóm C_{5-20} aryl. Mỗi nhóm này được xác định trong phần các nhóm thế dưới đây.

Theo một phương án, R độc lập là C_{1-12} alkyl tùy ý được thế.

Theo một phương án, R độc lập là C_{3-20} heteroxyclyl tùy ý được thế.

Theo một phương án, R độc lập là C_{5-20} aryl tùy ý được thế.

Theo một phương án, R độc lập là C_{1-12} alkyl tùy ý được thế.

Được mô tả trên đây liên quan đến R^2 là nhiều phương án khác nhau liên quan đến các nhóm alkyl và aryl được ưu tiên và mức độ tương đồng và số lượng các nhóm thế tùy ý. Sự ưu tiên được trình bày đối với R^2 khi nó áp dụng cho R có thể được áp dụng, khi thích hợp, cho tất cả các nhóm R khác, ví dụ khi R^6, R^7, R^8 hoặc R^9 là R.

Sự ưu tiên đối với R cũng áp dụng cho R'.

Theo một số phương án của sáng chế, được đề xuất là có hợp chất có nhóm thế -NRR'. Theo một phương án, R và R' cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo ra nhân dị vòng 4-, 5-, 6- hoặc 7 cạnh tùy ý được thế. Vòng này có thể chứa nguyên tử khác loại khác, ví dụ N, O hoặc S.

Theo một phương án, bản thân nhân dị vòng được thế bởi nhóm R. Khi nguyên tử khác loại N khác có mặt, nhóm thế này có thể nằm trên nguyên tử khác loại N này.

R"

R" là nhóm C_{3-12} alkylen, mạch này có thể bị phá vỡ bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, ví dụ O, S, N(H), NMe và/hoặc nhân thơm, ví dụ benzene hoặc pyridin, nhân này tùy ý được thế.

Theo một phương án, R″là nhóm C_{3-12} alkylen, mạch này có thể bị phá vỡ bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại và/hoặc nhân thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin.

Theo một phương án, nhóm alkylen tùy ý bị phá vỡ bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại được chọn từ O, S, và NMe và/hoặc nhân thơm, nhân này tùy ý được thế.

Theo một phương án, nhân thơm là nhóm C_{5-20} arylen, trong đó arylen gắn với gốc hóa trị hai thu được bằng cách loại bỏ hai nguyên tử hydro từ hai nguyên tử của nhân thơm của hợp chất thơm, gốc này có từ 5 đến 20 nguyên tử trên vòng.

Theo một phương án, R″ là nhóm C_{3-12} alkylen, mạch này có thể bị phá vỡ bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, ví dụ O, S, N(H), NMe và/hoặc nhân thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin, nhân này tùy ý được thế bởi NH_2.

Theo một phương án, R là nhóm C_{3-12} alkylen.

Theo một phương án, R″ được chọn từ C_3, C_5, C_7, C_9 và nhóm C_{11} alkylen.

Theo một phương án, R″ được chọn từ C_3, C_5 và nhóm C_7 alkylen.

Theo một phương án, R″ được chọn từ C_3 và nhóm C_5 alkylen.

Theo một phương án, R″ là nhóm C_3 alkylen.

Theo một phương án, R″ là nhóm C_5 alkylen.

Các nhóm alkylen được liệt kê trên đây có thể tùy ý bị phá vỡ bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại và/hoặc nhân thơm, ví dụ benzene hoặc pyridin, nhân này tùy ý được thế.

Các nhóm alkylen được nêu trên có thể tùy ý bị phá vỡ bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại và/hoặc vòng thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin.

Các nhóm alkylen được liệt kê trên đây có thể là các nhóm alkylen béo, mạch thẳng, không bão hòa.

X

Theo một phương án, X được chọn từ O, S, hoặc N(H).

Tốt hơn, X là O.

R^{10}

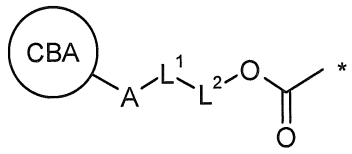
Tốt hơn là các cầu liên kết thích hợp như các cầu liên kết được mô tả trên đây liên kết chất điều biến SEZ6 (CBA/Ab/M) với gốc D của dược chất PBD thông qua (các) liên kết cộng hóa trị ở vị trí R^{10} (tức là, N10). Cầu liên kết này là gốc hai chức hoặc nhiều chức mà có thể được sử dụng để nối một hoặc nhiều gốc dược chất (D) và chất điều biến (tốt hơn là kháng thể) để tạo ra các thể liên hợp dược chất-kháng thể

(ADC). Cầu liên kết (L) này có thể ổn định bên ngoài tế bào, tức là ngoại bào, hoặc nó có thể cắt được nhờ tác dụng của enzym, thủy phân, hoặc các điều kiện chuyển hóa khác. Các thể liên hợp dược chất-kháng thể (ADC) có thể được điều chế thuận tiện bằng cách sử dụng cầu liên kết có nhóm chức phản ứng để liên kết với gốc dược chất và với kháng thể. Systein thiol, hoặc amin, ví dụ đầu cùng N hoặc chuỗi bên axit amin như lysin, của kháng thể (Ab) có thể tạo liên kết với nhóm chức của cầu liên kết hoặc chất phản ứng đệm, gốc dược chất PBD (D) hoặc chất phản ứng dược chất-cầu liên kết (D-L).

Nhiều nhóm chức trên cầu liên kết được gắn vào vị trí N10 của gốc PBD có thể hữu dụng để phản ứng với tác nhân liên kết tế bào. Ví dụ, este, thioeste, amit, thioamit, carbamat, thiocarbamat, urea, thioure, ete, thioete, hoặc liên kết disulfua có thể được tạo thành từ phản ứng của các chất trung gian cầu liên kết-dược chất PBD và tác nhân liên kết tế bào.

Theo phương án khác, cầu liên kết này có thể được thế bởi các nhóm mà điều biến sự kết tụ, hòa tan hoặc khả năng phản ứng. Ví dụ, nhóm thế sulfonat có thể làm tăng độ hòa tan trong nước của chất phản ứng và tạo thuận lợi cho phản ứng tạo cặp của chất phản ứng cầu liên kết với kháng thể hoặc gốc dược chất, hoặc tạo thuận lợi cho phản ứng tạo cặp của Ab-L với D, hoặc D-L với Ab, phụ thuộc vào con đường tổng hợp được sử dụng để điều chế ADC.

Theo phương án ưu tiên, R^{10} là nhóm:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào vị trí N10, CBA là tác nhân liên kết tế bào/chất điều biến, L^1 là cầu liên kết, A là nhóm kết nối nối L^1 với tác nhân liên kết tế bào, L^2 là liên kết cộng hóa trị hoặc cùng với-OC(=O)- tạo ra cầu liên kết tự phân, và L^1 hoặc L^2 là cầu liên kết phân cắt được.

L^1 tốt hơn là cầu liên kết có thể cắt được, và có thể được gọi là yếu tố kích hoạt để hoạt hóa cầu liên kết để cắt.

Như đã thảo luận trong phần cầu liên kết trên đây bản chất của L^1 và L^2, khi có mặt, có thể thay đổi nhiều. Các nhóm này được chọn dựa trên các đặc tính phân cắt của chúng, có thể phụ thuộc vào các điều kiện ở vị trí mà liên hợp được phân phối đến.

Các cầu liên kết mà được cắt nhờ tác dụng của enzym được ưu tiên, mặc dù các cầu liên kết mà có thể cắt được bởi sự thay đổi độ pH (ví dụ không bền với axit hoặc bazơ), nhiệt độ hoặc khi chiếu xạ (ví dụ không bền với ánh sáng) cũng có thể được sử dụng. Các cầu liên kết mà có thể cắt được trong các điều kiện khử hoặc oxi hóa cũng có thể được sử dụng trong sáng chế.

L^1 có thể bao gồm trình tự axit amin liên tục. Trình tự axit amin này có thể là cơ chất đích cho sự phân cắt bằng enzym, do đó cho phép giải phóng R^{10} từ vị trí N10.

Theo một phương án, L^1 có thể cắt được nhờ tác dụng của enzym. Theo một phương án, enzym này là esteaza hoặc peptidaza.

Theo một phương án, L^2 có mặt và cùng với-C(=O)O- tạo ra cầu liên kết tự phân. Theo một phương án, L^2 là cơ chất cho hoạt tính enzym, do đó cho phép giải phóng R^{10} từ vị trí N10.

Theo một phương án, trong đó L^1 có thể cắt được nhờ tác dụng của enzym và L^2 có mặt, enzym cắt liên kết giữa L^1 và L^2.

Về sự liên kết cầu liên kết được chọn với PBD được chọn, nhóm R^C được loại bỏ khỏi vị trí N10 của một số gốc PBD để loại bỏ liên kết N10-C11 imin, carbinolamin, carbinolamin được thế, khi QR^{11} là OSO_3M, sản phẩm cộng bisulfit, thiocarbinolamin, thiocarbinolamin được thế, hoặc carbinalamin được thế.

Theo một phương án, R^C, có thể là nhóm bảo vệ mà có thể loại bỏ được để lại liên kết N10-C11 imin, carbinolamin, cabinolamin được thế, hoặc, trong đó QR^{11} là OSO_3M, sản phẩm cộng bisulfit. Theo một phương án, R^C là nhóm bảo vệ mà có thể được loại bỏ để lại liên kết N10-C11 imin.

Nhóm R^C được dự tính để loại bỏ trong các điều kiện giống như các điều kiền được yêu cầu để loại bỏ nhóm R^{10}, ví dụ để tạo ra liên kết N10-C11 imine, carbinolamin và v.v.. Nhóm gắn mũ hoạt động như là nhóm bảo vệ đối với nhóm chức dự kiến ở vị trí N10. Nhóm gắn mũ được dự định không phản ứng với chất liên kết tế bào. Ví dụ, R^C không giống với R^L.

Các hợp chất có nhóm gắn mũ có thể được sử dụng làm chất trung gian trong tổng hợp dime có monome imin. Theo cách khác, các hợp chất có nhóm gắn mũ có thể được sử dụng làm các thể liên hợp, trong đó nhóm gắn mũ được loại bỏ ở vị trí đích để tạo ra imin, carbinolamin, cabinolamin được thế và v.v.. Do đó, theo phương án này,

nhóm gắn mũ này có thể được gọi là nhóm bảo vệ nitơ loại bỏ được khi điều trị bệnh, như được xác định trong WO 00/12507.

Theo một phương án, nhóm R^C có thể loại bỏ trong các điều kiện cắt cầu liên kết R^L của nhóm R^{10}. Do đó, theo một phương án, nhóm gắn mũ có thể cắt được nhờ tác dụng của enzym.

Theo phương án thay thế, nhóm gắn mũ được loại bỏ trước khi liên kết cầu liên kết R^L với chất điều biến. Theo phương án này, nhóm gắn mũ có thể loại bỏ trong các điều kiện mà không cắt cầu liên kết R^L.

Trong đó hợp chất bao gồm nhóm chức G^1 tạo ra kết nối với tác nhân liên kết tế bào, nhóm gắn mũ có thể loại bỏ trước khi cộng hợp hoặc gỡ bỏ G^1.

Nhóm gắn mũ có thể được sử dụng như một phần của chiến lược nhóm bảo vệ để đảm bảo rằng chỉ một đơn vị monome trong đime được nối với tác nhân liên kết tế bào.

Nhóm gắn mũ này có thể được sử dụng làm nhóm bảo vệ cho liên kết N10-C11 imin. Nhóm gắn mũ có thể được loại bỏ tại thời điểm khi nhóm chức imin được yêu cầu trong hợp chất này. Nhóm gắn mũ cũng là nhóm bảo vệ cho carbinolamin, cabinolamin được thế, và sản phẩm cộng bisulfit, như được mô tả trên đây.

Theo một phương án, R^C là nhóm bảo vệ carbamat.

Theo một phương án, nhóm bảo vệ carbamat được chọn từ:

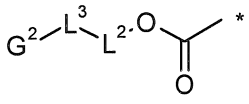
Alloc, Fmoc, Boc, Troc, Teoc, Psec, Cbz và PNZ.

Tùy ý, nhóm bảo vệ carbamat còn được chọn từ Moc.

Theo một phương án, R^C là nhóm R^L cầu liên kết không có nhóm chức để kết nối với tác nhân liên kết tế bào.

Đơn này đặc biệt quan tâm đến các nhóm R^C là carbamat.

Theo một phương án, R^C là nhóm:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào vị trí N10, G^2 là nhóm kết thúc, L^3 là liên kết cộng hóa trị hoặc cầu liên kết phân cắt được L^1, L^2 là liên kết cộng hóa trị hoặc cùng với OC(=O) tạo ra cầu liên kết tự phân.

Trong đó L^3 và L^2 đều là liên kết cộng hóa trị, G^2 và OC(=O) cùng nhau tạo ra nhóm bảo vệ carbamat như được xác định trên đây.

L^1 như được xác định trên đây liên quan đến R^{10}.

L^2 như được xác định trên đây liên quan đến R^{10}.

Nhiều nhóm kết thúc khác nhau được mô tả dưới đây, bao gồm các nhóm dựa trên các nhóm bảo vệ đã biết rõ.

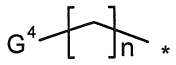
Theo một phương án L^3 là cầu liên kết phân cắt được L^1, và L^2, cùng với OC(=O), tạo ra cầu liên kết tự phân. Theo phương án này, G^2 là Ac (axetyl) hoặc Moc, hoặc nhóm bảo vệ carbamat được chọn từ: Alloc, Fmoc, Boc, Troc, Teoc, Psec, Cbz và PNZ. Tùy ý, nhóm bảo vệ carbamat còn được chọn từ Moc.

Theo phương án khác, G^2 là nhóm axyl -C(=O)G^3, trong đó G^3 được chọn từ alkyl (bao gồm xycloalkyl, alkenyl và alkynyl), heteroalkyl, heteroxyclyl và aryl (bao gồm heteroaryl và carboaryl). Các nhóm này có thể tùy ý được thế. Nhóm axyl cùng với nhóm amino của L^3 hoặc L^2, khi thích hợp, có thể tạo ra liên kết amit. Nhóm axyl cùng với nhóm hydroxyl của L^3 hoặc L^2, khi thích hợp, có thể tạo ra liên kết este.

Theo một phương án, G^3 là heteroalkyl. Nhóm heteroalkyl có thể bao gồm polyetylen glycol. Nhóm heteroalkyl có thể có nguyên tử khác loại, như O hoặc N, liền kề với nhóm axyl, do đó tạo ra nhóm carbamat hoặc carbonat, khi thích hợp, với nguyên tử khác loại có mặt trong nhóm L^3 hoặc L^2, khi thích hợp.

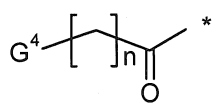
Theo một phương án, G^3 được chọn từ NH_2, NHR và NRR'. Tốt hơn, G^3 là NRR'.

Theo một phương án G^2 là nhóm:



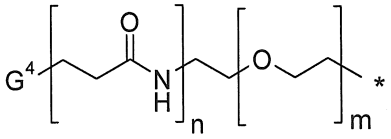
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^3, n là 0 đến 6 và G^4 được chọn từ OH, hoặc, SH, SR, COOR, $CONH_2$, CONHR, CONRR', NH_2, NHR, NRR', NO_2, và halo. Các nhóm OH, SH, NH_2 và NHR được bảo vệ. Theo một phương án, n là 1 đến 6, và tốt hơn n là 5. Theo một phương án, G^4 là hoặc, SR, COOR, $CONH_2$, CONHR, CONRR', và NRR'. Theo một phương án, G^4 là hoặc, SR, và NRR'. Tốt hơn G^4 được chọn từ OR và NRR', tốt nhất là G^4 là OR. Ưu tiên nhất là G^4 là OMe.

Theo một phương án, nhóm G^2 là:



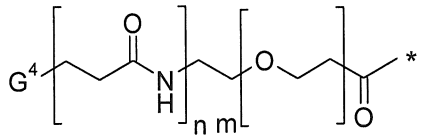
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^3, và n và G^4 là như được xác định trên đây.

Theo một phương án, nhóm G^2 là:



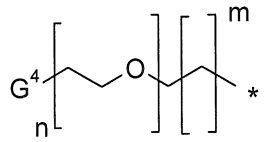
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^3, n là 0 hoặc 1, m là 0 đến 50, và G^4 được chọn từ OH, hoặc, SH, SR, COOR, $CONH_2$, CONHR, CONRR', NH_2, NHR, NRR', NO_2, và halo. Theo phương án ưu tiên, n là 1 và m là 0 đến 10, 1 đến 2, tốt hơn 4 đến 8, và ưu tiên nhất là 4 hoặc 8. Theo phương án khác, n là 1 và m là 10 đến 50, tốt hơn 20 đến 40. Các nhóm OH, SH, NH_2 và NHR được bảo vệ. Theo một phương án, G^4 là hoặc, SR, COOR, $CONH_2$, CONHR, CONRR', và NRR'. Theo một phương án, G^4 là OR, SR, và NRR'. Tốt hơn G^4 được chọn từ hoặc và NRR', tốt nhất là G^4 là OR. Tốt hơn G^4 là OMe.

Theo một phương án, nhóm G^2 là:



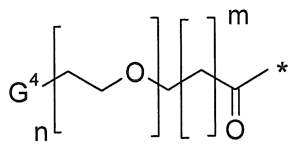
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^3, và n, m và G^4 là như được xác định trên đây.

Theo một phương án, nhóm G^2 là:



trong đó n là 1-20, m là 0-6, và G^4 được chọn từ OH, hoặc, SH, SR, COOR, $CONH_2$, CONHR, CONRR', NH_2, NHR, NRR', NO_2, và halo. Theo một phương án, n là 1-10. Theo phương án khác, n là 10 đến 50, tốt hơn là 20 đến 40. Theo một phương án, n là 1. Theo một phương án, m là 1. Các nhóm OH, SH, NH_2 và NHR được bảo vệ. Theo một phương án, G^4 là OR, SR, COOR, $CONH_2$, CONHR, CONRR', và NRR'. Theo một phương án, G^4 là OR, SR, và NRR'. Tốt hơn G^4 được chọn từ OR và NRR', tốt nhất là G^4 là OR. Tốt hơn G^4 là OMe.

Theo một phương án, nhóm G^2 là:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^3, và n, m và G^4 là như được xác định trên đây.

Trong mỗi phương án trong số các phương án nêu trên, G^4 có thể là OH, SH, NH_2 và NHR. Các nhóm này tốt hơn là được bảo vệ.

Theo một phương án, OH được bảo vệ bằng Bzl, TBDMS, hoặc TBDPS.

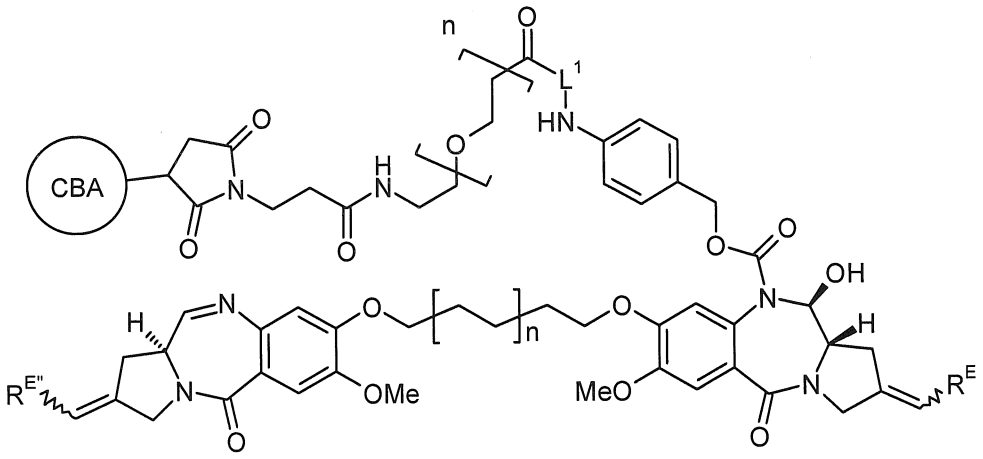
Theo một phương án, SH được bảo vệ bằng Acm, Bzl, Bzl-OMe, Bzl-Me, hoặc Trt.

Theo một phương án, NH_2 hoặc NHR được bảo vệ với Boc, Moc, Z-Cl, Fmoc, Z, hoặc Alloc.

Theo một phương án, nhóm G^2 có mặt kết hợp với nhóm L^3, nhóm này là một đipeptit.

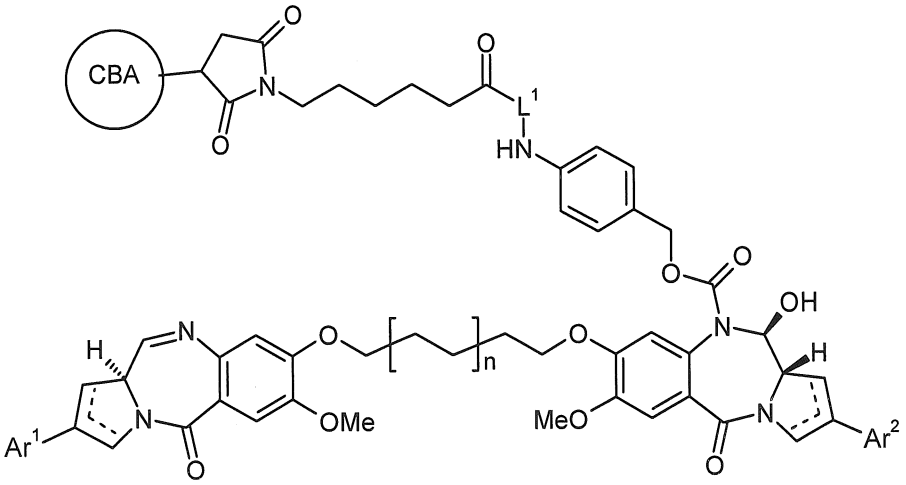
Nhóm gắn mũ không được dự định liên kết với chất điều biến. Do đó, monome còn lại có mặt trong đime này đóng vai trò là điểm liên kết với chất điều biến qua cầu liên kết. Theo đó, ưu tiên nhóm chức có trong nhóm gắn mũ không sẵn có cho phản ứng với chất điều biến. Do đó, các nhóm chức phản ứng như OH, SH, NH_2, COOH tốt hơn là được tránh. Tuy nhiên, nhóm chức này có thể có mặt trong nhóm gắn mũ nếu được bảo vệ, như được mô tả trên đây.

Do đó, theo phần mô tả ở đây, một phương án của sáng chế bao gồm thể liên hợp chứa hợp chất:



trong đó CBA là tác nhân liên kết tế bào/chất điều biến, và n là 0 hoặc 1. L^1 là như được xác định trước đó, và mỗi R^E và $R^{E''}$ độc lập được chọn từ H hoặc R^D.

Theo phương án khác, thể liên hợp bao gồm hợp chất:



trong đó CBA là tác nhân liên kết tế bào/chất điều biến, L^1 là như được xác định trước đó, mỗi Ar^1 và Ar^2 độc lập là C_{5-20} aryl tùy ý được thế, và n là 0 hoặc 1.

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ hiểu rằng các đime PBD đối xứng và bất đối khác và các cầu liên kết thích hợp với sáng chế và có thể được chọn mà không cần qua thực nghiệm dựa trên phần mô tả của sáng chế và tình trạng kỹ thuật của sáng chế.

Khía cạnh khác của sáng chế bao gồm ADC chứa chất đồng vị phóng xạ. Ví dụ về chất đồng vị phóng xạ mà có thể thích hợp với các phương án này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, iốt (^{131}I, ^{125}I, ^{123}I, ^{121}I,), cacbon (^{14}C), đồng (^{62}Cu, ^{64}Cu, ^{67}Cu), lưu huỳnh (^{35}S), triti (^{3}H), inđi (^{115}In, ^{113}In, ^{112}In, ^{111}In,), bitmut (^{212}Bi, ^{213}Bi), tecneti (^{99}Tc), tali (^{201}Ti), gali (^{68}Ga, ^{67}Ga), paladi (^{103}Pd), molypđen (^{99}Mo), xenon (^{133}Xe), fllo (^{18}F), ^{153}Sm, ^{177}Lu, ^{159}Gd, ^{149}Pm, ^{140}La, ^{175}Yb, ^{166}Ho, ^{90}Y, ^{47}Sc, ^{186}Re, ^{188}Re, ^{142}Pr, ^{105}Rh, ^{97}Ru, ^{68}Ge, ^{57}Co, ^{65}Zn, ^{85}Sr, ^{32}P, ^{153}Gd, ^{169}Yb, ^{51}Cr, ^{54}Mn, ^{75}Se, ^{113}Sn, ^{117}Sn, ^{225}Ac, ^{76}Br, và ^{211}At. Các nuclit phóng xạ khác cũng có thể làm tác nhân chẩn đoán và điều trị bệnh, đặc biệt là các hợp chất trong khoảng năng lượng từ 60 đến 4.000 keV. Phụ thuộc tình trạng cần điều trị và profin điều trị mong muốn, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này có thể dễ dàng lựa chọn các đồng vị phóng xạ thích hợp để sử dụng với chất điều biến được mô tả.

Chất điều biến SEZ6 theo sáng chế cũng có thể được liên hợp với gốc điều trị hoặc dược chất mà cải biến đáp ứng sinh học đã cho (ví dụ, chất cải biến đáp ứng sinh học hoặc BRM). Tức là, các tác nhân điều trị hoặc các gốc thích hợp với sáng chế không được hiểu là bị giới hạn vào các chất hóa học điều trị bệnh cổ điển. Ví dụ, theo các phương án đặc biệt ưu tiên, gốc dược chất có thể là protein hoặc polypeptit hoặc

đoạn của nó có hoạt tính sinh học mong muốn. Các protein này có thể bao gồm, ví dụ, độc tố như abrin, rixin A, Onconaza (hoặc ARNaza gây độc tế bào khác), ngoại độc tố từ pseudomonas, độc tố khuẩn tả, hoặc độc tố bạch hầu; protein như 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, yếu tố hoạt hóa plasminogen của mô, tác nhân gây chết tế bào theo chương trình, ví dụ, TNF-α, TNF-β, AIM I (xem, Công bố đơn quốc tế số WO 97/33899), AIM II (xem, Công bố đơn quốc tế số WO 97/34911), Phối tử Fas (Takahashi et al., 1994, J. Immunol., 6:1567), và VEGI (xem, Công bố đơn quốc tế số WO 99/23105), chất làm tan huyết khối hoặc chất chống tạo mạch, ví dụ, angiostatin hoặc endostatin; hoặc, chất cải biến đáp ứng sinh học như, ví dụ, lymphôkin (ví dụ, interleukin-1 ("IL-1"), interleukin-2 ("IL-2"), interleukin-6 ("IL-6"), yếu tố kích thích quần thể đại thực bào và bạch cầu hạt ("GM-CSF"), và yếu tố kích thích quần thể bạch cầu hạt ("G-CSF")), hoặc yếu tố sinh trưởng (ví dụ, hormon sinh trưởng ("GH")). Như nêu trên, các phương pháp dung hợp hoặc liên hợp chất điều biến với các gốc polypeptit là đã biết trong lĩnh vực này. Ngoài ra để viện dẫn đến các đối tượng đã được mô tả trước đây, xem, ví dụ, các bằng Mỹ số 5,336,603; 5,622,929; 5,359,046; 5,349,053; 5,447,851, và 5,112,946; EP 307,434; EP 367,166; Công bố đơn PCT WO 96/04388 và WO 91/06570; Ashkenazi et al., 1991, PNAS USA 88:10535; Zheng et al., 1995, J Immunol 154:5590; và Vil et al., 1992, PNAS USA 89:11337 mỗi tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Hơn nữa, như nêu trên liên hợp của chất điều biến với các gốc này không cần thiết phải là liên hợp trực tiếp, mà có thể xảy ra thông qua các trình tự cầu liên kết. Như đã đề cập trên đây, các phân tử cầu liên kết này đã được biết rõ trong lĩnh vực này và được mô tả trong Denardo et al., 1998, Clin Cancer Res 4:2483; Peterson et al., 1999, Bioconjug Chem 10:553; Zimmerman et al., 1999, Nucl Med Biol 26:943; Garnett, 2002, Adv Drug Deliv Rev 53:171 mỗi tài liệu được đưa vào đây.

IX. Chẩn đoán và sàng lọc

A. Chẩn đoán

Theo các phương án khác nữa, sáng chế đề xuất các phương pháp *in vitro* hoặc *in vivo* để phát hiện, chẩn đoán hoặc theo dõi các rối loạn tăng sinh và các phương pháp sàng lọc tế bào từ bệnh nhân để nhận dạng tế bào tạo u bao gồm CSC. Các phương pháp này bao gồm xác định bệnh nhân mắc bệnh ung thư để điều trị hoặc theo

dõi diễn biến của bệnh ung thư bao gồm việc cho bệnh nhân hoặc mẫu thu được từ bệnh nhân (tức là hoặc *in vivo* hoặc *in vitro*) tiếp xúc với chất điều biến như được mô tả ở đây và phát hiện sự có mặt hoặc vắng mặt hoặc mức độ liên hợp của chất điều biến đã liên kết hoặc các phân tử đích tự do trong mẫu này. Theo các phương án đặc biệt ưu tiên, chất điều biến này bao gồm nhãn có thể phát hiện được hoặc phân tử chỉ thị như được mô tả ở đây.

Theo một số phương án, sự liên hợp của chất điều biến, như kháng thể, với tế bào cụ thể trong mẫu này có thể cho biết mẫu này có thể chứa CSC, do đó chỉ ra rằng bệnh nhân mắc bệnh ung thư này có thể được điều trị hiệu quả bằng chất điều biến như được mô tả ở đây. Các phương pháp này có thể còn bao gồm bước so sánh mức độ liên kết với đối chứng. Ngược lại, khi chất điều biến là cấu trúc Fc, các đặc tính liên kết có thể được khai thác và theo dõi (trực tiếp hoặc gián tiếp, *in vivo* hoặc *in vitro*) khi tiếp xúc với mẫu này để cung cấp các thông tin mong muốn.

Ví dụ về các phương pháp thử nghiệm thích hợp bao gồm thử nghiệm miễn dịch phóng xạ, thử nghiệm miễn dịch enzym, thử nghiệm liên kết cạnh tranh, thử nghiệm miễn dịch huỳnh quang, thử nghiệm thấm tách miễn dịch, thử nghiệm thấm tách Tây, thử nghiệm đếm tế bào theo dòng chảy, và ELISA. Chẩn đoán điều trị hoặc chẩn đoán *in vivo* thích hợp có thể bao gồm các kỹ thuật chụp ảnh đã được thừa nhận trong lĩnh vực này hoặc các kỹ thuậto dõi như chụp cộng hưởng từ, chụp cắt lớp vi tính (ví dụ quét CAT), chụp cắt lớp positron (ví dụ, quét PET) chụp X quang, siêu âm, v.v.., đã được biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp phân tích diễn biến của bệnh ung thư và/hoặc sinh bệnh học *in vivo*. Theo phương án khác, phân tích diễn biến của bệnh ung thư và/hoặc sinh bệnh học *in vivo* bao gồm xác định mức độ diễn biến của khối u. Theo phương án khác, phân tích bao gồm nhận diện khối u. Theo phương án khác, phân tích diễn biến của khối u được thực hiện trên khối u gốc. Theo phương án khác, phân tích được thực hiện theo thời gian tùy thuộc vào loại bệnh ung thư đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này. Theo phương án khác, việc phân tích thêm các khối u thứ cấp bắt nguồn từ các tế bào di căn của khối u gốc được phân tích *in vivo*. Theo phương án khác, kích thước và hình dạng của các khối u thứ cấp được phân tích. Theo một số phương án, phân tích *ex vivo* thêm được thực hiện.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp phân tích diễn biến của bệnh ung thư và/hoặc sinh bệnh học *in vivo* bao gồm xác định sự di căn của tế bào hoặc phát hiện và định lượng mức độ tuần hoàn tế bào khối u. Theo phương án khác nữa, phân tích sự di căn của tế bào bao gồm xác định sự phát triển lũy tiến của tế bào ở vị trí mà cách xa khối u gốc. Theo phương án khác, vị trí của việc phân tích sự di căn của tế bào bao gồm đường phát tán tế bào khối u. Theo một số phương án, các tế bào có thể phát tán qua hệ mạch máu, bạch huyết trong các khoang cơ thể hoặc tổ hợp của các đường này. Theo phương án khác, phân tích sự di căn của tế bào được thực hiện khi xem xét sự di trú tế bào, phát tán, thoát mạch, tăng sinh hoặc kết hợp của chúng.

Do đó, theo phương án đặc biệt ưu tiên, chất điều biến theo sáng chế có thể được sử dụng để phát hiện và định lượng các mức SEZ6 trong mẫu của bệnh nhân (ví dụ, huyết tương hoặc máu) mà các mức này lại có thể được sử dụng để phát hiện, chẩn đoán hoặc theo dõi các rối loạn liên quan đến SEZ6 bao gồm các rối loạn tăng sinh. Theo các phương án liên quan, chất điều biến theo sáng chế có thể được sử dụng để phát hiện, theo dõi và/hoặc định lượng tế bào khối u đang tuần hoàn *in vivo* hoặc *in vitro* (xem, ví dụ, WO 2012/0128801 được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Theo các phương án ưu tiên khác nữa tế bào khối u đang tuần hoàn có thể bao gồm tế bào gốc ung thư.

Trong một số ví dụ, tế bào tạo u trong đối tượng hoặc mẫu từ đối tượng có thể có thể được đánh giá hoặc xác định đặc trưng nhờ sử dụng chất điều biến được mô tả trước liệu pháp điều tị hoặc phác đồ để thiết lập đường cơ sở. Trong ví dụ khác, mẫu này thu được từ đối tượng đã được điều trị. Trong một số ví dụ, mẫu này được lấy từ đối tượng ở thời điểm ít nhất khoảng 1, 2, 4, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 15, 16, 18, 20, 30, 60, 90 ngày, 6 tháng, 9 tháng, 12 tháng, hoặc >12 tháng sau khi đối tượng bắt đầu hoặc kết thúc điều trị điều trị. Trong một số ví dụ, tế bào tạo u được đánh giá hoặc xác định đặc trưng sau một số liều (ví dụ, sau 2, 5, 10, 20, 30 hoặc nhiều hơn liều thuốc điều trị). Trong ví dụ khác, tế bào tạo u được xác định đặc trưng hoặc đánh giá sau 1 tuần, 2 tuần, 1 tháng, 2 tháng, 1 năm, 2 năm, 3 năm, 4 năm hoặc lâu hơn sau khi nhận một hoặc nhiều liệu pháp điều trị.

Theo khía cạnh khác, và như được thảo luận chi tiết hơn dưới đây, sáng chế đề xuất kit để phát hiện, theo dõi hoặc chẩn đoán rối loạn tăng sinh quá mức, xác định đối tượng mắc rối loạn này để có thể điều trị hoặc theo dõi sự phát triển (hoặc thoái lui)

của rối loạn ở bệnh nhân, trong đó kit này bao gồm chất điều biến như được mô tả ở đây, và chất phản ứng để phát hiện tác động của chất điều biến lên mẫu.

Một khía cạnh khác nữa của sáng chế bao gồm việc sử dụng các SEZ6 được gắn nhãn cho kỹ thuật hóa mô miễn dịch (IHC). Về khía cạnh này, SEZ6 IHC có thể được sử dụng làm công cụ chẩn đoán để hỗ trợ việc chẩn đoán các rối loạn tăng sinh khác nhau và theo dõi đáp ứng tiềm năng với các phép điều trị bao gồm liệu pháp chất điều biến SEZ6. Các thử nghiệm chẩn đoán thích hợp có thể được thực hiện trên mô đã được cố định hóa học (bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở: formaldehyt, gluteraldehyt, osmium tetroxit, kali diclomat, axit axetic, rượu, muối kẽm, thủy ngân clorua, crôm tetroxit và axit picric) và được ngâm (bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở: glycol metacrylat, paraffin và resin) hoặc được bảo quản bằng cách đông lạnh. Như được thảo luận chi tiết hơn dưới đây, các thử nghiệm này có thể được sử dụng để hướng dẫn quyết định điều trị và xác định phác đồ liều dùng và thời gian điều trị.

B. Sàng lọc

Theo một số phương án, chất điều biến cũng có thể được sử dụng để sàng lọc hoặc nhận diện các hợp chất hoặc tác nhân (ví dụ, dược chất) mà làm thay đổi chức năng hoặc hoạt tính của tế bào tạo u hoặc tế bào con của nó bằng cách tương tác với kháng nguyên (ví dụ, thành phần kiểu gen hoặc kiểu hình của nó). Các hợp chất và tác nhân này có thể là ứng viên dược chất mà được sàng lọc để điều trị rối loạn tăng sinh, ví dụ. Theo một phương án, hệ thống và phương pháp bao gồm các tế bào tạo u chứa SEZ6 và hợp chất hoặc tác nhân (ví dụ, dược chất), trong đó các tế bào và hợp chất hoặc tác nhân này tiếp xúc với nhau. Trong các phương án này, tế bào của đối tượng có thể được nhận diện, theo dõi và/hoặc làm giàu nhờ sử dụng chất điều biến được mô tả.

Theo phương án khác nữa, phương pháp bao gồm chotế bào tạo u hoặc thế hệ con của nó tiếp xúc trực tiếp hoặc gián tiếp với tác nhân hoặc hợp chất thử nghiệm và xác định tác nhân hoặc hợp chất thử nghiệm này có điều biến được hoạt tính hoặc chức năng của tế bào tạo u liên hợp kháng nguyên hay không. Ví dụ về tương tác trực tiếp là tương tác vật lý, trong khi tương tác gián tiếp bao gồm tác dụng của chế phẩm trên phân tử trung gian, phân tử này lại tác động trên thực thể tham chiếu (ví dụ, tế bào hoặc môi trường nuôi cấy tế bào). Ví dụ về các hoạt tính hoặc chức năng mà có thể được điều biến bao gồm sự thay đổi về hình thái hoặc khả năng sống sót của tế bào, sự

biểu hiện của chất đánh dấu, biệt hóa hoặc khử biệt hóa, hô hấp tế bào, hoạt động của ti thể, tích hợp vào màng, sự trưởng thành, tăng sinh, khả năng sống sót, sự chết tế bào theo chương trình hoặc sự chết tế bào.

Các phương pháp sàng lọc và xác định tác nhân và các hợp chất bao gồm các phương pháp thích hợp để sàng lọc quy mô lớn, bao gồm dãy phản ứng của tế bào (ví dụ, các vi dãy phản ứng) được định vị hoặc đặt, tùy ý ở các vị trí hoặc địa điểm xác định trước. Ví dụ, tế bào có thể được định vị hoặc đặt (cấy trước) trên đĩa, ống, bình, chai nuôi cấy tế bào hoặc đĩa nuôi cấy (ví dụ, đĩa đơn nhiều giếng như đĩa 8, 16, 32, 64, 96, 384 và 1536 giếng). Các phương pháp xử lý bằng robot hoặc bằng tay quy mô lớn có thể thăm dò các tương tác hóa học và xác định các mức biểu hiện của nhiều gen trong khoảng thời gian ngắn. Các kỹ thuật đã phát triển mà sử dụng các tín hiệu phân tử (ví dụ, qua flophore) và các phân tích tự động mà xử lý thông tin với tốc độ nhanh (xem, ví dụ, Pinhasov *et al.*, Comb. Chem. High Throughput Screen. 7:133 (2004)). Ví dụ, kỹ thuật vi tdãy phản ứng đã được sử dụng rộng rãi để thăm dò các tương tác của hàng nghìn gen cùng một lúc, trong khi cung cấp thông tin cho các gen đặc hiệu (xem, ví dụ, Mocellin and Rossi, Adv. Exp. Med. Biol. 593:19 (2007)).

Các thư viện mà có thể được sàng lọc bao gồm, ví dụ, các thư viện phân tử nhỏ, thư viện biểu hiện thực khuẩn thể, thư viện biểu hiện nấm men kháng thể hoàn toàn của người (Adimab, LLC), thư viện siARN, và các vectơ chuyển nhiễm adenovirut.

X. Các dược phẩm và ứng dụng điều trị

A. Các dạng bào chế và đường dùng

Tùy theo dạng của chất điều biến cùng với thể liên hợp tùy ý bất kỳ, cách thức phân phối được dự tính, bệnh cần điều trị hoặc theo dõi và nhiều biến đổi khác nhau, chế phẩm theo sáng chế có thể được bào chế theo mong muốn nhờ sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này. Theo một số phương án, chế phẩm điều trị bệnh theo sáng chế có thể được sử dụng nguyên chất hoặc với lượng nhỏ các thành phần bổ sung trong khi các chế phẩm khác có thể tùy ý được bào chế để chứa chất mang dược dụng thích hợp bao gồm tá dược và chất bổ trợ mà đã biết trong lĩnh vực này (xem, ví dụ, Gennaro, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus*, 20th ed. (2003); Ansel *et al.*, *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,* 7th ed., Lippencott Williams and Wilkins (2004); Kibbe *et al.*, *Handbook of Pharmaceutical Excipients,* 3rd ed., Pharmaceutical

Press (2000)). Chất mang dược dụng khác nhau, bao gồm chất mang lỏng, các tá dược, và chất pha loãng, dễ dàng sẵn có từ các nguồn thương mại khác nhau. Hơn nữa, việc phân loại chất phụ trợ dược dụng, như chất điều chỉnh độ pH và chất đệm, chất điều chỉnh độ trương, chất ổn định, chất làm ướt và tương tự, cũng có sẵn. Một số chất mang ví dụ không giới hạn bao gồm nước muối, nước muối đệm, dextroza, nước, glyxerol, etanol, và hỗn hợp của chúng.

Cụ thể hơn cần phải hiểu rằng, theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng nguyên chất hoặc với lượng tối thiểu các thành phần bổ sung. Ngược lại, chất điều biến SEZ6 theo sáng chế có thể tùy ý được bào chế để chứa chất mang dược dụng thích hợp bao gồm tá dược và chất bổ trợ đã được biết trong lĩnh vực này và là chất tương đối trơ mà tạo điều kiện thuận lợi cho việc sử dụng chất điều biến hoặc giúp cho việc xử lý các hoạt chất thành các chế phẩm mà được tối ưu hóa về dược lý để phân phối đến các vị trí tác dụng. Ví dụ, tá dược có thể tạo hình hoặc làm đồng nhất hoặc tác dụng như một chất pha loãng để cải thiện dược động học hoặc độ ổn định của chất điều biến. Tá dược hoặc chất phụ gia thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất làm ổn định, chất làm ẩm và chất nhũ hóa, muối để thay đổi nồng độ mol, tác nhân bao nang, đệm, và chất tăng cường thẩm thấu qua da. Theo một số phương án ưu tiên, dược phẩm này có thể được cung cấp dưới dạng đông khô và được hoàn nguyên, ví dụ, trong nước muối được đệm trước khi sử dụng.

Chất điều biến được mô tả để sử dụng toàn thân có thể được bào chế để sử dụng bằng đường tiêu hóa, ngoài đường tiêu hóa hoặc khu trú. Thực vậy, cả ba dạng bào chế đều có thể được sử dụng đồng thời để đạt được việc sử dụng toàn thân thành phần hoạt chất. Tá dược cũng như dạng bào chế để phân phối dược chất qua đường tiêu hóa và ngoài đường tiêu hóa được nêu trong Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. Mack Publishing (2000). Các chế phẩm thích hợp để sử dụng ngoài đường tiêu hóa bao gồm dung dịch nước chứa các hoạt chất ở dạng hòa tan trong nước, ví dụ, muối tan trong nước. Ngoài ra, huyền phù chứa các hoạt chất thích hợp cho huyền phù tiêm dạng dầu có thể được sử dụng. Các dung môi ưa lipit hoặc các tá dược lỏng thích hợp bao gồm dầu béo, ví dụ, poly(lactide) được thế hexyl, dầu hạt vừng, hoặc este của axit béo tổng hợp, ví dụ, etyl oleat hoặc triglyxerit. Huyền phù tiêm trong nước có thể chứa chất làm tăng độ nhớt của huyền phù và bao gồm, ví dụ, natri carboxymetyl xenluloza, sorbitol, và/hoặc dextran. Tùy ý, huyền phù này có thể còn

chứa chất làm ổn định. Liposom cũng có thể được sử dụng để bao nang chất để phân phối vào trong tế bào.

Các chế phẩm thích hợp để sử dụng qua tiêu hóa bao gồm viên nang gelatin cứng hoặc viên nang gelatin mềm, viên tròn, viên nén, bao gồm viên nén được bao, cồn ngọt, hỗn dịch, siro hoặc thuốc xông hít và chế phẩm giải phóng có kiểm soát của chúng.

Nhìn chung các hợp chất và chế phẩm theo sáng chế, chứa chất điều biến SEZ6 có thể được sử dụng *in vivo,* cho đối tượng cần điều trị, bằng nhiều đường khác nhau, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, đường miệng, trong tĩnh mạch, trong động mạch, dưới da, ngoài đường tiêu hóa, trong mũi, trong cơ, trong sọ, trong tim, trong thất, trong khí quản, miệng, trực tràng, trong màng bụng, trong da, khu trú, qua da, và trong tủy, hoặc theo cách khác bằng cách cấy dưới da hoặc xông hít. Chế phẩm theo sáng chế có thể được bào chế thành chế phẩm dạng rắn, bán rắn, lỏng, hoặc khí; bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, viên nén, viên nang, thuốc bột, thuốc hạt, thuốc mỡ, dung dịch, thuốc đạn, thuốc thụt, thuốc tiêm, thuốc xông hít, và khí dung. Dạng bào chế và đường sử dụng thích hợp có thể được chọn theo ứng dụng và phác đồ điều trị dự kiến.

B. Liều lượng

Tương tự, phác đồ liều dùng cụ thể, tức là, liều, thời gian sử dụng và việc nhắc lại, sẽ phụ thuộc và cá nhân cụ thể và tiền sử bệnh của cá nhân đó, cũng như sự cân nhắc theo kinh nghiệm như dược động học (ví dụ, thời gian bán hủy, tốc độ thanh thải, v.v..). Tần suất sử dụng có thể được xác định và điều chỉnh trong suốt thời gian điều trị, và dựa trên tác dụng làm giảm số lượng tế bào tăng sinh hoặc tế bào tạo u, duy trì tác dụng làm giảm tế bào tạo u này, làm giảm sự tăng sinh của tế bào tạo u, hoặc làm chậm sự phát triển di căn. Theo các phương án khác liều được sử dụng có thể được điều chỉnh hoặc giảm để kiểm soát các tác dụng phụ và/hoặc độc tính có thể. Theo cách khác, chế phẩm giải phóng liên tục duy trì của dược phẩm theo sáng chế có thể là thích hợp.

Nhìn chung, chất điều biến theo sáng chế có thể được sử dụng ở nhiều khoảng liều khác nhau. Các khoảng này bao gồm khoảng 10 µg/kg thể trọng đến khoảng 100 mg/kg thể trọng mỗi liều; khoảng 50 µg/kg thể trọng đến khoảng 5 mg/kg thể trọng mỗi liều; khoảng 100 µg/kg thể trọng đến khoảng 10 mg/kg thể trọng mỗi liều. Các

khoảng liều khác bao gồm khoảng 100 µg/kg thể trọng đến khoảng 20 mg/kg thể trọng mỗi liều và khoảng 0,5 mg/kg thể trọng đến khoảng 20 mg/kg thể trọng mỗi liều. Theo một số phương án, liều này ít nhất là khoảng 100 µg/kg thể trọng, ít nhất khoảng 250 µg/kg thể trọng, ít nhất khoảng 750 µg/kg thể trọng, ít nhất khoảng 3 mg/kg thể trọng, ít nhất khoảng 5 mg/kg thể trọng, ít nhất khoảng 10 mg/kg thể trọng.

Theo các phương án đã chọn, chất điều biến được sử dụng với liều khoảng 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 hoặc 100 µg/kg thể trọng mỗi liều. Các phương án khác bao gồm việc sử dụng chất điều biến với liều 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800 hoặc 900 µg/kg thể trọng mỗi liều. Theo các phương án ưu tiên khác, chất điều biến được mô tả sẽ được sử dụng với liều 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 hoặc 10 mg/kg. Theo các phương án khác nữa, chất điều biến có thể được sử dụng với liều 12, 14, 16, 18 hoặc 20 mg/kg thể trọng mỗi liều. Theo các phương án khác nữa, chất điều biến có thể được sử dụng với liều 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 90 hoặc 100 mg/kg thể trọng mỗi liều. Theo mô tả của sáng chế, cần phải hiểu rằng các liều nêu trên có thể áp dụng cho cả chất điều biến không liên hợp và chất điều biến liên hợp với chất gây độc tế bào. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này có thể dễ dàng xác định liều thích hợp cho chất điều biến được liên hợp và chất điều biến không liên hợp khác nhau dựa trên các nghiên cứu cận lâm sàng trên động vật, những quan sát trên lâm sàng và các kỹ thuật và phép đo dược và hóa sinh chuẩn.

Liên quan đến chất điều biến liên hợp, các phương án được ưu tiên cụ thể bao gồm liều nằm trong khoảng 50 µg/kg đến khoảng 5 mg/kg thể trọng mỗi liều. Về vấn đề này, chất điều biến liên hợp có thể được sử dụng với liều 50, 75 hoặc 100 µg/kg hoặc với liều 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 hoặc 1 mg/kg thể trọng mỗi liều. Theo các phương án ưu tiên khác, chất điều biến liên hợp theo sáng chế có thể được sử dụng với liều 1,25, 1,5, 1,75, 2, 2,25, 2,5, 2,75, 3, 3,25, 3,5, 3,75, 4, 4,25, 4,5, 4,75 hoặc 5 mg/kg thể trọng mỗi liều. Theo các phương án đặc biệt ưu tiên liều chất điều biến liên hợp này được sử dụng trong tĩnh mạch trong một khoảng thời gian. Hơn nữa, các liều này có thể được sử dụng nhiều lần trong thời gian điều trị xác định.

Các phác đồ liều dùng khác có thể được xác định đựa trên phép tính diện tích bề mặt cơ thể (Body Surface Area (BSA)) như được mô tả trong trong bằng Mỹ số 7.744.877. Như đã biết rõ, BSA được tính bằng cách sử dụng chiều cao và thể trọng của bệnh nhân và đưa ra số đo về kích thước của bệnh nhân được biểu thị bằng diện

dích bề mặt của cơ thể bệnh nhân. Theo một số phương án, chất điều biến này có thể được sử dụng với liều từ 10 mg/m^2 đến 800 mg/m^2, từ 50 mg/m^2 đến 500 mg/m^2 và với liều dung 100 mg/m^2, 150 mg/m^2, 200 mg/m^2, 250 mg/m^2, 300 mg/m^2, 350 mg/m^2, 400 mg/m^2 hoặc 450 mg/m^2.

Cần phải hiểu rằng các kỹ thuật đã được công nhận trong lĩnh vực này và các kỹ thuật dựa trên kinh nghiệm có thể được sử dụng để xác định liều thích hợp cho chất điều biến liên hợp (tức là, ADC).

Trong trường hợp bất kỳ, chất điều biến SEZ6 (cả liên hợp và không liên hợp) tốt hơn là được sử dụng theo nhu cầu cho đối tượng cần điều trị. Việc xác định tần suất sử dụng có thể được thực hiện bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này, như bác sỹ tham gia điều trị dựa trên sự cân nhắc về trình trạng bệnh lý cần điều trị, tuổi của đối tượng cần điều trị, mức độ trầm trọng của tình trạng cần điều trị, tình trạng sức khỏe chung của đối tượng cần điều trị và tương tự. Nhìn chung, liều hữu hiệu của chất điều biến SEZ6 này được sử dụng cho đối tương một hoặc nhiều lần. Cụ thể hơn, liều hữu hiệu của chất điều biến được sử dụng cho đối tượng một lần một tháng, nhiều hơn một lần một tháng, hoặc ít hơn một lần một tháng. Theo một số phương án nhất định, liều hữu hiệu của chất điều biến SEZ6 này có thể được sử dụng nhiều lần, bao gồm trong các khoảng thời gian ít nhất một tháng, ít nhất sáu tháng, ít nhất một năm, ít nhất hai năm hoặc thời gian vài năm. Theo các phương án khác nữa, vài ngày (2, 3, 4, 5, 6 hoặc 7), vài tuần (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 hoặc 8) hoặc vài tháng (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 hoặc 8) hoặc thậm chí một năm hoặc vài năm có thể xen vào giữa quá trình sử dụng chất điều biến được mô tả.

Theo một số phương án ưu tiên, liệu trìnhđiều trị liên quan đến chất điều biến liên hợp sẽ bao gồm nhiều liều dược phẩm được chọn (tức là, ADC) trong khoảng thời gian nhiều tuần hoặc tháng. Cụ thể hơn, chất điều biến liên hợp theo sáng chế có thể được sử dụng một lần mỗi ngày, mỗi hai ngày, mỗi bốn ngày, mỗi vài tuần, mỗi tuần, mỗi mười ngày, mỗi hai tuần, mỗi ba tuần, mỗi tháng, mỗi sáu tuần, mỗi hai tháng, mỗi mười tuần hoặc mỗi ba tháng. Về vấn đề này cần phải hiểu rằng các liều này có thể được thay đổi hoặc khoảng cách giữa các liều có thể được điều chỉnh dựa trên đáp ứng của bệnh nhân và thực hành lâm sàng.

Liều dùng và phác đồ cũng có thể được xác định theo kinh nghiệm cho các dược phẩm đã được mô tả ở các cá thể đã sử dụng chế phẩm một hoặc nhiều lần. Ví

dụ, các cá thể có thể nhận được liều tăng dần của dược phẩm như được mô tả ở đây. Theo các phương án đã chọn, liều này có thể tăng dần hoặc giảm hoặc yếu dần tương ứng dựa trên các tác dụng phụ hoặc độc tính quan sát được hoặc xác định được theo kinh nghiệm. Để đánh giá hiệu quả của chế phẩm được chọn, chất chỉ thị của bệnh, rối loạn hoặc tình trạng cụ thể có thể được theo dõi như được mô tả trên đây. Theo các phương án, trong đó cá thể này mắc bệnh ung thư, các phương án này bao gồm các phép đo trực tiếp kích thước khối u qua sờ nắn hoặc quan sát bằng mắt, đo gián tiếp kích thước khối u bằng kỹ thuật chụp X quang hoặc các kỹ thuật chụp ảnh khác; sự cải thiện như được đánh giá bằng sinh thiết khối u trực tiếp và kiểm tra dưới kính hiển vi mẫu mô; đo chất chỉ thị khối u gián tiếp (ví dụ, PSA đối với ung thư tuyến tiền liệt) hoặc kháng nguyên được nhận diện theo các phương pháp được mô tả ở đây, giảm đau hoặc tê liệt; cải thiện khả năng nói, quan sát, nhịp thở hoặc tình trạng ốm yếu bệnh tật khác đi kèm theo khối u, tăng cảm giảm thèm ăn; hoặc nâng cao chất lượng sự sống như được đo bằng các thử nghiệm chấp nhận được hoặc kéo dài sự sống. Hiển nhiên với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này làliều này sẽ thay đổi phụ thuộc vào bệnh nhân, loại bệnh tạo u, giai đoạn bệnh, tình trạng bệnh ung thư đã bắt đầu di căn đến vị trí khác của cơ thể hay chưa, và các điều trị trước đây và hiện đang được sử dụng.

C. Các liệu pháp kết hợp

Liệu pháp kết hợp có thể đặc biệt hữu dụng để làm giảm hoặc ức chế sự tăng sinh tế bào khối u không mong muốn, làm giảm sự tái phát bệnh ung thư, làm giảm hoặc phòng ngừa sự tái phát bệnh ung thư, hoặc làm giảm hoặc phòng ngừa sự phát tán hoặc di căn của ung thư. Trong các trường hợp này, chất điều biến theo sáng chế có thể có tác dụng như các tác nhân làm tăng độ nhạy hoặc làm tăng độ nhạy với hóa chất bằng cách loại bỏ CSC hỗ trợ và duy trì khối u và do đó cho phép sử dụng hiệu quả hơn các tiêu chuẩn hiện hành về loại bỏ khối u và các chất chống ung thư. Tức là, chất điều biến được mô tả có thể, theo một số phương án, gây ra tác dụng tăng cường (ví dụ, có bản chất cộng hợp hoặc hiệp đồng) làm tăng hiệu quả của cơ chế tác dụng của các dược chất. Trong phạm vi của sáng chế, "liệu pháp kết hợp" được hiểu một cách rộng rãi và chỉ đề cập đến việc sử dụng chất điều biến và một hoặc nhiều chất chống ung thư mà bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất gây độc tế bào, chất kìm tế bào, chất chống tạo mạch, chất loại bỏ khối, các chất hóa trị liệu, xạ trị và các chất

xạ trị, chất chống ung thư hướng đích (bao gồm cả kháng thể đơn dòng và các phân tử nhỏ), BRM, các kháng thể điều trị, vacxin chống ung thư, xytokin, liệu pháp hormon, liệu pháp xạ trị và tác nhân chống di căn và các chất điều trị miễn dịch, bao gồm cả phương pháp đặc hiệu và không đặc hiệu.

Không yêu cầu các kết quả kết hợp phải là cộng hợp các tác dụng quan sát được khi mỗi điều trị (ví dụ, kháng thể và chất chống ung thư) được thực hiện riêng biệt. Mặc dù các tác dụng cộng hợp thường được mong muốn, cũng có lợi khi tác dụng chống khối u được gia tăng bất kỳ, mạnh hơn tác dụng của một trong số các liệu pháp đơn này. Hơn nữa, sáng chế không đòi hỏi điều trị kết hợp phải biểu hiện tác dụng hiệp đồng. Tuy nhiên, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này cần phải hiểu rằng với một số liệu pháp kết hợp được chọn mà bao gồm các phương án ưu tiên, tác dụng hiệp đồng là có thể quan sát được.

Trong thực hành liệu pháp kết hợp, chất điều biến và chất chống ung thư có thể được sử dụng cho đối tượng một cách đồng thời, trong một chế phẩm duy nhất, hoặc bằng hai hoặc nhiều chế phẩm riêng biệt có các đường sử dụng giống hoặc khác nhau. Theo cách khác, chất điều biến này có thể được sử dụng trước, hoặc sau, liệu pháp điều trị bằng chất điều trị chống ung thư, ví dụ, các khoảng thời gian từ vài phút đến tuần. Khoảng thời gian giữa mỗi lần phân phối sao cho chất chống ung thư và chất điều biến có thể gây ra tác dụng kết hợp trên khối u. Trong ít nhất một phương án, cả chất chống ung thư và chất điều biến được sử dụng cách nhau khoảng 5 phút đến khoảng hai tuần. Theo các phương án khác nữa, vài ngày (2, 3, 4, 5, 6 hoặc 7), vài tuần (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 hoặc 8) hoặc vài tháng (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 hoặc 8) có thể cách quãng giữa việc sử dụng chất điều biến và chất chống ung thư.

Liệu pháp kết hợp có thể được sử dụng một lần, hai lần hoặc ít nhất trong một khoảng thời gian cho đến khi tình trạng này được điều trị, thuyên giảm hoặc chữa khỏi. Theo một số phương án, liệu pháp kết hợp được sử dụng nhiều lần, ví dụ, từ ba lần mỗi ngày đến một lần mỗi sáu tháng. Việc sử dụng này có thể theo lịch trình như ba lần mỗi ngày, hai lần mỗi ngày, một lần mỗi ngày, một lần mỗi hai ngày, một lần mỗi ba ngày, một lẫn mỗi tuần, một lẫn mỗi hai tuần, một lần mỗi tháng, một lần mỗi hai tháng, một lần mỗi ba tháng, một lần mỗi sáu tháng hoặc có thể được sử dụng liên tục bằng bơm nhỏ. Liệu pháp kết hợp có thể được sử dụng qua đường bất kỳ, như

được lưu ý trên đây. Liệu pháp kết hợp có thể được sử dụng ở vị trí xa so với vị trí của khối u.

Theo một phương án, chất điều biến được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều chất chống ung thư cho chu kỳ điều trị ngắn ngày cho đối tượng cần điều trị. Sáng chế còn dự tính việc sử dụng không liên tục hoặc các liều hàng ngày được chia nhỏ thành vài phần sử dụng. Chất điều biến và chất chống ung thư có thể được sử dụng thay đổi nhau, trên ngày hoặc tuần luân phiên; hoặc trình tự của kháng thể điều trị có thể được đưa ra, tiếp theo là một hoặc nhiều điều trị của liệu pháp dùng chất chống ung thư. Trong bất kỳ trường hợp nào, như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này, liều thích hợp của các chất hóa trị liệu thường sẽ xoay quanh các liều đã được sử dụng trong các liệu pháp lâm sàng, trong đó chất hóa trị liệu này được sử dụng một mình hoặc kết hợp với chất hóa trị liệu khác.

Theo phương pháp được ưu tiên khác, chất điều biến SEZ6 theo sáng chế có thể được sử dụng trong liệu pháp duy trì để làm giảm hoặc loại bỏ khả năng tái phát khối u sau biểu hiện ban đầu của bệnh. Tốt hơn, nếu rối loạn này đã được điều trị và khối u ban đầu được loại bỏ, giảm hoặc theo cách khác cải thiện nhờ đó bệnh nhân này không có triệu chứng hoặc thuyên giảm. Tại thời điểm đó, đối tượng này có thể được sử dụng các chất điều biến đã được mô tả với lượng có tác dụng dược lý một hoặc nhiều lần mặc dù có ít hoặc không có biểu hiện của bệnh nhờ sử dụng các quy trình chẩn đoán chuẩn. Theo một số phương án, chất điều biến này sẽ được sử dụng theo lịch thường xuyên trong một khoảng thời gian, như hàng tuần, mỗi hai tuần, hàng tháng, mỗi sáu tuần, mỗi hai tháng, mỗi ba tháng mỗi sáu tháng hoặc hàng năm. Với mô tả ở đây, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này có thể dễ dàng xác định các liều và chế độ liều ưu tiên để làm giảm khả năng tái phát bệnh. Hơn nữa các điều trị này có thể được tiếp tục trong một khoảng thời gian nhiều tuần, tháng, năm hoặc thậm chí không xác định tùy theo đáp ứng của bệnh nhân và các thông số chẩn đoán và lâm sàng.

Thep phương pháp được ưu tiên khác nữa chất điều biến theo sáng chế có thể được sử dụng để phòng ngừa hoặc làm liệu pháp hỗ trợ để phòng ngừa hoặc làm giảm khả năng di căn của khối u sau quy trình loại bỏ khối u. Như được sử dụng trong phần mô tả này, "quy trình loại khối u" được định nghĩa rộng và được hiểu là quy trình, kỹ thuật hoặc phương pháp bất kỳ mà loại bỏ, làm giảm, điều trị hoặc làm thuyên giảm khối u hoặc sự tăng sinh của khối u. Ví dụ về quy trình loại khối u bao gồm, nhưng

không chỉ giới hạn ở, phẫu thuật, xạ trị (tức là, chiếu tia xạ), hóa trị liệu, liệu pháp miễn dịch hoặc cắt bỏ. Vào các thời điểm thích hợp, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này khi xem xét phần mô tả này dễ dàng xác định được chất điều biến đã mô tả có thể được sử dụng theo đề nghị của quy trình lâm sàng, chẩn đoán hoặc chẩn đoán điều trị để làm giảm sự di căn của khối u. Chất điều biến này có thể được sử dụng một hoặc nhiều lần với liều có tác dụng dược lý như được xác định nhờ sử dụng các kỹ thuật chuẩn. Tốt hơn, nếu chế độ liều sẽ được đi kèm bởi các kỹ thuật theo dõi hoặc chẩn đoán phù hợp mà cho phép nó được thay đổi.

Các phương án khác của sáng chế bao gồm việc sử dụng chất điều biến được mô tả cho đối tượng mà không có triệu chứng nhưng có nguy cơ phát triển rối loạn tăng sinh. Tức là, chất điều biến theo sáng chế có thể được sử dụng theo nghĩa phòng ngừa thực sự và được sử dụng cho bệnh nhân đã được kiểm tra hoặc xét nghiệm và có một hoặc nhiều yếu tố nguy cơ đáng chú ý (ví dụ, các dấu hiệu về di truyền, tiền sử gia đình, các kết quả xét nghiệm *in vivo* hoặc *in vitro*, v.v..) nhưng chưa phát triển thành ung thư. Trong các trường hợp này, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này có thể xác định phác đồ liều hiệu quả thông qua quan sát bằng kinh nghiệm hoặc thông qua thực hành lâm sàng được chấp nhận.

D. Các chất chống ung thư

Thuật ngữ "chất chống ung thư" hoặc "chất chống tăng sinh" có nghĩa là tác nhân bất kỳ mà có thể được sử dụng để điều trị rối loạn tăng sinh tế bào như bệnh ung thư, và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất gây độc tế bào, chất kìm tế bào, chất chống tạo mạch, chất loại khối, các chất hóa trị liệu, xạ trị và các chất xạ trị, chất chống ung thư hướng đích, các BRM, các kháng thể điều trị bệnh, vacxin chống ung thư, xytokin, liệu pháp hormon, liệu pháp xạ trị và chất chống di căn và các chất miễn dịch điều trị. Cần phải hiểu rằng, theo các phương án chọn lọc như đã bàn luận trên đây, chất chống ung thư này có thể bao gồm các thể liên hợp và có thể được liên hợp với chất điều biến trước khi sử dụng. Theo một số phương án nhất định các chất chống ung thư được mô tả sẽ được liên kết với chất điều biến SEZ6 để tạo ra ADC như được đề cập ở đây.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "chất gây độc tế bào" để chỉ chất gây độc đối với các tế bào và làm giảm hoặc ức chế chức năng của các tế bào và/hoặc gây ra sự phá hủy tế bào. Thông thường chất này là các phân tử có trong tự nhiên có nguồn gốc

từ sinh vật sống. Ví dụ về chất gây độc tế bào bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, độc tố phân tử nhỏ hoặc độc tố có hoạt tính enzym từ vi khuẩn (ví dụ, độc tố Diptheria, nội độc tố và ngoại độc tố Pseudomonas, độc tố ruột A của Staphylococcus), nấm (ví dụ, α-sarxin, restrictoxin), thực vật (ví dụ, abrin, rixin, modecxin, viscumin, protein kháng virut của cây thương lục -pokeweed, saporin, gelonin, momoridin, trichosanthin, độc tố lúa mạch, các protein của Aleurites fordii, các protein dianthin, các protein của Phytolacca mericana (PAPI, PAPII, và PAP-S), chất ức chế của Momordica charantia, curxin, crotin, chất ức chế của saponaria officinalis, gelonin, mitegellin, restrictoxin, phenomyxin, neomyxin, và tricothexen) hoặc động vật, (ví dụ, các ARNaza gây độc tế bào, như ARNaza của tụy ngoại bào; ADNaza I, bao gồm đoạn và/hoặc các biến thể của nó).

Đối với mục đích này của sáng chế "chất hóa trị" bao gồm hợp chất hóa học mà làm giảm không đặc hiệu hoặc ức chế sự sinh trưởng, tăng sinh, và/hoặc sống sót của tế bào ung thư (ví dụ, chất gây độc tế bào hoặc tác nhân kìm tế bào). Các chất hóa học này thường nhằm vào các quy trình nội bào cần thiết cho sự sinh trưởng hoặc phân chia của tế bào, và do đó đặc biệt hữu hiệu chống lại tế bào ung thư, mà thường sinh trưởng và phân chia nhanh chóng. Ví dụ, vincristin khử polyme hóa các vi ống và do đó ức chế các tế bào bước vào nguyên phân. Nhìn chung, các chất hóa trị có thể bao gồm chất hóa học bất kỳ mà ức chế, hoặc được thiết kế để ức chế, tế bào ung thư hoặc tế bào có khả năng trở thành ung thư hoặc tạo ra thế hệ con cháu gây khối u (ví dụ, TIC). Chất này thường được sử dụng, và thường có hiệu quả nhất, khi kết hợp với, ví dụ, trong các phác đồ như CHOP hoặc FOLFIRI. Hơn nữa, theo các phương án đã chọn, các chất hóa trị này có thể được liên hợp với chất điều biến được mô tả.

Ví dụ về chất chống ung thư mà có thể được sử dụng kết hợp với (hoặc liên hợp với) chất điều biến theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất alkyl hóa, alkyl sulfonat, aziridin, etylenimin và metylamelamin, axetogenin, camptothexin, bryostatin, calystatin, CC-1065, cryptophyxin, dolastatin, duocarmyxin, eleutherobin, pancratistatin, sarcodictyin, spongistatin, nitơ mù tạc, chất kháng sinh, chất kháng sinh enediyn, dynemixin, bisphosphonat, esperamixin, thể màu kháng sinh enediyn của protein sắc tố, aclaxinomysin, actinomyxin, authramyxin, azaserin, bleomyxin, cactinomyxin, carabixin, carminomyxin, carzinophilin, chromomyxinis, dactinomyxin, daunorubixin, detorubixin, 6-diazo-5-oxo-L-norleuxin, ADRIAMYXIN® doxorubixin,

epirubixin, esorubixin, idarubixin, marxelomyxin, mitomyxin, axit mycophenolic, nogalamyxin, olivomyxin, peplomyxin, potfiromyxin, puromyxin, quelamyxin, rodorubixin, streptonigrin, streptozoxin, tuberxidin, ubenimex, zinostatin, zorubixin; kháng chất chuyển hóa, erlotinib, vemurafenib, crizotinib,sorafenib, ibrutinib, enzalutamit, các thể đồng dạng axit folic, các thể đồng dạng purin, androgen, kháng thượng thận, chất độn axit folic như axit frolinic, axeglatoe, aldophosphamit glycosit, axit aminolevulinic, eniluraxil, amsacrin, bestrabuxil, bisantren, edatraxat, defofamin, demecolxin, diaziquon, elfornithin, eliptinium axetat, epothilon, etogluxit, gali nitrat, hydroxyure, lentinan, lonidainin, maytansinoit, mitoguazon, mitoxantron, mopidanmol, nitraerin, pentostatin, phenamet, pirarubixin, losoxantron, axit podophylinic, 2- etylhydrazit, procarbazin, phức hợp PSK® polysacarit (JHS Natural Products, Eugene, OR), razoxan; rhizoxin; sizofiran; spirogermanium; axit tenuazonic; triaziquon; 2,2',2"-triclotrietylamin; trichothexen (đặc biệt là độc tố T-2, veracurin A, roridin A và anguidin); uretan; vindesin; dacarbazin; manomustin; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gaxytosin; arabinosit ("Ara-C"); xyclophosphamit; thiotepa; taxoit, cloranbuxil; GEMZAR® gemxitabin; 6-thioguanin; mercaptopurin; metotrexat; các thể đồng dạng platin, vinblastin; platin; etoposit (VP-16); ifosfamit; mitoxantron; vincristin; NAVELBINE® vinorelbin; novantron; teniposit; edatrexat; daunomyxin; aminopterin; xeloda; ibandronat irinotexan (Camptosar, CPT-11), chất ức chế topoisomeraza RFS 2000; diflometylornithin; retinoit; capexitabin; combretastatin; leucovorin; oxaliplatin; chất ức chế PKC-alpha, Raf, H-Ras, EGFR và VEGF-A mà làm giảm sự tăng sinh tế bào và các muối dược dụng, axit hoặc dẫn xuất của hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất nêu trên. Cũng bao gồm trong định nghĩa này là tác nhân kháng hormon mà hoạt động để điều hòa hoặc ức chế hoạt động của hormon trên các khối u như kháng-estrogen và chất điều biến thụ thể của estrogen chọn lọc, chất ức chế aromataza mà ức chế enzyme aromataza, mà điều hòa sự sản sinh estrogen trong tuyến thượng thận, và kháng-androgen; cũng như troxaxitabin (thể đồng dạng 1,3- dioxolan nucleosit xytosin); oligonucleotit đối nghĩa, ribozym như sự biểu hiện chất ức chế VEGF và sự biểu hiện chất ức chế HER2; vacxin, PROLEUKIN® rIL-2; LURTOTEXAN® chất ức chế topoisomeraza 1; ABARELIX® rmRH; Vinorelbin và Esperamixin và các muối dược dụng, axit hoặc dẫn xuất của bất kỳ hợp chất trên đây.

Theo các phương án khác, chất điều biến theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với bất kỳ một trong số nhiều kháng thể (hoặc các chất điều trị miễn dịch) có trong thử nghiệm lâm sàng hoặc có bán trên thị trường. Cuối cùng chất điều biến được mô tả có thể được sử dụng kết hợp với kháng thể được chọn từ nhóm bao gồm abagovomab, adecatumumab, afutuzumab, alemtuzumab, altumomab, amatuximab, anatumomab, arxitumomab, bavituximab, bectumomab, bevaxizumab, bivatuzumab, blinatumomab, brentuximab, cantuzumab, catumaxomab, xetuximab, xitatuzumab, xixutumumab, clivatuzumab, conatumumab, daratumumab, drozitumab, duligotumab, dusigitumab, detumomab, daxetuzumab, dalotuzumab, ecromeximab, elotuzumab, ensituximab, ertumaxomab, etaraxizumab, farletuzumab, ficlatuzumab, figitumumab, flanvotumab, futuximab, ganitumab, gemtuzumab, girentuximab, glembatumumab, ibritumomab, igovomab, imgatuzumab, indatuximab, inotuzumab, intetumumab, ipilimumab, iratumumab, labetuzumab, lexatumumab, lintuzumab, lorvotuzumab, lucatumumab, mapatumumab, matuzumab, milatuzumab, minretumomab, mitumomab, moxetumomab, narnatumab, naptumomab, necitumumab, , nimotuzumab, nofetumomabn, ocaratuzumab, ofatumumab, olaratumab, onartuzumab, oportuzumab, oregovomab, panitumumab, parsatuzumab, patritumab, pemtumomab, pertuzumab, pintumomab, pritumumab, racotumomab, radretumab, rilotumumab, rituximab, robatumumab, satumomab, sibrotuzumab, siltuximab, simtuzumab, solitomab, tacatuzumab, taplitumomab, tenatumomab, teprotumumab, tigatuzumab, tositumomab, trastuzumab, tucotuzumab, ublituximab, veltuzumab, vorsetuzumab, votumumab, zalutumumab, CC49, 3F8 và tổ hợp của chúng.

Các phương án được ưu tiên cụ thể khác nữa bao gồm việc sử dụng các kháng thể được chấp thuận để điều trị ung thư bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, rituximab, trastuzumab, gemtuzumab ozogamxin, alemtuzumab, ibritumomab tiuxetan, tositumomab, bevaxizumab, xetuximab, panitumumab, ofatumumab, ipilimumab và brentuximab vedotin. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ có thể dễ dàng xác định chất chống ung thư khác mà thích hợp với phần mô tả của sáng chế.

E. Xạ trị

Sáng chế còn đề xuất kết hợp của chất điều biến với liệu pháp xạ trị (tức là, cơ chế bất kỳ gây tổn thương ADN cục bộ trong tế bào khối u như chiếu tia gamma, tia

X, tia UV, vi song, phát điện tử và tương tự). Liệu pháp kết hợp sử dụng phương pháp phân phối trực tiếp chất đồng vị phóng xạ đến tế bào khối u cũng được đề xuất, và có thể được sử dụng kết hợp với chất chống ung thư hướng đích hoặc phương tiện nhắm đích khác. Thông thường liệu pháp xạ trị được sử dụng theo các xung trong khoảng thời gian từ khoảng 1 đến khoảng 2 tuần. Liệu pháp xạ trị có thể được sử dụng cho đối tượng mắc bệnh ung thư đầu và cổ trong khoảng 6 đến 7 tuần. Tùy ý, liệu pháp xạ trị có thể được sử dụng như một liều duy nhất hoặc nhiều liều, các liều kế tiếp.

XI. Chỉ định

Sẽ hiểu rằng chất điều biến theo sáng chế có thể được sử dụng để chẩn đoán, điều trị, hoặc ức chế sự xuất hiện hoặc tái phát của rối loạn liên quan đến SEZ6 bất kỳ. Theo đó, cho dù được sử dụng một mình hoặc kết hợp với chất chống ung thư hoặc xạ trị, chất điều biến theo sáng chế là đặc biệt hữu dụng để điều trị các tình trạng ung thư phổ biến ở bệnh nhân hoặc đối tượng, các tình trạng này có thể bao gồm các khối u lành tính hoặc ác tính (ví dụ, u tuyến thượng thận, gan, thận, bàng quang, vú, dạ dày, buồng trứng, ruột kết, tuyến tiền liệt, tụy, phổi, tuyến giáp, tế bào gan, cổ tử cung, nội mạc tử cung, các ung thư biểu mô thực quản và tử cung, sacôm, u nguyên bào thần kinh đệm và các khối u đầu và cổ khác); bệnh bạch cầu và các bệnh lymphô ác tính; các rối loạn khác như rối loạn thần kinh, thần kinh đệm, tế bào hình sao, dưới đồi và các tuyến khác, đại thực bào, biểu mô, chất đệm và rối loạn khoang phổi; và rối loạn viêm, tạo mạch, miễn dịch và các rối loạn do các mầm bệnh. Đặc biệt, các đích quan trọng cho việc điều trị là các tình trạng ung thư bao gồm các khối u rắn, tuy nhiên các bệnh ác tính tạo máu đều nằm trong phạm vi bảo hộ của sáng chế. Tốt hơn "đối tượng" hoặc "bệnh nhân" cần được điều trị là người, tuy nhiên, như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ này được hiểu rõ ràng là bao gồm loài động vật có vú bất kỳ.

Cụ thể hơn, tình trạng ung thư cần được điều trị theo sáng chế có thể được chọn từ nhóm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các khối u tuyến thượng thận, ung thư đi kèm AIDS, sacôm phần phế nang mềm, các khối u tế bào hình sao, ung thư bàng quang (ung thư biểu mô tế bào có vảy và ung thư biểu mô tế bào chuyển tiếp), ung thư xương (u men răng, u nang xương pFig. mạch, u xương sụn, sacôm xương), ung thư não và ung thư tủy sống, các khối u não di căn, ung thư vú, các khối u thể động mạch cảnh, ung thư cổ tử cung, sacôm sụn, u sụn, ung thư biểu mô tế bào thận không nhuộm màu, ung thư biểu mô tế bào trong suốt, ung thư ruột kết, ung thư đại trực tràng, u tế

bào mô sợi dưới da lành tính, các khối u tế bào tròn nhỏ tạo mô xơ, u màng não thất, các khối u Ewing, sacôm sụn ngoài xương thể niêm dịch, hội chứng tạo xương bất toàn, loạn sản dạng sợi của xương, ung thư túi mật và ống dẫn mật, bệnh lý nguyên bào nuôi do thai nghén, các khối u tế bào gốc, ung thư đầu và cổ, các khối u tiểu đảo, sacôm Kaposi, ung thư thận (thận phôi, ung thư biểu mô tế bào thận dạng nhú), bệnh bạch cầu, u mỡ/các khối u mỡ lành tính, sacôm mỡ/các khối u mỡ ác tính, ung thư gan (u nguyên bào gan , ung thư biểu mô tế bào gan), các u lymphô, các bệnh ung thư phổi (ung thư biểu mô tế bào nhỏ, ung thư tuyến, ung thư biểu mô tế bào có vảy, ung thư biểu mô tế bào lớn v.v..), u nguyên bào tủy, đa u tủy, u màng não, đa ung thư nội tiết, đa u tủy, hội chứng loạn sản tủy, u nguyên bào thần kinh, u thần kinh nội tiết, ung thư buồng trứng, ung thư tụy, ung thư biểu mô tuyến giáp dạng nhú, các khối u tuyến cận giáp, các bệnh ung thư trẻ em, các khối u vỏ thần kinh ngoại biên, u tế bào ưa crôm, các khối u tuyến yên, ung thư tuyến tiền liệt, đa u tủy ở phía sau, các rối loạn tạo máu hiếm, ung thư thận di căn, khối u thể dạng que, sacôm cơ vân, các sacôm, ung thư da, các sacôm mô mềm, ung thư tế bào có vảy, ung thư dạ dày, sacôm hoạt dịch, ung thư tinh hoàn, ung thư biểu mô tuyến ức, u tuyến ức, ung thư tuyến giáp di căn, và ung thư tử cung (ung thư biểu mô tế bào cổ tử cung, ung thư biểu mô nội mạc tử cung, và u mềm cơ trơn).

Theo một số phương án ưu tiên, rối loạn tăng sinh bao gồm khối u rắn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các khối u tuyến thượng thận, gan, thận, bàng quang, vú, dạ dày, buồng trứng, cổ tử cung, tử cung, thực quản, ruột kết, tuyến tiền liệt, tụy, phổi (cả loại tế bào nhỏ và không tế bào nhỏ), tuyến giáp, các ung thư biểu mô, sacôm, u nguyên bào thần kinh đệm và các khối u đầu và cổ khác. Theo các phương án ưu tiên khác, và như được thể hiện trong phần Ví dụ dưới đây, chất điều biến được mô tả là đặc biệt hữu hiệu trong điều trị ung thư phổi tế bào nhỏ (SCLC) và ung thư phổi không tế bào nhỏ (NSCLC) (ví dụ, ung thư phổi không thế bào nhỏ có vảy hoặc ung thư phổi tế bào nhỏ có vảy). Theo một phương án, ung thư phổi là dai dẳng, tái phát hoặc kháng với chất dựa trên platin (ví dụ, carboplatin, cisplatin, oxaliplatin, topotexan) và/hoặc taxan (ví dụ, doxetaxel, paclitaxel, larotaxel hoặc cabazitaxel). Ngoài ra, theo các phương án đặc biệt ưu tiên chất điều biến được mô tả có thể được sử dụng ở dạng liên hợp để điều trị ung thư phổi tế bào nhỏ.

Liên quan đến bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, các phương án được ưu tiên cụ thể bao gồm việc sử dụng chất điều biến liên hợp (ADCs). Theo các phương án đã chọn, chất điều biến liên hợp sẽ được sử dụng cho bệnh nhân biểu hiện bệnh ở giai đoạn hạn chế. Theo các phương án khác, chất điều biến được mô tả sẽ được sử dụng cho bệnh nhân biểu hiện bệnh ở giai đoạn tiến triển. Theo các phương án ưu tiên khác, chất điều biến được liên hợp đã được mô tả sẽ được sử dụng cho bệnh nhân khó điều trị (tức là, những người tái phát trong suốt hoặc ngay sau khi hoàn thành một liệu trình điều trị ban đầu). Các phương án khác nữa bao gồm sử dụng chất điều biến được mô tả cho bệnh nhân nhạy cảm (tức là, những người có thời gian tái phát lâu hơn 2-3 tháng sau liệu pháp điều trị ban đầu. Trong mỗi trường hợp cần phải hiểu rằng, chất điều biến thích hợp có thể ở trạng thái liên hợp hoặc không liên hợp phụ thuộc phác đồ liều được chọn và các chẩn đoán lâm sàng.

Như đã bàn luận trên đây, chất điều biến được mô tả có thể còn được sử dụng để phòng ngừa, điều trị hoặc chẩn đoán các khối u có các đặc điểm thần kinh nội tiết hoặc kiểu hình bao gồm u thần kinh nội tiết. U thần kinh nội tiết thật và chuẩn (NET) xuất phát từ hệ nội tiết rải rác là tương đối hiếm, với tỷ lệ mắc 2-5 trên mỗi 100.000 người, nhưng rất nguy hiểm. U thần kinh nội tiết xuất hiện ở thận, đường niệu-sinh dục (bàng quang, tuyến tiền liệt, buồng trứng, cổ tử cung, và niêm mạc tử cung), đường tiêu hóa (ruột kết, dạ dày), tuyến giáp (ung thư tuyến giáp dạng tủy), và phổi (ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ và ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào nhỏ). Các khối u này có thể tiết một số hormon bao gồm serotonin và/hoặc chromogranin A có thể gây ra các triệu chứng suy nhược đã biết là hội chứng hạch có dạng ung thư. Các khối u này có thể được biểu hiện bằng các dấu đánh dấu hóa mô miễn dịch dương tính như enolaza đặc hiệu thần kinh (NSE, còn được biết là gamma enolaza, ký hiệu gen = ENO2), CD56 (or NCAM1), chromogranin A (CHGA), và synaptophysin (SYP) hoặc bởi các gen đã biết là thể hiện sự biểu hiện gia tăng như ASCL1. Không may là, chất hóa trị truyền thống không có hiệu quả đặc hiệu trong điều trị NET và hậu quả thường gặp là di căn đến gan.

Mặc dù chất điều biến được mô tả có thể được sử dụng có lợi để điều trị u thần kinh nội tiết, chúng cũng có thể được sử dụng để điều trị, phòng ngừa hoặc chẩn đoán u thần kinh nội tiết giả (pNET) bắt chước, tương tự về kiểu gen hoặc kiểu hình, hoặc biểu hiện các dấu hiệu giống với u thần kinh nội tiết thật. U thần kinh nội tiết giả hoặc

các khối u có các đặc điểm thần kinh nội tiết là các khối u xuất phát từ tế bào của hệ thần kinh nội tiết rải rác hoặc từ tế bào, trong đó tầng biệt hóa thần kinh nội tiết đã bị hoạt hóa bất thường trong quá trình sinh ung thư. Các pNET này thường có chung một số đặc trưng về kiểu hình hoặc sinh hóa giống với u thần kinh nội tiết được xác định thông thường, bao gồm khả năng sản sinh ra tập hợp các amin có hoạt tính sinh học, chất dẫn truyền thần kinh và các hormon peptit. Về mặt mô học, các khối u này (NET và pNET) có chung hình thái phổ biến là thường thể hiện các tế bào nhỏ kết nối dày đặc với lượng tế bào chất tối thiểu của bệnh học tế bào nhạt và nhân hình tròn đến hình ovan. Đối với mục đích này của sáng chế, các chất đánh dấu mô học hoặc chất đánh dấu di truyền được biểu hiện phổ biến có thể được sử dụng để xác định u thần kinh nội tiết thật và u thần kinh nội tiết giả bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chromogranin A, CD56, synaptophysin, PGP9.5, ASCL1 và enolaza đặc hiệu thần kinh (NSE).

Theo đó, chất điều biến theo sáng chế có thể được sử dụng có lợi để điều trị cả u thần kinh nội tiết giả và u thần kinh nội tiết thật. Về vấn đề này chất điều biến có thể được sử dụng như được mô tả ở đây để điều trị u thần kinh nội tiết (cả NET và pNET) xuất hiện trong thận, đường niệu-sinh dục (bàng quang, tuyến tiền liệt, buồng trứng, cổ tử cung, và niêm mạc tử cung), đường tiêu hóa (ruột kết, dạ dày), tuyến giáp (ung thư tuyến giáp dạng tủy), và phổi (ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ và ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào nhỏ). Hơn nữa, chất điều biến theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị các khối u biểu hiện một hoặc nhiều chất đánh dấu được chọn từ nhóm bao gồm NSE, CD56, synaptophysin, chromogranin A, ASCL1 và PGP9.5 (UCHL1). Tức là, sáng chế có thể được sử dụng để điều trị cho đối tượng mắc khối u là NSE^+ hoặc $CD56^+$ hoặc $PGP9.5^+$ hoặc $ASCL1^+$ hoặc SYP^+ hoặc $CHGA^+$ hoặc một số dạng kết hợp của nó.

Liên quan đến các bệnh ác tính tạo máu cần phải hiểu thêm rằng các hợp chất và các phương pháp theo sáng chế có thể đặc biệt hiệu quả trong điều trị các bệnh u lymphô tế bào B khác nhau, bao gồm u lymphô tế bào nang (FCC) mức độ thấp/NHL, u lymphô tế bào vỏ (MCL), u lymphô tế bào lớn lan tỏa (DLCL), tế bào lymphô nhỏ (SL) NHL, NHL cấp độ trung gian/dạng nang, NHL lan tỏa cấp độ trung gian, NHL nguyên bào miễn dịch cấp độ cao, NHL nguyên bào lymphô cấp độ cao, NHL tế bào nhỏ không cắt được, NHL bệnh khối, macroglobulin huyết Waldenstrom, u lymphô

bạch cầu lymphô (LPL), u lymphô tế bào vỏ (MCL), u lymphô thế nang (FL), u lymphô tế bào lớn lan tỏa (DLCL), u lymphô Burkitt (BL), u lymphô liên quan đến AIDS, u lymphô bạch cầu đơn nhân tế bào B, bệnh lý hạch lymphô phù mạch, tế bào lymphô nhỏ, u nguyên bào lymphô nguyên bào miễn dịch tế bào lớn, tế bào nhỏ lan tỏa cắt được, tế bào lớn lan tỏa, thể nang, các u lymphô tế bào lớn, nhỏ, không cắt được, Burkitt và không Burkitt, thể nang, tế bào lớn chủ yếu; u lymphô thể nang, tế bào nhỏ cắt được chủ yếu; và u lymphô thể nang, tế bào lớn và tế bào nhỏ cắt được hỗn hợp. See, Gaidono et al., "Lymphomas", IN CANCER: PRINCIPLES & PRACTICE OF ONCOLOGY, Vol. 2: 2131-2145 (DeVita et al., eds., 5.sup.th ed. 1997). Rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này là các u lymphô này sẽ thường có các tên gọi khác nhau do thay đổi hệ thống phân loại, và bệnh nhân mắc u lymphô được phân loại theo các tên khác nhau cũng có thể hưởng lợi từ phác đồ điều trị kết hợp theo sáng chế.

Sáng chế còn đề xuất phép điều trị phòng ngừa hoặc dự phòng cho đối tượng biểu hiện các khối u lành tính hoặc tiền ung thư. Ngoài các rối loạn liên quan đến SEZ6, không cho rằng loại cụ thể bất kỳ của khối u hoặc rối loạn tăng sinh cần được loại trừ ra khỏi chỉ định điều trị khi sử dụng sáng chế. Tuy nhiên, loại tế bào khối u này có thể thích hợp để sử dụng theo sáng chế kết hợp với dược chất thứ hai, cụ thể là các chất hóa trị liệu và chất chống ung thư hướng đích.

XII. Sản phẩm sản xuất

Sáng chế còn đề xuất gói dược phẩm và kit gồm một hoặc nhiều vật chứa, chứa một hoặc nhiều liều của chất điều biến SEZ6. Theo một số phương án nhất định, liều đơn vị được đề xuất, trong đó liều đơn vị này chứa lượng định trước của chế phẩm gồm, ví dụ, kháng thể kháng SEZ6, có hoặc không có một hoặc nhiều chất bổ sung. Đối với các phương án khác, liều đơn vị này được cung cấp trong bơm tiêm được nạp sẵn sử dụng một lần để tiêm. Theo các phương án khác nữa, chế phẩm được chứa trong liều đơn vị có thể bao gồm nước muối, sucroza, hoặc tương tự; đệm, như phosphat, hoặc tương tự; và/hoặc được bào chế trong khoảng độ pH ổn định và có hiệu quả. Theo cách khác, theo một số phương án, chế phẩm này có thể được cung cấp dưới dạng bột đông khô mà có thể được hoàn nguyên khi bổ sung dung dịch lỏng thích hợp, ví dụ, nước vô trùng. Theo một số phương án ưu tiên, chế phẩm chứa một hoặc nhiều chất ức chế kết tụ protein, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, sucroza và arginin.

Nhãn bất kỳ trên, hoặc được gắn vào, (các) vật chứa thể hiện là chế phẩm bên trong được sử dụng để chẩn đoán hoặc điều trị các tình trạng bệnh lý được lựa chọn.

Sáng chế còn đề xuất kit để tạo ra các đơn vị sử dụng một liều hoặc nhiều liều của chất điều biến SEZ6 và, tùy ý, một hoặc nhiều chất chống ung thư. Kit này bao gồm vật chứa và nhãn hoặc gói chèn lên hoặc được gắn vào vật chứa. Các vật chứa thích hợp bao gồm, ví dụ, chai, lọ, bơm tiêm, v.v.. Các vật chứa này có thể được làm bằng nhiều loại vật liệu khác nhau như thủy tinh hoặc nhựa và chứa lượng có tác dụng dược lý của chất điều biến được mô tả ở dạng liên hợp hoặc dạng không liên hợp. Theo các phương án ưu tiên khác (các) vật chứa bao gồm cửa vàp vô trùng (ví dụ vật chứa có thể là túi dung dịch dùng trong tĩnh mạch hoặc lọ nhỏ có nắp có thể đâm qua được bằng kim tiêm dưới da). Các kit này thường chứa, trong vật chứa thích hợp, chế phẩm dược dụng của chất điều biến SEZ6 và, tùy ý, một hoặc nhiều chất chống ung thư trong cùng hoặc các vật chứa khác nhau. Kit này còn có thể chứa các chế phẩm dược dụng khác, để chẩn đoán hoặc điều trị kết hợp. Ví dụ, ngoài chất điều biến SEZ6 theo sáng chế, kit này có thể chứa một hoặc nhiều chất bất kỳ trong hàng loạt chất chống ung thư như dược chất hóa trị hoặc xạ trị; chất chống tạo mạch; chất chống di căn; chất chống ung thư hướng đích; chất gây độc tế bào; và/hoặc chất chống ung thư khác. Kit này có thể còn cung cấp chất phản ứng thích hợp để liên hợp chất điều biến SEZ6 với chất chống ung thư hoặc chất chẩn đoán (ví dụ, xem U.S.P.N. 7,422,739 được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ).

Cụ thể hơn kit này có thể có một vật chứa mà chứa chất điều biến SEZ6, có hoặc không có các thành phần bổ sung, hoặc chúng có thể có các vật chứa riêng biệt cho mỗi chất mong muốn. Trong đó chất trị liệu kết hợp được cung cấp để kết hợp, một dung dịch có thể được trộn trước hoặc trong hỗn hợp tương đương về mol, hoặc với một thành phần có lượng dư so với thành phần khác. Theo cách khác, chất điều biến SEZ6 và chất chống ung thư tùy ý bất kỳ của kit này có thể được giữ riêng biệt trong các vật chứa riêng biệt trước khi sử dụng cho bệnh nhân. Các kit này có thể còn bao gồm các phương tiện chứa thứ hai/thứ ba để chứa đệm dược dụng vô trùng hoặc chất pha loãng khác như nước vô khuẩn để tiêm (BWFI), nước muối đệm phosphat- (PBS), dung dịch Ringer và dung dịch dextroza.

Khi các thành phần của kit này được cung cấp trong một hoặc nhiều dung dịch lỏng, dung dịch lỏng này tốt hơn nếu là dung dịch nước, với dung dịch nước vô trùng

được đặc biệt ưu tiên. Tuy nhiên, các thành phần của kit có thể được cung cấp dưới dạng bột khô. Khi chất phản ứng hoặc các thành phần được cung cấp dưới dạng bột khô, bột này có thể được hoàn nguyên bằng cách bổ sung dung môi thích hợp. Có thể hình dung rằng dung môi này cũng có thể được cung cấp trong một vật chứa khác.

Như được chỉ ra ngắn gọn trên đây, kit này có thể còn chứa phương tiện, nhờ đó sử dụng kháng thể và các thành phần tùy ý bất kỳ cho bệnh nhân hoặc động vật, ví dụ, một hoặc nhiều kim tiêm hoặc bơm tiêm, hoặc thậm chí lọ nhỏ mắt, pipet, hoặc các công cụ tương tự khác, từ đó chế phẩm có thể được tiêm hoặc đưa vào động vật hoặc được phủ lên vùng bị bệnh của cơ thể. Kit theo sáng chế thường bao gồm các phương tiện để chứa các lọ nhỏ, hoặc tương tự như vậy, và thành phần khác giữ riêng để bán trên thị trường, như, ví dụ, tiêm hoặc các hộp nhựa thổi đúc, trong đó các lọ nhỏ mong muốn và các dụng cụ khác được đặt vào và giữ. Nhãn hoặc gói bất kỳ kèm theo chỉ định rằng chế phẩm chất điều biến SEZ6 được sử dụng để điều trị bệnh ung thư, ví dụ ung thư phổi tế bào nhỏ.

Theo các phương án ưu tiên khác chất điều biến theo sáng chế có thể được sử dụng kèm theo, hoặc chứa, các dụng cụ để chẩn đoán hoặc điều trị bệnh hữu dụng trong chẩn đoán hoặc điều trị các rối loạn tăng sinh. Ví dụ, trong các phương án ưu tiên, các hợp chất và chế phẩm theo sáng chế có thể được kết hợp với một số dụng cụ hoặc thiết bị chẩn đoán mà có thể được sử dụng để phát hiện, theo dõi, định lượng hoặc mô tả tế bào hoặc các hợp chất chỉ thị liên quan đến nguyên nhân hoặc biểu hiện các rối loạn tăng sinh. Đối với các phương án được chọn, các hợp chất chỉ thị này có thể bao gồm NSE, CD56, synaptophysin, chromogranin A, và PGP9.5.

Theo các phương án đặc biệt ưu tiên, các dụng cụ này có thể được sử dụng để phát hiện, theo dõi và/hoặc định lượng tế bào khối u đang tuần hoàn hoặc *in vivo* hoặc *in vitro* (xem, ví dụ, WO 2012/0128801 được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Theo các phương án ưu tiên khác nữa, và như đã bàn luận trên đây, tế bào khối u đang tuần hoàn có thể bao gồm tế bào gốc ung thư.

XIII. Chất phản ứng nghiên cứu

Các phương án ưu tiên khác của sáng chế cũng khai thác các đặc tính của chất điều biến được mô tả làm công cụ hữu dụng để nhận dạng, theo dõi, phân lập, chia cắt hoặc làm giàu quần thể hoặc tiểu quần thể tế bào tạo u bằng các phương pháp như đếm tế bào theo dòng chảy, phân loại tế bào được hoạt hóa bằng huỳnh quang (FACS),

phân loại tế bào được hoạt hóa bằng từ tính (MACS) hoặc chia cắt bằng tia laze. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này cần phải hiểu rằng chất điều biến này có thể được sử dụng trong một số các kỹ thuật thích hợp để xác định đặc trưng và thao tác TIC bao gồm tế bào gốc ung thư (ví dụ, xem các bằng Mỹ số 12/686,359, 12/669,136 và 12/757,649 mỗi tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ).

XIV. Tổng hợp

Trừ khi được quy định khác ở đây, thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong sáng chế có ý nghĩa như thường được hiểu bởi người có hiểu biết thông thường trong lĩnh vực này. Ngoài ra, trừ khi có yêu cầu khác tùy ngữ cảnh, các thuật ngữ số ít sẽ bao gồm cả số nhiều và các thuật ngữ số nhiều sẽ bao gồm số ít. Cụ thể hơn, như được sử dụng trong bản mô tả này và yêu cầu bảo hộ đi kèm, các mạo từ số ít "một" bao gồm nghĩa số nhiều trừ khi có chỉ định rõ ràng theo cách khác trong ngữ cảnh. Do đó, ví dụ, đề cập đến “protein" bao gồm nhiều protein; đề cập đến "tế bào" bao gồm hỗn hợp các tế bào, và tương tự. Ngoài ra, các khoảng được đưa ra trong bản mô tả và yêu cầu bảo hộ kèm theo bao gồm cả các điểm cuối và toàn bộ các điểm giữa các điểm cuối. Do đó, khoảng từ 2,0 đến 3,0 bao gồm 2,0, 3,0, và toàn bộ giá trị giữa 2,0 và 3,0.

Nhìn chung, danh pháp được sử dụng, và các kỹ thuật, liên quan đến nuôi cấy tế bào và mô, sinh học phân tử, miễn dịch, vi sinh vật, gen và protein và hóa học axit nucleic và lai được mô tả ở đây là các danh pháp đã biết và được sử dụng phổ biến trong lĩnh vực này. Các phương pháp và các kỹ thuật của sáng chế nhìn chung được thực hiện theo các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này và như được mô tả trong nhiều tài liệu viện dân chung và chuyên ngành mà được trích dẫn và thảo luận trong toàn bộ bản mô tả này trừ khi có quy định khác. Xem, ví dụ, Abbas *et al.*, Cellular and Molecular Immunology, 6th ed., W.B. Saunders Company (2010); Sambrook J. & Russell D. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2000); Ausubel *et al.*, *Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley, John & Sons, Inc. (2002); Harlow and Lane *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1998); và Coligan *et al.*, *Short Protocols in Protein Science*, Wiley, John & Sons, Inc. (2003). Phản ứng enzym và các kỹ thuật tinh chế được thực hiện theo hướng dẫn của

nhà sản xuất, như thường được thực hiện trong lĩnh vực này hoặc như được mô tả ở đây. Các thuật ngữ được sử dụng trong sáng chế, và quy trình phòng xét nghiệm và các kỹ thuật hóa phân tích, hóa hữu cơ tổng hợp và hóa y và dược được mô tả ở đây là đã biết và thường được sử dụng trong lĩnh vực này. Hơn nữa, phần tiêu đề được sử dụng ở đây chỉ nhằm mục đích sắp đặt nội dung mà không được hiểu là giới hạn đối tượng được mô tả.

XV. Các tài liệu tham khảo về SEZ6

Tất cả các tài liệu tham khảo hoặc tài liệu được mô tả hoặc viện dẫn trong bản mô tả này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ mà không có giới hạn nào. Hơn nữa, các đề mục bất kỳ được sử dụng ở đây chỉ nhằm mục đích sắp xếp nội dung và không được hiểu là giới hạn đối tượng được mô tả.

1. Bork P, Beckmann G. (1993). The CUB domain. A widespread module in developmentally regulated proteins. J Mol Biol. 231:539-45. PMID: 8510165.

2. Galluzzo P, and Bocchetta M (2011). Notch signaling in lung cancer. Expert Rev Anticancer Ther. 11:533-40. PMID: 21504320.

3. Gunnersen JM *et al.* (2007). Sez-6 proteins affect dendritic arborization patterns and excitability of cortical pyramidal neurons. Neuron. 56:621-39. PMID: 18031681.

4. Gunnersen JM *et al.* (2009). Seizure-related gene 6 (Sez-6) in amacrine cells of the rodent retina and the consequence of gene deletion. PLoS One. 4:e6546. PMID:19662096.

5. Herbst R, Nicklin MJ (1997). SEZ-6: promoter selectivity, genomic structure and localized expression in the brain. Brain Res Mol Brain Res. 44:309-22. PMID: 9073173.

6. Klimstra DS, *et al.* (2010). The pathologic classification of neuroendocrine tumors: a review of nomenclature, grading, and staging systems. Pancreatic. 39:707-12. PMID: 20664470.

7. Klöppel G. (2011). Classification and pathology of gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms. Endocr Relat Cancer. 18 Suppl 1:S1-16. PMID: 22005112.

8. Mulley JC *et al.* (2011). The Role of Seizure-Related SEZ6 as a Susceptibility Gene in Febrile Seizures. Neurol Res Int. 2011:917565. PMID: 21785725.

9. Shimizu-Nishikawa K *et al.*, (1995). Cloning and expression of SEZ-6, a brain-specific and seizure-related cADN. Brain Res Mol Brain Res. 28:201-10. PMID: 7723619.

10. Yao JC *et al.* (2008). One hundred years after "carcinoid": epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. J Clin Oncol. 26:3063-72. PMID: 18565894.

11. Yu ZL *et al.*, (2007). Febrile seizures are associated with mutation of seizure-related (SEZ) 6, a brain-specific gene. J Neurosci Res. 85:166-72. PMID: 17086543.

XVI. Các phương án chọn lọc của sáng chế

Ngoài phần mô tả và Ví dụ ở đây, sáng chế đề cập đến các phương án được chọn cụ thể được nêu ngay dưới đây.

Yêu cầu bảo hộ giả định:

1. Chất điều biến SEZ6 được phân lập.

2. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 1, trong đó chất điều biến SEZ6 này chứa chất đối vận SEZ6.

3. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 1, trong đó chất điều biến SEZ6 này chứa kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó.

4. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 3 trong đó kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó là kháng thể đơn dòng.

5. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 4, trong đó kháng thể đơn dòng này được chọn từ nhóm bao gồm kháng thể khảm, kháng thể được làm tương thích với người và kháng thể của người.

6. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 4, trong đó kháng thể đơn dòng là kháng thể trung hòa.

7. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 4, trong đó kháng thể đơn dòng là kháng thể tiêu tế bào.

8. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 4, trong đó kháng thể đơn dòng này là kháng thể nội nhập.

9. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 8, trong đó kháng thể đơn dòng này bao gồm thêm chất gây độc tế bào.

10. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 4, trong đó kháng thể đơn dòng chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ba vùng quyết định bổ sung và vùng biến đổi chuỗi nặng có ba vùng quyết định bổ sung, trong đó các vùng quyết định bổ sung của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ này lần lượt chứa ít nhất một vùng quyết định tính bổ trợ được nêu trên Fig. 10A hoặc Fig. 10B.

11. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 4, trong đó kháng thể đơn dòng chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ và vùng biến đổi chuỗi nặng, trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin có sự tương đồng ít nhất 60% với trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78 SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 152, SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 166 và SEQ ID NO: 168 và trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng này bao gồm trình tự axit amin có sự tương đồng ít nhất 60% với trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51 , SEQ ID

NO: 53, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 125, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 149, SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 155, SEQ ID NO: 157, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 167 và SEQ ID NO: 169.

12. Chất điều biến SEZ6 được phân lập chứa CDR từ một vùng bất kỳ trong số các vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ được nêu trong điểm 11.

13. Chất điều biến SEZ6 được phân lập chứa kháng thể cạnh tranh, trong đó kháng thể cạnh tranh này ức chế sự liên kết của chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 10 hoặc 11 vào SEZ6 ít nhất 40%.

14. Axit nucleic mã hóa axit amin vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc axit amin vùng biến đổi chuỗi nhẹ theo điểm 11.

15. Vectơ chứa axit nucleic theo điểm 14.

16. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 1, chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 và các đoạn của chúng.

17. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 16, trong đó chất điều biến SEZ6 này còn chứa thêm ít nhất một phần của vùng hằng định của globulin miễn dịch.

18. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 1, trong đó chất điều biến này làm giảm tần suất tế bào tạo u khi sử dụng cho đối tượng cần điều trị.

19. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 18, trong đó tác dụng làm giảm tần suất được xác định bằng cách sử dụng phân tích đếm tế bào theo dòng các chất đánh dấu bề mặt tế bào khối u được biết là có nhiều trong tế bào tạo u.

20. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 18, trong đó tác dụng làm giảm tần suất được xác định bằng cách sử dụng kỹ thuật phát hiện bằng hóa mô miễn dịch các chất đánh dấu bề mặt tế bào khối u được biết là có nhiều trong tế bào tạo u.

21. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 18, trong đó các tế bào tạo u này là các tế bào duy trì khối u.

22. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 1, bao gồm thêm chất gây độc tế bào.

23. Dược phẩm chứa chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 1.

24. Dược phẩm theo điểm 23, trong đó chất điều biến SEZ6 này là kháng thể đơn dòng.

25. Dược phẩm theo điểm 24, trong đó kháng thể đơn dòng này là kháng thể được làm tương thích với người.

26. Dược phẩm theo điểm 25, trong đó kháng thể được làm tương thích với người này là chất gây độc tế bào.

27. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 26, trong đó chất gây độc tế bào này là pyrolobenzodiazepin.

28. Chất điều biến SEZ6 được phân lập theo điểm 26, trong đó chất gây độc tế bào này là auristatin.

29. Phương pháp điều trị rối loạn liên quan đến SEZ6 bao gồm sử dụng lượng có tác dụng điều trị của chất điều biến SEZ6 cho đối tượng cần điều trị.

30. Phương pháp theo điểm 29, trong đó chất điều biến SEZ6 là chất đối kháng SEZ6.

31. Phương pháp theo điểm 29, trong đó chất điều biến SEZ6 là kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó.

32. Phương pháp theo điểm 31, trong đó kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó là kháng thể đơn dòng.

33. Phương pháp theo điểm 32, trong đó kháng thể đơn dòng được chọn từ nhóm bao gồm kháng thể khảm, kháng thể được làm tương thích với người và kháng thể của người.

34. Phương pháp theo điểm 33, trong đó kháng thể đơn dòng này bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ và vùng biến đổi chuỗi nặng, trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ này bao gồm trình tự axit amin có sự tương đồng ít nhất 60% với trình tự axit

amin được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 78 SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 96, SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 130, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 136, SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 140, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 152, SEQ ID NO: 154, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 162, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 166 và SEQ ID NO: 168 và trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng này bao gồm trình tự axit amin có sự tương đồng ít nhất 60% với trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51 , SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 97, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 125, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 131, SEQ ID NO: 133, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 139, SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 147, SEQ ID NO: 149,

SEQ ID NO: 151, SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 155, SEQ ID NO: 157, SEQ ID NO: 159, SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 167 và SEQ ID NO: 169.

35. Phương pháp theo điểm 34, trong đó kháng thể đơn dòng này là kháng thể được làm tương thích với người.

36. Phương pháp theo điểm 32, trong đó kháng thể đơn dòng này là kháng thể trung hòa.

37. Phương pháp theo điểm 32, trong đó kháng thể đơn dòng này là kháng thể nội nhập.

38. Phương pháp theo điểm 37, trong đó kháng thể trung hòa này là chất gây độc tế bào.

39. Phương pháp theo điểm 38, trong đó chất gây độc tế bào này là pyrolobenzodiazepin.

40. Phương pháp theo điểm 38, trong đó chất gây độc tế bào này là auristatin.

41. Phương pháp theo điểm 39, trong đó rối loạn liên quan đến SEZ6 này là rối loạn khối u.

42. Phương pháp theo điểm 41, trong đó rối loạn tạo u này bao gồm khối u biểu hiện các dấu hiệu thần kinh nội tiết.

43. Phương pháp theo điểm 42, trong đó khối u biểu hiện các đặc điểm thần kinh nội tiết này bao gồm u thần kinh nội tiết.

44. Phương pháp theo điểm 41, trong đó đối tượng đang mắc rối loạn tạo u được chọn từ nhóm bao gồm bệnh ung thư tuyến thượng thận, ung thư bàng quang, ung thư cổ tử cung, ung thư nội mạc tử cung, ung thư dạ dày, ung thư thận, ung thư gan, ung thư phổi, ung thư buồng trứng, ung thư đại trực tràng, ung thư tuyến tụy, ung thư tuyến tiền liệt và ung thư vú.

45. Phương pháp theo điểm 44, trong đó đối tượng đang mắc bệnh ung thư phổi.

46. Phương pháp theo điểm 45, trong đó đối tượng đang mắc bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ.

47. Phương pháp theo điểm 41, trong đó đối tượng mắc rối loạn tạo u này biểu hiện các khối u chứa các tế bào tạo u.

48. Phương pháp theo điểm 47, còn bao gồm bước làm giảm tần suất của tế bào tạo u ở đối tượng này.

49. Phương pháp theo điểm 48, trong đó tác dụng làm giảm tần suất được xác định bằng cách sử dụng kỹ thuật phân tích đếm tế bào theo dòng các chất đánh dấu trên bề mặt tế bào khối u đã được biết là có nhiều trong tế bào tạo u hoặc kỹ thuật phát hiện bằng hóa mô miễn dịch các chất đánh dấu trên bề mặt tế bào khối u được biết là có nhiều trong tế bào tạo u.

50. Phương pháp theo điểm 48, trong đó tác dụng làm giảm tần suất được xác định bằng cách sử dụng phương pháp từ nhóm bao gồm phân tích pha loãng giới hạn *in vitro* và *in vivo*.

51. Phương pháp theo điểm 50, trong đó tác dụng làm giảm tần suất được xác định bằng cách sử dụng phân tích pha loãng giới hạn *in vivo* bao gồm cấy ghép tế bào khối u sống của người vào chuột suy giảm miễn dịch.

52. Phương pháp theo điểm 51, trong đó tác dụng làm giảm tần suất được xác định bằng cách sử dụng phép phân tích pha loãng giới hạn *in vivo* bao gồm định lượng tần suất tế bào tạo u bằng cách sử dụng phép thống kê phân bố Poisson.

53. Phương pháp theo điểm 50, trong đó tác dụng làm giảm tần suất được xác định bằng cách sử dụng phân tích pha loãng giới hạn *in vitro* bao gồm lắng kết độ pha loãng giới hạn các tế bào khối u sống của người vào các điều kiện hỗ trợ kết cụm in vitro.

54. Phương pháp theo điểm 53, trong đó tác dụng làm giảm tần suất được xác định bằng cách sử dụng phân tích pha loãng giới hạn *in vitro* bao gồm việc định lượng tần suất tế bào tạo u bằng cách sử dụng phép thống kê phân bố Poisson.

55. Phương pháp theo điểm 29, còn bao gồm bước sử dụng chất chống ung thư.

56. Phương pháp theo điểm 29, trong đó chất điều biến SEZ6 chứa một hoặc nhiều CDR từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trong các SEQ ID NO: 20 đến 169.

57. Phương pháp theo điểm 29, trong đó chất điều biến SEZ6 là chất điều biến pan-SEZ6.

58. Phương pháp theo điểm 57, trong đó chất điều biến SEZ6 là chất gây độc tế bào.

59. Phương pháp làm giảm tần suất tế bào tạo u ở đối tượng cần điều trị bao gồm bước sử dụng chất điều biến SEZ6 cho đối tượng này.

60. Phương pháp theo điểm 59, trong đó tế bào tạo u là tế bào duy trì khối u.

61. Phương pháp theo điểm 60, trong đó các tế bào duy trì khối u được chọn từ các tế bào biểu hiện các chất đánh dấu được chọn từ nhóm bao gồm các tế bào $CD44^+$, $CD324^+$ và $CD133^+$.

62. Phương pháp theo điểm 59, trong đó chất điều biến SEZ6 là kháng thể.

63. Phương pháp theo điểm 62, trong đó kháng thể này là kháng thể đơn dòng.

64. Phương pháp theo điểm 63, trong đó kháng thể đơn dòng này còn bao gồm chất gây độc tế bào.

65. Phương pháp theo điểm 59, trong đó đối tượng này đang mắc rối loạn tạo u được chọn từ nhóm bao gồm ung thư thượng thận, ung thư bàng quang, ung thư cổ tử cung, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thận, ung thư gan, ung thư phổi, ung thư buồng trứng, ung thư đại trực tràng, ung thư tụy, ung thư tuyến tiền liệt và ung thư vú.

66. Phương pháp theo điểm 65, trong đó đối tượng này đang mắc bệnh ung thư phổi.

67. Phương pháp theo điểm 66, trong đó đối tượng này đang mắc bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ.

68. Phương pháp theo điểm 59, trong đó tần suất của tế bào tạo u được giảm ít nhất khoảng 10%.

69. Phương pháp theo điểm 59, trong đó tác dụng làm giảm tần suất được xác định bằng cách sử dụng kỹ thuật phân tích đếm tế bào theo dòng các chất đánh dấu trên bề mặt tế bào tạo u đã được biết là có nhiều trong tế bào tạo u hoặc kỹ thuật phát hiện bằng hóa mô miễn dịch các chất đánh dấu trên bề mặt tế bào khối u được biết là có nhiều trong tế bào tạo u.

70. Phương pháp làm tăng độ nhạy của khối u ở đối tượng để điều trị bằng chất chống ung thư bao gồm bước sử dụng chất điều biến SEZ6 cho đối tượng.

71. Phương pháp theo điểm 70, trong đó chất điều biến SEZ6 này là kháng thể.

72. Phương pháp theo điểm 70, trong đó khối u này là khối u rắn.

73. Phương pháp theo điểm 70, trong đó chất chống ung thư này là chất hóa trị liệu.

74. Phương pháp theo điểm 70, trong đó chất chống ung thư này là chất điều trị miễn dịch.

75. Phương pháp chẩn đoán rối loạn tăng sinh ở đối tượng cần điều trị bao gồm các bước:

i. thu mẫu mô từ đối tượng;

ii. cho mẫu mô tiếp xúc với ít nhất một chất điều biến SEZ6; và

iii. phát hiện và định lượng chất điều biến SEZ6 có trong mẫu.

76. Phương pháp theo điểm 75, trong đó chất điều biến SEZ6 này là kháng thể đơn dòng.

77. Phương pháp theo điểm 76, trong đó kháng thể đơn dòng này liên kết động với chất chỉ thị.

78. Sản phẩm hữu ích để chẩn đoán hoặc điều trị các rối loạn liên quan đến SEZ6 bao gồm vật đựng chứa chất điều biến SEZ6 và các tờ hướng dẫn sử dụng chất điều biến SEZ6 để điều trị hoặc chẩn đoán rối loạn liên quan đến SEZ6.

79. Sản phẩm theo điểm 78, trong đó chất điều biến SEZ6 là kháng thể đơn dòng.

80. Sản phẩm theo điểm 78, trong đó vật chứa bao gồm đĩa đọc được.

81. Phương pháp điều trị cho đối tượng mắc rối loạn tạo u bao gồm bước sử dụng lượng có tác dụng điều trị của ít nhất một chất điều biến SEZ6 nội nhập.

82. Phương pháp theo điểm 81, trong đó chất điều biến SEZ6 chứa kháng thể.

83. Phương pháp theo điểm 82, trong đó kháng thể này là kháng thể đơn dòng.

84. Phương pháp theo điểm 83, trong đó kháng thể đơn dòng này là kháng thể được làm tương thích với người.

85. Phương pháp theo điểm 83, trong đó kháng thể đơn dòng còn bao gồm chất gây độc tế bào.

86. Phương pháp theo điểm 81, bao gồm thêm bước sử dụng chất chống ung thư.

87. Phương pháp theo điểm 81, trong đó rối loạn tạo u bao gồm khối u biểu hiện các dấu hiệu thần kinh nội tiết.

88. Phương pháp theo điểm 81, trong đó rối loạn tạo u là khối u có các dấu hiệu về thần kinh.

89. Phương pháp theo điểm 81, trong đó rối loạn tạo u là ung thư phổi.

90. Phương pháp theo điểm 81, trong đó rối loạn tạo u là ung thư phổi tế bào nhỏ.

91. Phương pháp điều trị cho đối tượng mắc rối loạn tạo u bao gồm bước sử dụng lượng có tác dụng điều trị của ít nhất một chất điều biến SEZ6 trung hòa.

92. Phương pháp theo điểm 91, trong đó chất điều biến SEZ6 là kháng thể.

93. Phương pháp theo điểm 92, trong đó kháng thể này là kháng thể đơn dòng.

94. Phương pháp theo điểm 93, trong đó kháng thể đơn dòng này là kháng thể được làm tương thích với người.

95. Phương pháp theo điểm 94, trong đó kháng thể được làm tương thích với người này còn bao gồm chất gây độc tế bào.

96. Phương pháp theo điểm 91, còn bao gồm bước sử dụng chất chống ung thư.

97. Phương pháp theo điểm 91, trong đó rối loạn tạo u là là khối u biểu hiện các dấu hiệu về thần kinh.

98. Phương pháp theo điểm 91, trong đó rối loạn tạo u bao gồm khối u biểu hiện các dấu hiệu thần kinh nội tiết.

99. Phương pháp theo điểm 91, trong đó rối loạn tạo u là ung thư phổi.

100. Phương pháp theo điểm 99, trong đó rối loạn tạo u là ung thư phổi tế bào nhỏ.

101. Phương pháp nhận biết, phân lập, cắt hoặc làm giàu quần thể các tế bào tạo u bao gồm bước cho các tế bào tạo u này tiếp xúc với chất điều biến SEZ6.

102. Phương pháp theo điểm 101, trong đó chất điều biến SEZ6 này là kháng thể.

103. Chất điều biến SEZ6 chứa kháng thể được làm tương thích với người,trong đó kháng thể được làm tương thích với người này chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ và vùng biến đổi chuỗi nặng trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa

trình tự axit amin có độ tương đồng ít nhất 60% với trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 170, SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 190 và SEQ ID NO: 192 và trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có độ tương đồng ít nhất 60% với trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 173, SEQ ID NO: 175, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 181, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 194, SEQ ID NO: 195, SEQ ID NO: 196, SEQ ID NO: 197, SEQ ID NO: 198 và SEQ ID NO: 199.

104. Phương pháp ức chế hoặc ngăn cản sự di căn ở đối tượng cần điều trị bao gồm bước sử dụng lượng có tác dụng dược lý của chất điều biến SEZ6.

105. Phương pháp theo điểm 104, trong đó đối tượng trải qua phẫu thuật loại bỏ khối u trước hoặc sau khi sử dụng chất điều biến SEZ6.

106. Phương pháp theo điểm 105, trong đó quy trình loại bỏ khối u này bao gồm sử dụng ít nhất một chất chống ung thư.

107. Phương pháp thực hiện liệu pháp duy trì ở đối tượng cần điều trị bao gồm bước sử dụng lượng có tác dụng dược lý của chất điều biến SEZ6.

108. Phương pháp theo điểm 107, trong đó đối tượng được điều trị rối loạn tạo u trước khi sử dụng chất điều biến SEZ6.

109. Phương pháp làm tiêu các tế bào tạo u ở đối tượng mắc rối loạn tăng sinh bao gồm bước sử dụng chất điều biến SEZ6.

110. Phương pháp chẩn đoán, phát hiện hoặc theo dõi rối loạn có liên quan đến SEZ6 *in vivo* ở đối tượng cần điều trị bao gồm bước sử dụng chất điều biến SEZ6.

111. Phương pháp chẩn đoán, phát hiện hoặc theo dõi rối loạn liên quan đến SEZ6 ở đối tượng cần điều trị bao gồm bước cho các tế bào khối u đang tuần hoàn tiếp xúc với chất điều biến SEZ6.

112. Phương pháp theo điểm 111, trong đó bước cho tiếp xúc này xảy ra *in vivo*.

113. Phương pháp theo điểm 111, trong đó bước cho tiếp xúc này xảy ra *in vitro*.

114. Phương pháp điều trị khối u biểu hiện các đặc điểm thần kinh nội tiết ở bệnh nhân cần điều trị bao gồm bước sử dụng lượng có tác dụng điều trị của chất điều biến SEZ6.

115. Phương pháp theo điểm 114, trong đó khối u biểu hiện các đặc điểm thần kinh nội tiết này là u thần kinh nội tiết.

116. Chất điều biến SEZ6 thu được từ kháng thể được chọn từ nhóm bao gồm SC17.1, SC17.2, SC17.3, SC17.4, SC17.8, SC17.9, SC17.10, SC17.11, SC17.14, SC17.15, SC17.16, SC17.17, SC17.18, SC17.19, SC17.22, SC17.24, SC17.27, SC17.28, SC17.29, SC17.30, SC17.32, SC17.34, SC17.35, SC17.36, SC17.38, SC17.39, SC17.40, SC17.41, SC17.42, SC17.45, SC17.46, SC17.47, SC17.49, SC17.50, SC17.53, SC17.54, SC17.56, SC17.57, SC17.59, SC17.61, SC17.63, SC17.71, SC17.72, SC17.74, SC17.76, SC17.77, SC17.79, SC17.81, SC17.82, SC17.84, SC17.85, SC17.87, SC17.89, SC17.90, SC17.91, SC17.93, SC17.95, SC17.97, SC17.99, SC17.102, SC17.114, SC17.115, SC17.120, SC17121, SC17.122, SC17.140, SC17.151, SC17.156, SC17.161, SC17.166, SC17.187, SC17.191, SC17.193, SC17.199 và SC17.200.

117. Chất điều biến SEZ6 được phân lập mà liên kết với epitop kết hợp với vùng chức năng Sushi 1 của SEZ6.

118. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 117, trong đó chất điều biến SEZ6 này chứa kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó.

119. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 118, trong đó kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó là kháng thể đơn dòng.

120. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 119, trong đó chất điều biến SEZ6 chứa ADC.

121. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 120, trong đó ADC này chứa pyrolobenzodiazepin.

122. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 121chứa thêm cầu liên kết.

123. Chất điều biến SEZ6 được phân lập liên kết với epitop kết hợp với vùng chức năng Sushi 2 của SEZ6.

124. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 123, trong đó chất điều biến SEZ6 này chứa kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó.

125. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 124, trong đó kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó là kháng thể đơn dòng.

126. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 125, trong đó chất điều biến SEZ6 chứa ADC.

127. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 126, trong đó ADC này chứa pyrolobenzodiazepin.

128. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 127 chứa thêm cầu liên kết.

129. Chất điều biến SEZ6 được phân lập mà liên kết với epitop kết hợp với vùng chức năng Sushi 3 của SEZ6.

130. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 129, trong đó chất điều biến SEZ6 này chứa kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó.

131. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 130, trong đó kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó là kháng thể đơn dòng.

132. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 131, trong đó chất điều biến SEZ6 chứa ADC.

133. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 132, trong đó ADC này chứa pyrolobenzodiazepin.

134. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 133 chứa thêm cầu liên kết.

135. Chất điều biến SEZ6 được phân lập mà liên kết với epitop kết hợp với vùng chức năng Sushi 4 của SEZ6.

136. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 135, trong đó chất điều biến SEZ6 này chứa kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó.

137. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 136, trong đó kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó là kháng thể đơn dòng.

138. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 137, trong đó chất điều biến SEZ6 chứa ADC.

139. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 138, trong đó ADC này chứa pyrolobenzodiazepin.

140. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 139 chứa thêm cầu liên kết.

141. Chất điều biến SEZ6 được phân lập mà liên kết với epitop kết hợp với vùng chức năng Sushi 5 của SEZ6.

142. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 141, trong đó chất điều biến SEZ6 chứa kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó.

143. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 142, trong đó kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó là kháng thể đơn dòng.

144. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 143, trong đó chất điều biến SEZ6 chứa ADC.

145. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 144, trong đó ADC này chứa pyrolobenzodiazepin.

146. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 145 chứa thêm cầu liên kết.

147. Chất điều biến SEZ6 được phân lập mà liên kết với epitop kết hợp với vùng chức năng CUB 1 của SEZ6.

148. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 147, trong đó chất điều biến SEZ6 chứa kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó.

149. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 148, trong đó kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó là kháng thể đơn dòng.

150. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 149, trong đó chất điều biến SEZ6 chứa ADC.

151. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 150, trong đó ADC này chứa pyrolobenzodiazepin.

152. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 151 chứa thêm cầu liên kết.

153. Chất điều biến SEZ6 được phân lập liên kết với epitop kết hợp với vùng chức năng CUB 2 của SEZ6.

154. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 153, trong đó chất điều biến SEZ6 chứa kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó.

155. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 154, trong đó kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó là kháng thể đơn dòng.

156. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 155, trong đó chất điều biến SEZ6 chứa ADC.

157. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 156, trong đó ADC này chứa pyrolobenzodiazepin.

158. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 157 chứa thêm cầu liên kết.

159. Chất điều biến SEZ6 được phân lập liên kết với epitop kết hợp với vùng chức năng có đầu cùng N của SEZ6.

160. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 159, trong đó chất điều biến SEZ6 chứa kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó.

161. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 160, trong đó kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó là kháng thể đơn dòng.

162. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 161, trong đó chất điều biến SEZ6 chứa ADC.

163. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 162, trong đó ADC này chứa pyrolobenzodiazepin.

164. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 163 chứa thêm cầu liên kết.

165. Chất điều biến SEZ6 được phân lập nằm trong bin được chọn từ nhóm bao gồm bin A, bin B, bin C, bin D, bin E, bin F và bin U.

166. Chất điều biến SEZ6 được phân lập nằm trong bin được xác định bởi kháng thể tham chiếu được chọn từ nhóm bao gồm SC17.1, SC17.2, SC17.3, SC17.4, SC17.8, SC17.9, SC17.10, SC17.11, SC17.14, SC17.15, SC17.16, SC17.17, SC17.18, SC17.19, SC17.22, SC17.24, SC17.27, SC17.28, SC17.29, SC17.30, SC17.32, SC17.34, SC17.35, SC17.36, SC17.38, SC17.39, SC17.40, SC17.41, SC17.42, SC17.45, SC17.46, SC17.47, SC17.49, SC17.50, SC17.53, SC17.54, SC17.56, SC17.57, SC17.59, SC17.61, SC17.63, SC17.71, SC17.72, SC17.74, SC17.76, SC17.77, SC17.79, SC17.81, SC17.82, SC17.84, SC17.85, SC17.87, SC17.89, SC17.90, SC17.91, SC17.93, SC17.95, SC17.97, SC17.99, SC17.102, SC17.114, SC17.115, SC17.120, SC17121, SC17.122, SC17.140, SC17.151, SC17.156, SC17.161, SC17.166, SC17.187, SC17.191, SC17.193, SC17.199 và SC17.200.

167. Thể liên hợp kháng thể dược chất có công thức M-[L-D]n hoặc muối dược dụng của nó trong đó:

a. M là chất điều biến SEZ6;

b. L là cầu liên kết;

c. D là chất chống tăng sinh; và

d. n là số nguyên từ 1 đến 20.

168. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 167, trong đó chất điều biến SEZ6 chứa kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó.

169. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 168, trong đó kháng thể này là kháng thể đơn dòng.

170. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 169, trong đó kháng thể này có nguồn gốc từ kháng thể được chọn từ nhóm bao gồm SC17.1, SC17.2, SC17.3, SC17.4, SC17.8, SC17.9, SC17.10, SC17.11, SC17.14, SC17.15, SC17.16, SC17.17, SC17.18, SC17.19, SC17.22, SC17.24, SC17.27, SC17.28, SC17.29, SC17.30, SC17.32, SC17.34, SC17.35, SC17.36, SC17.38, SC17.39, SC17.40, SC17.41, SC17.42, SC17.45, SC17.46, SC17.47, SC17.49, SC17.50, SC17.53, SC17.54, SC17.56, SC17.57, SC17.59, SC17.61, SC17.63, SC17.71, SC17.72, SC17.74, SC17.76, SC17.77, SC17.79, SC17.81, SC17.82, SC17.84, SC17.85, SC17.87, SC17.89, SC17.90, SC17.91, SC17.93, SC17.95, SC17.97, SC17.99, SC17.102, SC17.114, SC17.115, SC17.120, SC17121, SC17.122, SC17.140, SC17.151, SC17.156, SC17.161, SC17.166, SC17.187, SC17.191, SC17.193, SC17.199 và SC17.200.

171. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 169, trong đó kháng thể này được làm tương thích với người.

172. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 167, trong đó cầu liên kết bao gồm cầu liên kết phân cắt được.

173. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 172, trong đó cầu liên kết phân cắt được này là cầu liên kết peptit.

174. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 167, trong đó chất chống tăng sinh này là chất gây độc tế bào.

175. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 174, trong đó chất gây độc tế bào này là pyrolobenzodiazepin.

176. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 175, trong đó pyrolobenzodiazepin này là pyrolobenzodiazepin đime.

177. Chất điều biến SEZ6 được phân lập nằm trong bin được chọn từ nhóm bao gồm bin A, bin B, bin C, bin D, bin E, bin F và bin U.

178. Chất điều biến SEZ6 được phân lập nằm trong bin được xác định bởi kháng thể tham chiếu được chọn từ nhóm bao gồm SC17.1, SC17.2, SC17.3, SC17.4, SC17.8, SC17.9, SC17.10, SC17.11, SC17.14, SC17.15, SC17.16, SC17.17, SC17.18, SC17.19, SC17.22, SC17.24, SC17.27, SC17.28, SC17.29, SC17.30, SC17.32,

SC17.34, SC17.35, SC17.36, SC17.38, SC17.39, SC17.40, SC17.41, SC17.42, SC17.45, SC17.46, SC17.47, SC17.49, SC17.50, SC17.53, SC17.54, SC17.56, SC17.57, SC17.59, SC17.61, SC17.63, SC17.71, SC17.72, SC17.74, SC17.76, SC17.77, SC17.79, SC17.81, SC17.82, SC17.84, SC17.85, SC17.87, SC17.89, SC17.90, SC17.91, SC17.93, SC17.95, SC17.97, SC17.99, SC17.102, SC17.114, SC17.115, SC17.120, SC17121, SC17.122, SC17.140, SC17.151, SC17.156, SC17.161, SC17.166, SC17.187, SC17.191, SC17.193, SC17.199 và SC17.200.

179. Thể liên hợp kháng thể dược chất có công thức:

M-[L-D]n

hoặc muối dược dụng của nó trong đó

a) M là chất điều biến SEZ6;

b) L là cầu liên kết tùy ý;

c) D là chất gây độc tế bào được chọn từ nhóm bao gồm auristatin, maytansinoit, amanitin và pyrolobenzodiazepin dime.

d) n là số nguyên từ 1 đến 20.

180. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 179, trong đó chất điều biến SEZ6 chứa kháng thể hoặc đoạn có phản ứng miễn dịch của nó.

181. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 180, trong đó kháng thể này là kháng thể đơn dòng.

182. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 181, trong đó kháng thể này có nguồn gốc từ kháng thể được chọn từ nhóm bao gồm SC17.1, SC17.2, SC17.3, SC17.4, SC17.8, SC17.9, SC17.10, SC17.11, SC17.14, SC17.15, SC17.16, SC17.17, SC17.18, SC17.19, SC17.22, SC17.24, SC17.27, SC17.28, SC17.29, SC17.30, SC17.32, SC17.34, SC17.35, SC17.36, SC17.38, SC17.39, SC17.40, SC17.41, SC17.42, SC17.45, SC17.46, SC17.47, SC17.49, SC17.50, SC17.53, SC17.54, SC17.56, SC17.57, SC17.59, SC17.61, SC17.63, SC17.71, SC17.72, SC17.74, SC17.76, SC17.77, SC17.79, SC17.81, SC17.82, SC17.84, SC17.85, SC17.87, SC17.89, SC17.90, SC17.91, SC17.93, SC17.95, SC17.97, SC17.99, SC17.102, SC17.114, SC17.115, SC17.120, SC17121, SC17.122, SC17.140, SC17.151, SC17.156, SC17.161, SC17.166, SC17.187, SC17.191, SC17.193, SC17.199 và SC17.200.

183. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 182, trong đó kháng thể này được làm tương thích với người.

184. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 183, trong đó cầu liên kết là cầu liên kết phân cắt được.

185. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 184, trong đó cầu liên kết phân cắt được này là cầu liên kết peptit.

186. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 185, trong đó chất chống tăng sinh này là chất gây độc tế bào.

187. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 186, trong đó chất gây độc tế bào này là pyrolobenzodiazepin.

188. Thể liên hợp kháng thể dược chất theo điểm 187, trong đó pyrolobenzodiazepin này là pyrolobenzodiazepin đime.

189. Chất điều biến SEZ6 chứa CDR từ bất kỳ một trong số các SEQ ID NO: 20-203.

190. Chất điều biến SEZ6 theo điểm 189, trong đó chất điều biến này chứa nhiều CDR từ bất kỳ một trong số các SEQ ID NO: 20-203.

191. Chất điều biến kháng thể SEZ6 cạnh tranh để liên kết với protein SEZ6 với kháng thể tham chiếu được chọn từ nhóm bao gồm SC17.1, SC17.2, SC17.3, SC17.4, SC17.8, SC17.9, SC17.10, SC17.11, SC17.14, SC17.15, SC17.16, SC17.17, SC17.18, SC17.19, SC17.22, SC17.24, SC17.27, SC17.28, SC17.29, SC17.30, SC17.32, SC17.34, SC17.35, SC17.36, SC17.38, SC17.39, SC17.40, SC17.41, SC17.42, SC17.45, SC17.46, SC17.47, SC17.49, SC17.50, SC17.53, SC17.54, SC17.56, SC17.57, SC17.59, SC17.61, SC17.63, SC17.71, SC17.72, SC17.74, SC17.76, SC17.77, SC17.79, SC17.81, SC17.82, SC17.84, SC17.85, SC17.87, SC17.89, SC17.90, SC17.91, SC17.93, SC17.95, SC17.97, SC17.99, SC17.102, SC17.114, SC17.115, SC17.120, SC17121, SC17.122, SC17.140, SC17.151, SC17.156, SC17.161, SC17.166, SC17.187, SC17.191, SC17.193, SC17.199 và SC17.200 trong đó liên kết của chất điều biến kháng thể SEZ6 vào protein SEZ6 bị ức chế ít nhất 30%.

192. Chất điều biến SEZ6 mà liên kết với epitop của protien SEZ6 chứa các axit amin Q12, P14, I16, E17 và E18 (SEQ ID NO: 401).

193. Chất điều biến SEZ6 mà liên kết vào epitop của protein SEZ6 chứa các axit amin L73, P74, F75, Q76, P77, D78 và P79 (SEQ ID NO: 402).

194. Phương pháp điều trị cho đối tượng mắc rối loạn tăng sinh bao gồm bước sử dụng chất điều biến SEZ6 mà liên kết với epitop trong vùng chức năng SEZ6 được chọn từ nhóm bao gồm vùng có đầu cùng N, vùng chức năng Sushi 1, vùng chức năng Cub 1, vùng chức năng Sushi 2, vùng chức năng Cub 2, vùng chức năng Sushi 3, vùng chức năng Sushi 4 và vùng chức năng Sushi 5.

195. Chất điều biến kháng thể SEZ6 được làm tương thích với người được chọn từ nhóm bao gồm hSC17.16, hSC17.17, hSC17.24, hSC17.28, SC17.34, hSC17.46, SC17.151, SC17.155, SC17.156, SC17.161 và SC17.200.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế, nhìn chung được mô tả trên đây, sẽ được hiểu dễ dàng hơn bằng cách viện dẫn đến ví dụ sau đây, được đưa ra bằng cách minh họa và không nhằm để giới hạn phạm vi bảo hộ của sáng chế. Ví dụ không nhằm thể hiện các thử nghiệm dưới đây là toàn bộ hoặc chỉ các thử nghiệm được thực hiện. Trừ khi có quy định khác, các phần là các phần theo khối lượng, khối lượng phân tử là khối lượng phân tử trung bình, nhiệt độ là độ C, và áp suất ở hoặc gần áp suất khí quyển.

Ví dụ 1

Nhận diện các khối u có các đặc điểm thần kinh nội tiết và phân tích sự biểu hiện của chất đánh dấu bằng cách sử dụng phương pháp giải trình tự toàn bộ sản phẩm phiên mã.

U thần kinh nội tiết (NET) xuất phát từ hệ nội tiết rải rác là hiếm, với tỷ lệ mắc 2-5 trên 100.000 người, nhưng rất nguy hiểm. U thần kinh nội tiết xảy ra ở tuyến thượng thận, thận, đường niệu-sinh dục (bàng quang, tuyến tiền liệt, buồng trứng, cổ tử cung, và niêm mạc tử cung), tụy, đường tiêu hóa (dạ dày và ruột kết), tuyến giáp (ung thư tuyến giáp dạng tủy), và phổi (ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ, ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn, và ung thư hạch). Các khối u này có thể tiết ra một số hormon bao gồm serotonin và/hoặc chromogranin A mà có thể gây ra các triệu chứng suy nhược đã biết như carcinoid bạc. Các khối u này có thể được biểu hiện bằng các chất đánh dấu hóa mô miễn dịch dương tính như enolaza đặc hiệu thần kinh (NSE, còn được biết là gamma enolaza, ký hiệu gen = ENO2), CD56/NCAM1, và synaptophysin.

Chất hóa trị truyền thống không thành công trong điều trị NET, và hậu quả thường là tử vong do di căn phát tán. Không may là, trong hầu hết các trường hợp, phẫu thuật chỉ là phương pháp chữa khỏi bệnh duy nhất nếu thực hiện sớm ngay sau khi phát hiện và trước khi khối u di căn. Trong bối cảnh này, cần xác định mục tiêu điều trị mới liên quan đến các khối u có các dấu hiệu thần kinh nội tiết.

Để nhận dạng và xác định đặc trưng của các khối u này khi chúng tồn tại ở các bệnh nhân ung thư, ngân hàng u ghép ngoại lai không truyền thống lớn (NTX) đã được phát triển và duy trì bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này. Ngân hàng khối u NTX, bao gồm một số lượng đáng kể dòng tế bào u riêng biệt, được nhân giống trong chuột thỏa hiệp miễn dịch qua nhiều lần chuyển tế bào khối u khác nguồn gốc thu được từ nhiều bệnh nhân ung thư bị mắc nhiều loại khối u rắn ác tính. (Lưu ý rằng trong một số Ví dụ và các Fig. ở đây, số lần chuyển của mẫu thử nghiệm được biểu thị bằng p0-p# kèm theo ký hiệu mẫu, trong đó p0 là ký hiệu của mẫu không chuyển thu được trực tiếp từ khối u của bệnh nhân và p# là ký hiệu cho số lần u được chuyển qua chuột nhắt trước khi thử nghiệm.) Sự sẵn có liên tục của một số lượng lớn các dòng tế bào u NTX cấy chuyển sớm riêng biệt có dòng được xác định rõ tạo thuận lợi lớn cho việc nhận dạng và mô tả đặc điểm của các tế bào được tinh chế từ các dòng tế bào này. Trong việc này, việc sử dụng các dòng tế bào NTX được chuyển ít nhất làm đơn giản hóa thử nghiệm *in vivo* và cho kết quả dễ dàng kiểm tra được. Hơn nữa, các khối u NTX chuyển sớm đáp ứng với các dược chất như irinotexan (tức là Camptosar®) và phác đồ Cisplatin/Etoposide, cung cấp những hiểu biết liên quan đến lâm sàng về các cơ chế cơ bản điều khiển sự sinh trưởng của khối u,sự kháng lại các liệu pháp điều trị thông thường và sự tái phát khối u.

Khi các dòng tế bào khối u NTX được thiết lập, kiểu hình của chúng được mô tả theo nhiều cách khác nhau để kiểm tra sự biểu hiện của toàn bộ gen. Để xác định dòng NTX nào trong ngân hàng có thể là NET, các profin biểu hiện gen được tạo ra bằng cách giải trình tự toàn bộ sản phẩm phiên mã và/hoặc phân tích vi dãy phản ứng. Cụ thể là, dữ liệu được kiểm tra để xác định các khối u biểu hiện mức độ cao các gen cụ thể đã biết là bị tăng cao trong NET hoặc được sử dụng làm chất đánh dấu hóa mô sự biệt hóa thần kinh nội tiết (ví dụ, ASCL1, NCAM1, CHGA) cũng như các khối u có sự thay đổi trong các gen của con đường NOTCH thể hiện sự ức chế truyền tín hiệu

Notch (ví dụ, các mức thụ thể Notch giảm, và các thay đổi về phối tử và các phân tử tác động).

Cụ thể hơn, khi thiết lập nhiều dòng tế bào u NTX khác nhau như được thực hiện phổ biến với các khối u của người ở chuột bị suy giảm miễn dịch trầm trọng, các khối u này được cắt bỏ sau khi đạt kích thước 800 – 2.000 mm^3 và các tế bào được phân tách và phân tán vào huyền phù bằng cách sử dụng các kỹ thuật phân cắt bằng enzym đã được thừa nhận trong lĩnh vực này (xem, ví dụ, bằng Mỹ số 2007/0292414 được kết hợp ở đây). Các chế phẩm tế bào đã phân ly từ những dòng NTX này sau đó được làm tan của tế bào chuột và tiểu quần thể tế bào u của người sau đó tiếp tục được phân lập bằng phương pháp phân loại tế bào được hoạt hóa bằng huỳnh quang và được ly giải trong đệm ly giải RLTplus ARN (Qiagen). Sau đó chất đã ly giải được bảo quản ở -80°C cho đến khi sử dụng. Sau khi rã đông, toàn bộ ARN được chiết bằng cách sử dụng kit phân lập RNeasy (Qiagen) theo hướng dẫn của nhà cung cấp và định lượng lại trên máy đo quang phổ Nanodrop (Thermo Scientific) và Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies) sử dụng quy trình của nhà sản xuất và bộ thiết bị được đề nghị. Toàn bộ chế phẩm ARN thu được là phù hợp để giải trình tự gen và phân tích biểu hiện gen.

Việc giải trình tự toàn bộ các sản phẩm phiên mã bằng cách sử dụng thiết bị Applied Biosystems (ABI) SOLiD (giải trình tự bằng cách nối Oligo /phát hiện) 4.5 hoặc hệ giải trình tự thế hệ sau SOLiD 5500xl (Life Technologies) được thực hiện trên mẫu ARN từ dòng NTX. cADN được tạo ra từ toàn bộ mẫu ARN bằng cách sử dụng quy trình toàn bộ bản phiên mã sửa đổi (WT) từ ABI được thiết kế cho tổng ARN quy mô nhỏ hoặc Ovation RNA-Seq System V2™ (NuGEN Technologies Inc.). Quy trình WT quy mô nhỏ cải biến sử dụng 1,0 ng ARN tổng số để khuếch đại ARN thông tin tại đầu 3' dẫn đến độ nghiêng 3' trọng số của sự biểu hiện gen được lập bản đồ, trong khi hệ thống NuGen cho phép sự khuếch đại phù hợp hơn trong toàn bộ các sản phẩm phiên mã, và bao gồm khuếch đại cả ARN thông tin và cADN phiên mã không polyadenyl hóa sử dụng hexame ngẫu nhiên. Thư viện cADN được phân đoạn, và bộ điều hợp mã vạch đã được bổ sung vào để cho phép tổng hợp các thư viện đoạn từ các mẫu khác nhau.

Hệ thống giải trình tự thế hệ mới SOLiD 4.5 và SOLiD 5500xl của ABI cho phép giải trình tự song song toàn bộ các hệ phiên mã từ nhiều dòng NTX và quần thể

được sắp xếp. Thư viện cADN được xây dựng từ mỗi mẫu ARN, được phân đoạn và mã vạch. Mã vạch trên mỗi thư viện đoạn cho phép nhiều mẫu được gộp lại ở các nồng độ bằng nhau và chạy cùng nhau trong khi đảm bảo tính đặc hiệu của mẫu. Các mẫu được lấy thông qua PCR nhũ tương sử dụng hệ thống robot SOLiD™ EZ Bead™ của ABI, đảm bảo tính thống nhất của mẫu. Giải trình tự đầu bắt cặp tạo ra đoạn đọc 50 bazơ theo hướng 5' đến 3' hướng và đoạn đọc 25 bazơ theo hướng 3' đến 5' cho mỗi đoạn được khuếch đại vô tính trên một hạt duy nhất tồn tại trong hỗn hợp. Trong trường hợp nền 5500xl, cho mỗi bộ 8 mẫu gộp lại trong phương pháp nêu trên, các hạt được đặt vào 6 làn kênh đơn trên một chip. Điều này sẽ, trung bình, tạo ra hơn 50 triệu đoạn đọc 50 bazơ và 50 triệu đoạn đọc 25 bazơ cho mỗi trong số 8 mẫu và tạo ra một đại diện rất chính xác ở mức độ phiên mã ARN thông tin trong các tế bào khối u. Dữ liệu được tạo ra bởi nền SOLiD được lập bản đồ tới 34.609 gen như chú thích của RefSeq phiên bản 47 sử dụng NCBI phiên bản hg19.2 của bộ gen người được công bố và cung cấp các phép đo kiểm chứng mức độ ARN trong hầu hết các mẫu.

Nền SOLiD có thể nắm bắt không chỉ sự biểu hiện, mà còn các SNP, hiện tượng cắt luân phiên đã biết và chưa biết, ARN nhỏ không mã hóa, và khám phá exon mới tiềm năng chỉ dựa trên sự bao phủ khung đọc (các đoạn đọc được lập bản đồ duy nhất đến các vị trí của gen trước đây chưa chú thích). Vì vậy, việc sử dụng nền giải trình tự thế hệ mới này kết hợp với phân tích dữ liệu độc quyền và phần mềm hiển thị do đó cho phép phát hiện sự biểu hiện phiên mã khác biệt cũng như sự khác biệt và/hoặc các ưu tiên đối với các biến thể nối cụ thể của các sản phẩm phiên mã ARN thông tin được biểu hiện. Dữ liệu giải trình tự từ nền SOLiD được thể hiện trên danh nghĩa là giá trị biểu hiện phiên mã sử dụng các số liệu RPM (đoạn đọc mỗi triệu) và RPKM (đoạn đọc mỗi kilobazơ trên mỗi triệu), cho phép phân tích biểu hiện khác biệt căn bản như là thực hành chuẩn.

Giải trình tự toàn bộ sản phẩm phiên mã của bốn khối u ung thư phổi tế bào nhỏ (SCLC) (LU73, LU64, LU86 và LU95), một khối u buồng trứng (OV26) và ung thư biểu mô tế bào thần kinh nội tiết lớn (LCNEC; LU37) dẫn đến việc xác định mô hình biểu hiện gen thường thấy trong NET (Fig. 6A). Cụ thể hơn, những khối u này có sự biểu hiện cao một số chất đánh dấu NET (ASCL1, NCAM1, CHGA) cũng như giảm các thụ thể Notch và các phân tử tác động (ví dụ, HES1, HEY1) và gia tăng các chất đánh dấu sự ức chế Notch (ví dụ, DLL3 và HES6). Ngược lại, 4 mẫu phổi bình

thường, 3 khối u ung thư biểu mô dạng tuyến ở phổi (LU137, LU146 và LU153), và 3 ung thư biểu mô phổi tế bào có vảy (LU49, LU70 và LU76) tất cả đều biểu hiện nhiều loại thụ thể Notch và phân tử tác động khác nhau, và không thể hiện sự biểu hiện gia tăng của chất ức chế Notch như HES6 và DLL3.

Hơn nữa, như thấy trên Fig. 6B, phân tích dữ liệu toàn bộ hệ phiên mã so sánh các mẫu mô bình thường với các quần thể NTX khác nhau có các đặc tính thần kinh nội tiết, cho thấy rằng SEZ6 được điều hòa tăng ở mức phiên mã ARN thông tin ở bốn quần thể tế bào ung thư phổi có các đặc điểm thần kinh nội tiết (LU73, LU64, LU86 và LU95) so với sự biểu hiện phiên mã cực thấp hoặc không có ở các mô bình thường được thử nghiệm. Các kết quả này đề xuất rằng SEZ6 có thể đóng vai trò quan trọng trong việc tạo khối u và duy trì các bệnh ung thư cụ thể (bao gồm ung thư phổi có các đặc tính thần kinh nội tiết). Trên cơ sở này, SEZ6 được chọn để phân tích thêm như là điều trị miễn dịch tiềm năng.

Ví dụ 2

Kỹ thuật vi dãy phản ứng và phân tích bằng RT-PCR

Sự biểu hiện gen ở các khối u NTX được chọn có các dấu hiệu thần kinh nội tiết

Trong một nỗ lực để xác định các NET bổ sung trong ngân hàng NTX nêu trên, ngoài các NTX mà đã có dữ liệu SOLiD về toàn bộ các hệ phiên mã, tập hợp lớn các dòng NTX được kiểm tra nhờ sử dụng phân tích vi dãy phản ứng. Cụ thể là. 2-6µg mẫu ARN tổng thu được từ các khối u nguyên vẹn trong 46 dòng NTX hoặc từ 2 mô bình thường được phân tích nhờ sử dụng nền vi dãy phản ứng OneArray® (Phalanx Biotech Group), bao gồm 29.187 đoạn dò được thiết kế dựa trên 19.380 gen trong bộ gen của người. Cụ thể hơn, mẫu ARN thu được (như được mô tả trong Ví dụ 1) từ các khối u NTX nguyên vẹn từ 46 bệnh nhân mắc các bệnh ung thư ruột kết (CR), u melanin (SK), thận (KD), phổi (LU), buồng trứng (OV), nội mạc tử cung (EM), vú (BR), gan (LIV), hoặc tụy (PA). Các mô ruột kết bình thường (NormCR) và tụy bình thường (NormPA) được sử dụng làm đối chứng. Cụ thể hơn nữa, các khối u phổi được phân loại thêm nữa là các ung thư phổi tế bào nhỏ (SCLC), ung thư tế bào có vảy (SCC), hoặc ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn (LCNEC). Các mẫu ARN được chạy 3 lần sử dụng quy trình của nhà sản xuất và dữ liệu thu được được phân tích bằng cách sử dụng các thực hành trong công nghiệp chuẩn để chuẩn hóa và chuyển giá trị cường độ đo được thu được với gen chủ thể của mỗi mẫu. Thuật toán tạo nhóm

phân cấp Pearson Spearman không chệch trong bộ R/BioConductor của các gói được gọi là hclust.2 được sử dụng để tạo sơ đồ hình cây vi dãy phản ứng chuẩn cho 48 mẫu này. Như đã biết trong lĩnh vực này R/BioConductor là nguồn mở, ngôn ngữ lập trình thống kê được sử dụng rộng rãi trong học thuật, tài chính, và công nghiệp dược để phân tích dữ liệu. Nhìn chung, các khối u được sắp xếp và tạo nhóm dựa trên các mô hình biểu hiện gen, cường độ biểu hiện, v.v..

Như được thể hiện trên Fig. 7A, sơ đồ hình cây thu được từ 48 mẫu và đi qua toàn bộ 19380 gen, nhóm các dòng NTX lại với nhau dựa trên loại u hoặc nguồn gốc mô của chúng. Một số khối u điển hình có liên quan đến các kiểu hình thần kinh nội tiết được nhóm lại với nhau trên một nhánh được biểu thị bởi (1); các khối u này bao gồm ung thư da, nhiều loại ung thư phổi khác nhau và các NET khác. Đáng quan tâm là, nhánh phụ, được biểu thị bởi (2), thể hiện rằng hai loại ung thư phổi tế bào lớn có các dấu hiệu thần kinh nội tiết (LU50.LCNEC và LU37.LCNEC) và ung thư phổi tế bào nhỏ (LU102.SCLC) được nhóm lại với khối u buồng trứng (OV26) và thận (KD66) (nhóm C) đề xuất rằng các khối u buồng trứng và thận này cũng có các kiểu hình thần kinh nội tiết. Hơn nữa, Fig. 7A thể hiện nhóm D có 3 khối u SCLC khác, và bên phải là nhóm nhỏ hơn (nhóm E) chứa khối u SCLC khác (LU100) và khối u nội mạc tử cung thần kinh nội tiết (EM6). Tất cả các khối u ở các nhóm D và E thường được hiểu là có một số dấu hiệu thần kinh nội tiết dựa trên tài liệu lý thuyết và các thử nghiệm bệnh học ở bệnh viện. Thực tế là nhóm G, chứa SCC, có thể được tìm thấy trên nhánh hoàn toàn khác của sơ đồ hình cây trên Fig. 7A, cho thấy rằng việc tạo nhóm không chỉ được điều khiển bởi cơ quan là nguồn gốc của khối u.

Kiểm tra chặt chẽ hơn tập hợp các chất đánh dấu gen có liên quan đến NET (Fig. 7B) thể hiện là chúng được biểu hiện mạnh trong các khối u bao gồm các nhóm C và D, trong khi đó chúng được biểu hiện rất yếu trong các khối u trong nhóm G (ung thư biểu mô tế bào có vảy ở phổi), đề xuất là các nhóm C và D điển hình cho NET hoặc các khối u có kiểu Fig. thần kinh nội tiết. Cụ thể hơn, các NET nhóm C biểu hiện ở mức độ cao ASCL1, CALCA, CHGA, SST và NKX2-1, trong khi các NET của nhóm D biểu hiện ở mức độ cao CHGA, ENO2, và NCAM1, và đó là sự biểu hiện các gen kiểu hình thần kinh nội tiết mà chịu trách nhiệm một phần về việc tạo nhóm các khối u này. Dấu hiệu đáng quan tâm là sự biểu hiện mạnh của KIT trong nhóm D, gen thường được báo cáo là có liên quan với u thần kinh nội tiết, nhưng có liên quan rõ

ràng với sự phát sinh ung thư trong các bối cảnh khác. Điều này trái ngược với các khối u SCC trong nhóm G mà không có sự biểu hiện mạnh gen bất kỳ trong số các gen này (Fig. 7B).

Các khối u trong nhóm C thể hiện kiểu hình phù hợp với sự giảm truyền tín hiệu Notch: thiếu sự biểu hiện của thụ thể Notch bất kỳ, tương đối thiếu sự biểu hiện của JAG1 và HES1, và các mức biểu hiện mạnh của ASCL1 (Fig.7C). Đáng quan tâm là, nhóm D thể hiện sự biểu hiện cao của HES6, yếu tố phiên mã mà có thể hỗ trợ hoạt tính ASCL1 bằng cách đối kháng với hoạt tính của HES1 thông qua sự hình thành đime khác loại.

Xem xét các kết quả trên, sự biểu hiện ARN thông tin của HES6 được kiểm tra từ nhiều dòng NTX khác nhau và các mô bình thường nhờ sử dụng Applied Biosystems 7900HT Machine (Life Technologies) để thực hiện RT-PCT định lượng theo thời gian thực Taqman (qRT-PCR) theo quy trình của nhà sản xuất. ARN được phân lập như được mô tả trên đây và được kiểm tra để đảm bảo có chất lượng phù hợp cho việc phân tích sự biểu hiện gen. ARN từ các mô bình thường được thu mua (Agilent Technologies và Life Technologies). 200 ng ARN được sử dụng để tổng hợp cADN nhờ sử dụng kit lưu trữ cADN (Life Technologies). cADN được sử dụng cho phân tích qRT-PCR trên Taqman Low Density Arrays (TLDA; Life Technologies) bao gồm thử nghiệm Taqman HES6 để đo mức ARN thông tin của HES6.

Mức ARN thông tin của HES6 được thể hiện cho mỗi dòng NTX hoặc mẫu mô bình thường (dấu chấm đơn trên đồ thị) sau khi chuẩn hóa với các đối chứng nội sinh. Các trị số đã chuẩn hóa được lập đồ thị so với sự biểu hiện trung bình trong các mô bình thường về độc tính liên quan (NormTox). Kỹ thuật này cho phép nhận dạng và xác định đặc trưng nhanh nhiều loại khối u khác nhau có các đặc điểm thần kinh nội tiết từ ngân hàng khối u NTX nhờ phép đo HES6 và các chất đánh dấu thích hợp khác. Fig. 7D minh họa sự biểu hiện quá mức phổ biến của HES6 ở các khối u được lấy mẫu có các đặc điểm thần kinh nội tiết (ví dụ, LU-SCLC, LU-LCNEC) so với các mô bình thường, u vú, ruột kết, gan và các khối u được chọn khác. Các dữ liệu qPCR và vi dãy phản ứng này thể hiện một cách có ý nghĩa rằng có ít nhất một số khối u nội mạc tử cung, thận và buồng trứng có thể biểu hiện dấu hiệu của u thần kinh nội tiết (các Fig. 7A và 7D).

Dữ liệu vi phản ứng được tạo ra như mô tả ở trên không chỉ thể hiện rằng các khối u trong các nhóm C, D và E biểu thị các chất đánh dấu thần kinh nội tiết khác nhau, mà còn thể hiện rằng các khối u trong các nhóm này biểu hiện các chất đánh dấu thể hiện sự hình thành tế bào thần kinh, nhiệm vụ thần kinh hoặc quá trình biệt hóa hướng đến sự chết thần kinh (Fig. 7E). Được đặc biệt quan tâm, các khối u trong nhóm D thường thể hiện sự điều hòa tăng mạnh hơn và ổn định hơn nhiều trong số chất đánh dấu này (ví dụ, các thụ thể BEX1 và BEX4, CD56, NRCAM, SEMA, yếu tố SOX và ZIC) và thường làm giảm sự điều hòa tăng hormon so với các nhóm khác, gợi ý về kiểu hình giống thần kinh hơn.

Ví dụ 3

Biểu hiện SEZ6 ARN thông tin trong các khối u

Các dấu hiệu thần kinh và thần kinh nội tiết

Các kỹ thuật khác nhau được sử dụng để xác định khối u biểu hiện các đặc điểm thần kinh nội tiết bao gồm kỹ thuật giải trình tự hệ phiên mã nguyên vẹn (Ví dụ 1) và vi dãy phản ứng và qRT-PCR (Ví dụ 2). Do đó dữ liệu được tạo ra được phân tích thêm để tìm ra cac đích điều trị bệnh tiềm năng mà được biểu hiện cao ở các khối u thần kinh nội tiết khi so sánh với các khối u không phải thần kinh nội tiết và các mô bình thường. Như được bàn luận trong Ví dụ 1, đã phát hiện rằng SEZ6, protein đi qua màng duy nhất mà chủ yếu được biểu hiện trong não bình thường, có sự biểu hiện cao ở nhiều khối u thần kinh nội tiết (Fig. 6B).

Dữ liệu vi dãy phản ứng được tạo ra trong Ví dụ 2 cho thấy rằng các khối u nằm ở các nhóm C, D và E biểu hiện các chất đánh dấu thần kinh nội tiết (Fig. 7B) và các chất đánh dấu thần kinh (Fig. 7E). Đáng chú ý là, các khối u trong cùng các nhóm còn thể hiện mức nồng độ cao của sản phẩm phiên mã SEZ6, gợi ý rằng SEZ6 có liên quan đến các khối u có đặc điểm thần kinh và thần kinh nội tiết (Fig. 7F). Điều này phù hợp với vai trò đã biết của SEZ6 trong quá trình phát triển của não trước của trẻ sơ sinh và sự biểu hiện tiếp theo ở các vùng đặc hiệu của hồi hãi mã ở người lớn. SEZ6 được cho là đóng vai trò quan trọng trong quá trình nhận diện và truyền tín hiệu tế bào-tế bào. Các con đường phát triển thường được biểu hiện một cách không thích hợp ở các khối u.

Nhằm xác định các mức biểu hiện của ARN thông tin SEZ6 ở các dòng khối u NTX mẫu khác nhau, qRT-PCR được thực hiện nhờ sử dụng thử nghiệm Taqman

SEZ6 về cơ bản được mô tả trong ví dụ 2 nêu trên. Fig. 8A thể hiện sự biểu hiện của SEZ6 so với sự biểu hiện trung bình ở các mô bình thường và được chuẩn hóa đến sự biểu hiện của các gen đối chứng nội sinh ALAS1. Sự biểu hiện của gen SEZ6 được gia tăng hơn 10.000.000 lần ở các quần thể NTX thần kinh nội tiết so với các mô bình thường. Năm trong số các dòng SCLC NTX được thể hiện trên Fig. 8A là các mẫu ARN thông tin được chiết trực tiếp từ các mẫu sinh thiết ban đầu (p0). Sự biểu hiện SEZ6 ở các khối u không được cấy chuyển này chứng minh rằng sự biểu hiện SEZ6 không phải là kết quả thu được từ việc nuôi các khối u của người ở chuột. Ba typ phụ của NSCLC cũng được thể hiện trên Fig. 8A: LU25 là ung thư biểu mô tế bào xương sống, LU50 là ung thư biểu mô thần kinh nội tiết tế bào lớn (LCNEC), và LU85 là ung thư biểu mô tế bào có vảy (SCC). KDY66 và OV26, lần lượt là khối u ở thận và buồng trứng, được tạo nhóm trên vi dãy phản ứng với các khối u SCLC và LCNEC (Fig. 7A), đề xuất rằng chúng cũng có các đặc điểm thần kinh nội tiết.

Để mở rộng phân tích sự biểu hiện của SEZ6 đến dãy phản ứng rộng hơn của các mẫu khối u, qRT-PCR được thực hiện nhờ sử dụng Hệ Fluidigm BioMark™ HD. Vắn tắt là, 1 ng ARN, được chuẩn bị như được mô tả trong ví dụ 1, được chuyển thành cADN nhờ sử dụng kit lưu trữ cADN (Life Technologies). cADN được khuếch đại trước nhờ sử dụng thử nghiệm Taqman đặc hiệu cho SEZ6 và sau đó được sử dụng để thực hiện qRT-PCR. Sự biểu hiện ở các mô bình thường (NormTox hoặc Norm) được so sánh với sự biểu hiện ở các dòng NTX sau đây, trong đó con số trong ngoặc chỉ ra số lượng của các dòng NTX duy nhất được thử nghiệm: BR (5), CR (6), KDY (9), OV (16), PA (9), ung thư tuyến phổi (LU-Adeno) (7), LCNEC (2), SCC (11) và SCLC (15) (Fig. 8B). SCLC và LCNEC NTX thể hiện sự biểu hiện cao nhất của SEZ6, mặc dù một số biểu hiện của SEZ6 cũng được thấy ở các dòng NTX OV, PA, CR và LU-Adeno so với các mẫu mô bình thường.

"NormTox" thể hiện các mẫu mô bình thường sau đây: hai mẫu ruột kết, hai mẫu thận, hai mẫu gan, hai mẫu phổi, hai mẫu tuyến tụy, hai mẫu tim, một mẫu thực quản, một mẫu cơ vân, một mẫu da, một mẫu ruột non, một mẫu lách, một mẫu dạ dày và một mẫu khí quản. Một tập hợp các mô bình thường khác được gọi là "Norm" biểu thị các mẫu mô bình thường sau đây: não, vú, cổ tử cung buống trứng, tế bào đơn nhân máu ngoại vi, nhau, tuyến tiền liệt, tinh hoàn, tuyến ức và tuyến giáp. Hầu hết các mô bình thường đều không có sự biểu hiện của SEZ6, mặc dù sự biểu hiện thấp vẫn được

thấy ở tụy, ruột kết, gan và phổi và sự biểu hiện cao ở não. Một thử nghiệm Taqman đặc hiệu cho SEZ6 khác, sử dụng phương pháp giống như nêu trên, được tiến hành trên các dòng khối u NTX khác nhau. Số lượng của các dòng khối u được thử nghiệm đối với mỗi loại u được biểu thị là mẫu số, trong khi đó số lượng của các khối u biểu hiện SEZ6 được biểu thị là tử số: 1/5 CR, 2/2 GA, 1/1 GB (u nguyên bào thần kinh đệm), 1/1 KDY, 2/6 SK, 2/4 LU-Adeno, 2/2 LCNEC, 3/10 LU-SCC, 10/10 SCLC và 1/2 OV (dữ liệu không được thể hiện trên hình vẽ).

Tóm lại, các dữ liệu này đề xuất rằng SEZ6 được điều hòa tăng ở các khối u biểu thị đặc điểm thần kinh và thần kinh nội tiết, đề xuất rằng nó có thể đóng vai trò làm đích điều trị để điều trị các loại khối u này.

Ví dụ 4

Biểu hiện SEZ6 ARN thông tin trong nhiều mẫu khối u và mô bình thường khác nhau nhờ sử dụng qRT-PCR

Để mở rộng phân tích về sự biểu hiện của SEZ6 đến dãy phản ứng rộng hơn của mẫu khối u, Taqman qRT-PCR được thực hiện gần như được mô tả ở các ví dụ trước trên dãy phản ứng 384 giếng TissueScan™ qPCR (Origene Technologies). Dãy phản ứng này cho phép so sánh sự biểu hiện của gen trong 18 loại khối u rắn khác nhau, với nhiều mẫu thu được từ bệnh nhân khác nhau cho mỗi loại khối u và từ mô lân cận bình thường.

Về vấn đề này, các Fig. 9A và 9B lần lượt thể hiện các mức biểu hiện gen tuyệt đối và tương đối của SEZ6 trong các mẫu u nguyên vẹn (chấm xám) hoặc mô bình thường liền kề (NAT; chấm trắng) từ bệnh nhân có một trong mười tám loại khối u rắn khác nhau. Cụ thể hơn, Fig. 9A thể hiện mức biểu hiện ARN thông tin tuyệt đối của SEZ6 ở nhiều mẫu khối u nguyên vẹn hoặc mô bình thường gần kề phù hợp. Fig. 9B thể hiện mức biểu hiện của SEZ6 dưới dạng được chuẩn hóa theo β-actin và được vẽ đồ thị tương ứng với sự biểu hiện ở mô bình thường gần kề đối với mỗi loại khối u được phân tích. Các mẫu trong đó SEZ6 không được phát hiện được gán trị số Ct là 50, biểu thị chu kỳ khuếch đại cuối trong quy trình thử nghiệm. Mỗi chấm biểu hiện một mẫu tiêu bản mô, với trị số trung bình nhân được biểu hiện dưới dạng đường màu đen.

Nhờ sử dụng dãy phản ứng Origene, sự biểu hiện quá mức của SEZ6 được thấy ở tập hợp con ung thư tuyến thượng thận, gan, phổi, buồng trứng và tuyến tụy, nhiều

trong số đó biểu hiện các khối u thần kinh nội tiết hoặc khối u có các kiểu hình thần kinh nội tiết biệt hóa kém. Như được thể hiện bởi sự biểu hiện gen tuyệt đối trên Fig. 9A, tinh hoàn và tuyến tụy bình thường là các mô bình thường duy nhất có sự biểu hiện cao của SEZ6. Điều này đề xuất rằng SEZ6 có thể có vai trò trong quá trình tạo u và/hoặc sự tiến triển khối u ở nhiều loai khối u khác nhau bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở các khối u có các dấu hiệu thần kinh và thần kinh nội tiết.

Ví dụ 5

Tách dòng và biểu hiện các protein SEZ6 tái tổ hợp

SEZ6 của người

Nhằm tạo ra và phát triển tất cả các vật liệu tế bào và phân tử cần thiết trong sáng chế liên quan đến SEZ6 người, cADN (Fig. 3A; SEQ ID NO: 5) mã hóa protein SEZ6 hoàn chỉnh trưởng thành của người (Fig. 3B, SEQ ID NO: 6) được tạo ra như sau. cADN SEZ6 của người thương mại được mua từ Open Biosystems, trong đó trình tự cADN này tương ứng với số truy cập NCBI là BC146292. Sự sắp xếp thẳng hàng trình tự cho thấy protein được mã hóa bởi BC146292 này khác một số gốc so với trình tự RefSeq NP_849191 (xem các gốc 414, 415 và 417, Fig. 3C), mã hóa protein SEZ6 nội sinh của người. PCR được sử dụng để khuếch đại 2 đoạn cADN riêng biệt từ dòng BC146292, trong đó các đoạn mồi được sử dụng đưa các thay đổi mong muốn vào cADN ở các gốc 414-417 trong quá trình PCR chồng lặp để tạo ra cADN mã hóa protein SEZ6 trưởng thành có trình tự giống với trình tự được mã hóa bởi NM_178860, trình tự ARN thông tin mã hóa protein SEZ6 nội sinh của người. Dòng cADN được sửa này, được gọi là hSCRx17 (Fig. 3A), được sử dụng cho tất các các thao tác di truyền tiếp theo của các cấu trúc biểu hiện protein SEZ6 trưởng thành của người hoặc các đoạn của chúng.

Nhằm tạo ra chất điều biến đặc hiệu miễn dịch hoặc có phản ứng miễn dịch với phân tử SEZ6, gen dung hợp khảm được tạo ra, trong đó phần ECD của protein SEZ6 của người được dung hợp vào vùng chức năng Fc của IgG2 của người (Fig. 4A, SEQ ID NO: 8). Điều này được thực hiện như sau: cADN mã hóa ECD của SEZ6 được khuếch đại bằng PCR từ dòng cADN của hSCRx17 (Fig. 3A), và sản phẩm PCR này sau đó được tách dòng phụ vào vectơ biểu hiện được điều khiển bởi CMV trong khung và xuôi dòng trình tự peptit tín hiệu IgK và ngược dòng cADN Fc của IgG2 của người, nhờ sử dụng các kỹ thuật phân tử chuẩn. Trình tự cADN mã hóa protein dung hợp

hSEZ6-Fc, được gọi là ORF hSCRx17-Fc, được thể hiện trên Fig. 4A; trình tự protein tương ứng được mã hóa bởi ORF hSCRx17-Fc được thể hiện trên Fig. 4B (SEQ ID NO: 9). Các vùng được gạch chân của các trình tự tương ứng với Fc của IgG2 của người. Các vùng được gạch chân bôi đậm tương ứng với peptit tín hiện IgK, và các trình tự chữ đậm tương ứng với các phần của protein dung hợp được mã hóa bởi các vị trí giới hạn tách dòng áp hai bên của ECD của SEZ6.

Để tạo ra protein ECD của hSEZ6 tái tổ hợp, chiến lược dựa trên PCR tương tự được sử dụng. Đoạn cADN mã hóa ECD của SEZ6 được khuếch đại từ dòng cADN của hSCRx17 và được tách dòng phụ vào vectơ biểu hiện được điều khiển bởi CMV trong khung và xuôi dòng trình tự peptit tín hiệu IgK và trong khung ngược dòng của trình tự mã hóa đuôi epitop 9-Histidin (SEQ ID NO: 400).

Vectơ biểu hiện được điều khiển bởi CMV cho phép sự biểu hiện tạm thời ở mức cao ở các tế bào HEK-293T và/hoặc CHO-S. Huyền phù hoặc môi trường nuôi cấy bám dính của các tế bào HEK-293T, hoặc huyền phù chứa các tế bào CHO-S được chuyển nhiễm bằng các cấu trúc biểu hiện mã hóa các protein hSEZ6 ECD-Fc hoặc hSEZ6-ECD-His, nhờ sử dụng polyme polyetylenimin làm chất phản ứng chuyển nhiễm. Ba đến năm ngày sau khi chuyển nhiễm, các protein hSEZ6 ECD-Fc hoặc hSEZ6-ECD-His được tinh chế từ các dịch nổi tế bào được gạn trong nhờ sử dụng máy phát hiện AKTA và lần lượt các cột MabSelect SuRe™ Protein A (GE Healthcare Life Sciences) hoặc Nickel-EDTA (Qiagen).

Dòng tế bào ổn định biểu hiện quá mức SEZ6 tái tổ hợp của người được tạo ra nhờ sử dụng các vectơ virut chậm để biến nạp các tế bào HEK-293T như sau: Khuếch đại PCR được thực hiện nhờ sử dụng dòng hSCRx17 làm khuôn để tạo ra đoạn cADN mã hóa protein SEZ6 trưởng thành của người. Đoạn được tạo ra này được tách dòng phụ vào khung xuôi dòng trình tự mã hóa peptit tín hiệu IgK và đuôi epitop DDK đã được thao tác di truyền trước đó của vị trí đa tách dòng của pCDH-EF1-MCS-T2A-GFP (System Biosciences) nhờ sử dụng các kỹ thuật tách dòng phân tử chuẩn. Vectơ có xistron kép của virut chậm phát này được sử dụng để thao tác di truyền các dòng tế bào biểu hiện quá mức SEZ6-peptit T2A – polypeptit GFP của người. Trình tự T2A đẩy mạnh việc bỏ qua ribosom sự ngưng tụ liên kết peptit, tạo ra hai protein độc lập, trong trường hợp này là SEZ6 và GFP.

SEZ6 của chuột

Dòng tế bào ổn định biểu hiện quá mức SEZ6 tái tổ hợp của chuột được thao tác di truyền về cơ bản như được mô tả ở trên đối với SEZ6 tái tổ hợp của người. Các tế bào HEK-293T được biến nạp với vectơ virut chậm phát biểu hiện SEZ6 của chuột. Vectơ này được thao tác di truyền về cơ bản là như sau. Đoạn cADN (Fig. 5A; SEQ ID NO: 10) mã hóa protein SEZ6 trưởng thành của chuột được liệt kê dưới dạng RefSeq NM_021286 trong cơ sở dữ liệu NCBI (Fig. 5B; SEQ ID NO: 11) thu được bằng khuếch đại PCR từ cADN SEZ6 của chuột thương mại (Origene; #MC203634) và được tách dòng phụ xuôi dòng trình tự peptit tín hiệu IgK và trình tự đuôi epitop DDK đã được thao tác di truyền trước xuôi dòng vị trí đa tách dòng của pCDH-EF1-MCS-IRES-RFP (System Biosciences) nhờ sử dụng các kỹ thuật tách dòng phân tử chuẩn. Điều này tạo ra vectơ xistron kép của virut chậm phát mà được sử dụng để tạo ra dòng tế bào HEK-293T biểu hiện quá mức SEZ6 và RFP của chuột.

SEZ6 của chuột cống

Để tạo và phát triển tất cả các vật liệu phân tử và tế bào cần thiết trong sáng chế liên quan đến các protein SEZ6 của chuột cống, cADN (Fig. 5C, SEQ ID NO: 12) mã hóa protein SEZ6 hoàn chỉnh trưởng thành của chuột cống (Fig. 5D, SEQ ID NO: 13) thu được như sau. cADN mã hóa protein trưởng thành có chiều dài đầy đủ của chuột cống (tức là, protein có chiều dài đầy đủ thiếu peptit tín hiệu kiểu hoang) được khuếch đại từ cADN sẵn sàng chạy của não chuột cống (Clontech #639412). Sự sắp xếp thẳng hàng trình tự cho thấy ECD của protein được mã hóa để đồng nhất với protein SEZ6 nội sinh của chuột cống được liệt kê dưới dạng RefSeq NP_001099224 trên cơ sở dữ liệu NCBI. Dòng cADN này, được gọi là rSCRx17 (Fig. 5D), được sử dụng cho việc thao tác di truyền tiếp các cấu trúc biểu hiện các đoạn protein SEZ6 của chuột cống.

SEZ6 của khỉ Cynomolgus

Để tạo và phát triển tất cả các vật liệu phân tử và tế bào cần thiết trong sáng chế liên quan đến các protein SEZ6 của khỉ Cynomolgus, cADN (Fig. 5E, SEQ ID NO: 14) mã hóa protein SEZ6 của khỉ Cynomolgus (Fig. 5F, SEQ ID NO: 15) thu được như sau: Trình tự ORF SEZ6 của khỉ Cynomolgus được dự đoán được lắp ráp bằng phân tích tin sinh học theo cách sau: ORF của gen SEZ6 của người thu được từ số truy cập NCBI NM_178860 và được so sánh, nhờ sử dụng thuật toán BLAST, với các contig giải trình tự từng đoạn nhỏ ngắn ngẫu nhiên của toàn bộ bộ gen trên cơ sở dữ

liệu NCBI. Sau đó, kết quả BLAST được sử dụng để lắp ráp ORF của SEZ6 giả định của khỉ cynomolgus. Trình tự mã hóa peptit tín hiệu kiểu hoang được sự đoán của SEZ6 của khỉ cynomolgus được loại bỏ khỏi trình tự thu được từ BLAST này và được thay thế bằng trình tự mã hóa trình tự peptit tín hiệu của IgK. Sau khi tối ưu hóa codon để sản xuất ở các tế bào động vật có vú, trình tự ORF lai hoàn chỉnh này được được xếp thứ tự dưới dạng gen tổng hợp (GeneWiz). Dòng cADN được tối ưu hóa này, được gọi là cSCRx17 (Fig. 3E), được sử dụng để thao tác di truyền tiếp các cấu trúc biểu hiện các đoạn protein SEZ6 của khỉ cynomolgus.

SEZ6L và SEZ6L2 của người

Trong hệ gen của người, có hai gen có quan hệ gần với SEZ6 giống thể tương đồng 6 liên quan đến chứng co giật (SEZ6L) và giống thể tương đồng 6 liên quan đến chứng co giật 2 (SEZ6L2). Mặc dù tỉ lệ phần trăm tương đồng tổng quát là khá thấp giữa ba protein này (~42%), các đoạn nhỏ hơn có sự tương đồng hoàn hảo giữa các cặp hoặc tất cả ba protein này. Để kiểm tra khả năng phản ứng chéo bất kỳ của chất điều biến kháng SEZ6 với các protein SEZ6L và SEZ6L2 của người, các khung đọc mở mã hóa các ECD của protein SEZ6L của người (NP_0066938) và protein SEZ6L2 của người (NP_001230261) được tổng hợp và tối ưu hóa codon (GeneWiz). Các trình tự cADN được tối ưu hóa này mã hóa các ECD của các protein SEZ6L hoặc SEZ6L2 của người được thể hiện trên các Fig. 5G và 5I.

Vật liệu cho các nghiên cứu khả năng phản ứng chéo

Vật liệu được tạo ra nhằm nghiên cứu xem chất điều biến SEZ6 theo sáng chế có phản ứng chéo với các thể tương đồng SEZ6 của chuột cống và/hoặc của khỉ cynomolgus, hoặc với các protein SEZ6L và SEZ6L2 có quan hệ gần của người hay không. Các gen dung hợp khảm được thiết kế, trong đó phần ECD của protein SEZ6 của chuột cống hoặc khỉ cynomolgus (lần lượt được gạch chân trên các Fig. 5D và 5F) được dung hợp vào đuôi epitop 9-Histidin (SEQ ID NO: 400). Nhờ sử dụng PCR, đoạn cADN mã hóa ECD của protein SEZ6 của chuột cống hoặc khỉ cynomolgus lần lượt được khuếch đại từ rSCRx17 hoặc cSCRx17, và được tách dòng phụ vào vectơ biểu hiện được điều khiển bởi CMV trong khung và xuôi dòng trình tự peptit tín hiệu IgK và trong khung và ngược dòng trình tự mã hóa đuôi epitop 9-Histidin (SEQ ID NO: 400). Tương tự, các gen dung hợp khảm được thiết kế trong đó khung đọc mở mã hóa phần ECD của các protein SEZ6L hoặc SEZ6L2 của người được tách dòng phụ

vào vectơ biểu hiện được điều khiển bởi CMV trong khung và xuôi dòng trình tự peptit tín hiệu IgK và trong khung và ngược dòng trình tự mã hóa đuôi epitop 9-Histidin (SEQ ID NO: 400). Trình tự protein được mã hóa thu được đối với các protein dung hợp lần lượt được thể hiện trên các Fig. 5H và 5J, với trình tự được gạch chân thể hiện ECD của protein cụ thể đang được xem xét.

Các vectơ ECD-His của SEZ6 của chuột cống hoặc khỉ cynomolgus được tạo ở trên lần lượt được sử dụng để sản xuất và tinh chế protein rSEZ6-ECD-His và cSEZ6-ECD-His tái tổ hợp như sau: nhờ sử dụng các kỹ thuật được thừa nhận trong lĩnh vực này, huyền phù và các môi trường nuôi cấy bám dính của các tế bào HEK-293T hoặc huyền phù tế bào CHO-S được chuyển nhiễm bằng các vectơ biểu hiện mã hóa protein rSEZ6-ECD-His hoặc cSEZ6-ECD-His. Polyme polyetylenimin được sử dụng làm chất phản ứng chuyển nhiễm. Ba đến năm ngày sau khi chuyển nhiễm, protein rSEZ6-ECD-His hoặc cSEZ6-ECD-His được tinh chế từ các dịch nổi tế bào được gạn trong nhờ sử dụng máy phát hiện AKTA và cột Nickel-EDTA (Qiagen). Tương tự, các vectơ SEZ6L và SEZ6L2 ECD-His của người được sử dụng để sản xuất và tinh chế các protein SEZ6L người tái tổ hợp và SEZ6L2 người ECD-His, như được mô tả đối với các thể tương đồng của chuột cống và khỉ cynomolgus.

Ví dụ 6

Tạo ra chất điều biến kháng SEZ6 của chuột

Chất điều biến SEZ6 dưới dạng các kháng thể của chuột được sản xuất theo các đề xuất ở đây thông qua việc chủng ngừa bằng SEZ6-Fc của người. Về mặt này, ba chủng chuột được sử dụng để tạo ra chất điều biến kháng thể đơn dòng của chuột có ái lực cao mà có thể được sử dụng để kết hợp và/hoặc ức chế tác dụng của SEZ6 để ngăn ngừa và/hoặc điều trị các rối loạn tăng sinh khác nhau. Cụ thể là, các chủng chuột nhắt Balb/c, CD-1 và FVB được gây miễn dịch bằng SEZ6-Fc tái tổ hợp của người và được sử dụng để tạo ra các thể lai.

Kháng nguyên SEZ6-Fc được tinh chế từ dịch nổi của các tế bào CHO-S biểu hiện quá mức cấu trúc SEZ6-Fc như được nêu trong Ví dụ 5 (các Fig. 4A và 4B). 10μg chất sinh miễn dịch SEZ6-Fc được sử dụng để gây miễn dịch lần thứ nhất, tiếp theo là lần lượt 5 μg và 2,5 μg chất sinh miễn dịch SEZ6-Fc cho ba lần gây miễn dịch và năm lần gây miễn dịch tiếp theo. Tất cả các lần gây miễn dịch này được thực hiện với chất sinh miễn dịch được nhũ tương hóa với thể tích tương đương TITERMAX® Gold

(CytRx Corporation) hoặc tá dược phèn lỏng. Các kháng thể của chuột được tạo ra bằng cách gây miễn dịch sáu chuột cái (cứ mỗi hai chuột: Balb/c, CD-1, FVB) qua gan bàn chân đối với tất cả các lần tiêm.

Các thử nghiệm ELISA pha rắn được sử dụng để sàng lọc huyết thanh chuột nhắt đối với các kháng thể IgG của chuột nhắt đặc hiệu đối với SEZ6 của người. Tín hiệu dương tính trên nền là chỉ báo về các kháng thể đặc hiệu với SEZ6. Một cách vắn tắt, đĩa 96 giếng (VWR International, Cat. #610744) được phủ bằng SEZ6-His tái tổ hợp ở nồng độ 0,5µg/ml trong đệm phủ ELISA qua đêm. Sau khi rửa bằng PBS chứa 0,02% (v/v) Tween 20, giếng được phong bế bằng 3% (khối lượng/thể tích) BSA trong PBS, 200µl/giếng trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng (RT). Huyết thanh chuột nhắt được chuẩn độ (1:100, 1:200, 1:400, và 1:800) và bổ sung vào các đĩa được phủ SEZ6 ở mức 50µl/giếng và ủ ở RT trong 1 giờ. Rửa đĩa và sau đó ủ với 50µl/giếng IgG dê kháng chuột được đánh dấu bằng HRP được pha loãng theo tỷ lệ 1:10.000 trong 3% BSA-PBS hoặc 2% FCS trong PBS trong 1 giờ ở RT. Các đĩa được rửa lại và 40µl/giếng dung dịch cơ chất TMB (Thermo Scientific 34028) được bổ sung trong 15 phút ở RT. Sau khi hiện kết quả, lượng tương đương của 2N H_2SO_4 được bổ sung để dừng sự phát triển cơ chất và các đĩa được phân tích bằng máy đo quang phổ ở OD 450.

Chuột được gây miễn dịch dương tính trong huyết thanh được làm chết và rút dịch trong các hạch lymphô (vùng kheo và bẹn, và vùng chậu giữa nếu lan rộng) được giải phẫu và được sử dụng làm nguồn tế bào sinh kháng thể. Huyền phù tế bào đơn của tế bào B ($228,9x10^6$ tế bào) được dung hợp với các tế bào đa u tủy không tiết P3x63Ag8.653 (ATCC #CRL-1580) với tỷ lệ 1:1 bằng điện dung nạp. Điện dung nạp được thực hiện nhờ sử dụng Hệ BTX Hybrimmune™ System, (BTX Harvard Apparatus) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau quy trình dung hợp này, các tế bào được tạo huyền phù lại trong môi trường chọn lọc thể lai được bổ sung bằng Azaserin (Sigma #A9666), môi trường DMEM chứa nồng độ glucoza cao với natri pyruvat (Cellgro cat#15-017-CM) chứa 15% huyết thanh bào thai bò dòng I (Hyclone), 10% BM Condimed (Roche Applied Sciences), 4 mM L-glutamin, 100 IU Penixillin-Streptomyxin và 50 µM 2-mercaptoetanol và sau đó được cấy trải trong ba bình T225 trong 90mL môi trường chọn lọc cho mỗi bình. Các bình này sau đó được đặt trong tủ

nuôi cấy 37°C được làm ẩm chứa không khí 5% CO_2 và 95% không khí trong 6-7 ngày.

Sau 6-7 ngày sinh trưởng, thư viện chứa các tế bào được nuôi với lượng lớn trong T225 được đặt ở nồng độ 1 tế bào mỗi giếng trong đĩa Falcon đáy hình chữ U 96 giếng sử dụng thiết bị phân loại tế bào Aria I. Sau đó các thể lai đã chọn được nuôi trong 200µl môi trường nuôi cấy chứa 15% huyết thanh bào thai bò Dòng I (Hyclone), 10% BM-Condimed (Roche Applied Sciences), 1mM natri pyruvat, 4mM L-glutamin, 100IU Penixillin-Streptamyxin, 50µM 2-mercaptoetanol, và 100µM hypoxantin. Tế bào trong thư viện lai còn lại chưa được sử dụng bất kỳ được làm đông lạnh cho việc thử nghiệm thư viện tương lai. Sau mười đến mười một ngày sinh trưởng, các dịch nổi từ mỗi giếng chứa tế bào được cấy trải được thử nghiệm về các kháng thể có phản ứng với SEZ6 bằng các thử nghiệm ELISA và FACS.

Để sàng lọc bằng ELISA, các đĩa 96 giếng được phủ bằng SEZ6-Fc ở nồng độ 0,3 µg/mL trong PBS qua đêm ở 4°C. Các đĩa được rửa và được phong bế bằng BSA 3% trong PBS/Tween trong một giờ ở nhiệt độ 37°C và được sử dụng ngay hoặc được giữ ở 4°C. Các dịch nổi chứa thể lai không được pha loãng được ủ trên các đĩa này trong một giờ ở RT. Các đĩa được rửa và được dò bằng kháng thể IgG dê kháng chuột được đánh dấu bằng HRP được pha loãng theo tỷ lệ 1:10.000 trong 3% BSA-PBS trong một giờ ở RT. Sau đó ủ các đĩa với dung dịch cơ chất như được mô tả trên đây và đọc đĩa ở OD 450. Các giếng chứa globulin miễn dịch mà ưu tiên liên kết với SEZ6 của người, như xác định được bằng tín hiệu trên mức nền, được chuyển và được mở rộng.

Các giếng chứa tế bào u dương tính phát triển được chọn tiết ra globulin miễn dịch của chuột cũng được sàng lọc về tính đặc hiệu với SEZ6 của người và khả năng phản ứng chéo với SEZ6 của khỉ cynomolgus, chuột cống và chuột nhờ sử dụng phân tích đếm tế bào theo dòng dựa trên thử nghiệm với 293 tế bào được thao tác di truyền để biểu hiện quá mức kháng nguyên được chọn hoặc các cấu trúc được tạo ra trong ví dụ trước.

Đối với các thử nghiệm đếm tế bào theo dòng, $50x10^4$ tế bào h293 được biến nạp lần lượt bởi SEZ6 của người, khỉ cynomolgus, chuột cống hoặc chuột được ủ trong thời gian 30 phút với 25 đến 100µl dịch nổi chứa tế bào u. Rửa các tế bào bằng PBS, 2% FCS, hai lần và sau đó ủ với 50 µL phân đoạn Fc của IgG dê kháng chuột

được liên hợp đặc hiệu thứ cấp với DyLight 649 được pha loãng theo tỷ lệ 1:200 trong PBS/2%FCS. Sau khi ủ 15 phút, các tế bào được rửa hai lần bằng PBS, 2%FCS, và được tạo huyền phù lại trong cùng dung dịch đệm với DAPI và được phân tích bằng kỹ thuật đếm tế bào theo dòng nhờ sử dụng FACSCanto II theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các giếng chứa globulin miễn dịch mà ưu tiên liên kết với các tế bào $SEZ6^+$ GFP^+ được chuyển và được mở rộng. Các tế bào u lai vô tính đặc hiệu hSEZ6 thu được được bảo quản đông lạnh trong môi trường đông lạnh CS-10 (Biolife Solutions) và giữ trong nitơ lỏng. Các kháng thể mà liên kết với các tế bào SEZ6 của người, khỉ cynomolgus, chuột cống hoặc chuột được lưu ý là phản ứng chéo (xem Fig. 11A).

ELISA và phân tích đếm tế bào theo dòng xác nhận rằng kháng thể đã tinh chế từ hầu hết hoặc tất cả các tế bào u lai này liên kết với SEZ6 theo cách phụ thuộc nồng độ. Các giếng chứa globulin miễn dịch mà liên kết với các tế bào SEZ6 GFP được chuyển và mở rộng. Các tế bào lai vô tính thu được được bảo quản đông lạnh trong môi trường đông lạnh CS-10 (Biolife Solutions) và giữ trong nitơ lỏng.

Việc dung hợp được thực hiện và cấy trong 48 đĩa (4608 đĩa với hiệu quả tách dòng xấp xỉ 40%). Việc sàng lọc ban đầu tạo ra sáu mươi ba kháng thể của chuột mà kết hợp với SEZ6 của người. Sàng lọc lần thứ hai được thực hiện sau đó và tạo ra 134 kháng thể mà kết hợp với SEZ6 của người.

Ví dụ 7

Giải trình tự chất điều biến SEZ6 của chuột

Dựa trên nội dung nêu trên, nhiều kháng thể đơn dòng riêng biệt được lấy làm ví dụ mà liên kết các tế bào SEZ6 hoặc h293-hSEZ6 của người bất động với ái lực cao rõ ràng được chọn lọc để giải trình tự và phân tích thêm. Như được thể hiện trong dạng bảng ở các Fig. 10A và 10B, phân tích trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ (Fig. 10A) và các vùng biến đổi của chuỗi nặng (Fig. 10B) từ các kháng thể đơn dòng đã chọn được tạo ra trong ví dụ 6 đã xác nhận rằng nhiều vùng có các vùng quyết định bổ sung mới và thường thể hiện các sắp xếp VDJ mới. Lưu ý rằng các vùng quyết định bổ sung được nêu trong Fig. 10A và 10B được xác định theo Chothia et at. (nêu trên).

Là bước đầu tiên trong việc giải trình tự chất điều biến ví dụ, các tế bào u lai được chọn đã ly giải trong chất phản ứng Trizol® (Trizol Plus RNA Purification System, Life Technologies) để điều chế ARN. Về vấn đề này, khoảng 10^4 đến 10^5 tế bào được tạo huyền phù lại trong 1ml Trizol và lắc mạnh sau khi bổ sung 200 µL

cloroform. Mẫu sau đó được ly tâm ở 4°C trong 10 phút và pha nước được chuyển vào ống vi ly tâm mới, trong đó lượng tương đương của isopropanol được bổ sung vào. Các ống lại được lắc mạnh và để ủ ở RT trong 10 phút trước khi được ly tâm ở 4°C trong 10 phút. Pelet ARN thu được được rửa 1 lần bằng 1 mL cồn 70% và làm khô nhanh ở RT trước khi được tạo huyền phù lại trong 40µl nước được xử lý bằng DEPC. Chất lượng của chế phẩm ARN được xác định bằng cách phân đoạn 3µl trong gel agaroza 1% trước khi bảo quản ở -80°C cho đến khi sử dụng.

Vùng biến đổi của chuỗi nặng Ig của mỗi tế bào u lai được khuếch đại nhờ sử dụng hỗn hợp mồi 5' chứa 32 đoạn mồi trình tự dẫn đặc hiệu của chuột, được thiết kế để hướng đích nguồn V_H hoàn toàn của chuột, kết hợp với mồi Cγ 3' của chuột nhắt đặc hiệu cho tất cả các isotyp Ig của chuột nhắt. Đoạn PCR 400 bp của V_H được giải trình tự từ cả hai đầu sử dụng cùng các đoạn mồi PCR. Tương tự, hỗn hợp gồm 32 đoạn mồi trình tự dẫn 5' Vκ được thiết kế để khuếch đại mỗi họ trong số các họ Vκ của chuột được kết hợp với đoạn mồi đảo đơn đặc hiệu với vùng hằng định kappa chuột được sử dụng để khuếch đại và giải trình tự chuỗi nhẹ kappa. Các sản phẩm phiên mã V_H và V_L được khuếch đại từ 100 ng ARN tổng bằng cách sử dụng phản ứng chuỗi polymeraza transcriptaza đảo PCR (RT-PCR).

Tổng số tám phản ứng RT-PCR được chạy cho mỗi thể lai: bốn cho chuỗi nhẹ Vκ và bốn cho chuỗi nặng V gamma (γ1). Kit One Step RT-PCR được sử dụng để khuếch đại (Qiagen). Kit này cung cấp hỗn hợp Sensiscript và Omniscript Reverse Transcriptaza, HotStarTaq ADN Polymeraza, hỗn hợp dNTP, đệm và dung dịch Q, chất bổ sung mới mà cho phép khuếch đại hiệu quả các khuôn "khó" (ví dụ, giàu trình tự GC-rich). Hỗn hợp phản ứng được điều chế bao gồm 3µl ARN, 0,5 đoạn mồi chuỗi nhẹ kappa hoặc chuỗi nặng 100 µM (được tổng hợp theo yêu cầu bởi IDT), 5µl đệm 5x RT-PCR, 1µl dNTP, 1µl hỗn hợp enzym chứa enzym phiên mã ngược và ADN polymeraza, và 0,4µl chất ức chế ribonucleaza RNasin (1 đơn vị). Hỗn hợp phản ứng chứa tất cả chất phản ứng cần thiết cho cả phiên mã ngược và PCR. Chương trình chu kỳ nhiệt được cài đặt cho bước RT 50°C trong 30 phút, 95°C trong 15 phút, sau đó là 30 chu kỳ PCR (95°C trong 30 giây, 48°C trong 30 giây, 72°C trong một phút). Sau đó bước ủ cuối cùng ở 72°C trong 10 phút.

Để điều chế sản phẩm PCR để giải trình tự ADN trực tiếp, chúng được tinh chế bằng cách sử dụng kit tinh chế QIAquick™ PCR Purification Kit (Qiagen) theo hướng

dẫn của nhà sản xuất. ADN được rửa giải từ cột quay sử dụng 50µl nước vô trùng và sau đó được giải trình tự trực tiếp từ cả hai sợi. Sản phẩm PCR đã chiết được giải trình tự trực tiếp nhờ sử dụng các đoạn mồi vùng V đặc hiệu. Trình tự nucleotit được phân tích bằng cách sử dụng IMGT để xác định các thành viên gen V, D và J dòng phôi có độ tương đồng trình tự cao nhất. Các trình tự thu được được so sánh với các trình tự ADN dòng phôi đã biết của các vùng V- và J- của Ig bằng cách sử dụng V-BASE2 (Retter et al., nêu trên) và bằng cách sắp xếp thẳng hàng các gen V_H và V_L với cơ sở dữ liệu dòng phôi của chuột để đưa ra các trình tự được chú giải được đề cập trong các Fig. 10A và 10B.

Cụ thể hơn, Fig. 10A thể hiện các trình tự axit amin liên tục của bảy mươi lăm vùng biến đổi chuỗi nhẹ mới của chuột từ các kháng thể kháng SEZ6 (các SEQ ID NO: 20 – 168, các số chẵn) và mười một vùng biến đổi chuỗi nhẹ được làm tương thích với người (các SEQ ID NO: 170 – 192, các số chẵn) có nguồn gốc từ các chuỗi nhẹ điển hình của chuột. Tương tự, Fig. 10B thể hiện các trình tự axit amin liên tục của bảy mươi lăm vùng biến đổi chuỗi nặng mới của chuột (các SEQ ID NO: 21 – 169, các số lẻ) từ cùng các kháng thể kháng SEZ6 và mười một vùng biến đổi của chuỗi nặng được làm tương thích với người (các SEQ ID NO: 171 – 193, các số lẻ) từ cùng kháng thể của chuột cung cấp các chuỗi nhẹ được làm tương thích với người. Do đó, các Fig. 10A và 10B thể hiện các trình tự được giải thích của bảy mươi lăm kháng thể kháng SEZ6 hoạt động của chuột (được gọi là SC17.1, SC17.2, SC17.3, SC17.4, SC17.8, SC17.9, SC17.10, SC17.11, SC17.14, SC17.15, SC17.16, SC17.17, SC17.18, SC17.19, SC17.22, SC17.24, SC17.27, SC17.28, SC17.29, SC17.30, SC17.32, SC17.34, SC17.35, SC17.36, SC17.38, SC17.39, SC17.40, SC17.41, SC17.42, SC17.45, SC17.46, SC17.47, SC17.49, SC17.50, SC17.53, SC17.54, SC17.56, SC17.57, SC17.59, SC17.61, SC17.63, SC17.71, SC17.72, SC17.74, SC17.76, SC17.77, SC17.79, SC17.81, SC17.82, SC17.84, SC17.85, SC17.87, SC17.89, SC17.90, SC17.91, SC17.93, SC17.95, SC17.97, SC17.99, SC17.102, SC17.114, SC17.115, SC17.120, SC17121, SC17.122, SC17.140, SC17.151, SC17.156, SC17.161, SC17.166, SC17.187, SC17.191, SC17.193, SC17.199 và SC17.200) và mười một kháng thể được làm tương thích với người (được gọi là hSC17.16, hSC17.17, hSC17.24, hSC17.28, hSC17.34, hSC17.46, hSC17.151, hSC17.155, hSC17.156, hSC17.161 và hSC17.200). Lưu ý rằng cùng các ký hiệu này có thể đề cập

đến dòng mà tạo ra kháng thể mục tiêu và, do đó, việc sử dụng ký hiệu cụ thể bất kỳ nên được hiểu trong ngữ cảnh xung quanh của phần mô tả.

Ngoài ra, hSC17.200vL1 (SEQ ID NO: 192) là biến thể của cấu trúc chuỗi nhẹ được làm tương thích với người hSC17.200 (SEQ ID NO: 190), hSC17.155vH1 – vH6 (các SEQ ID NO: 193-198) là các biến thể của cấu trúc chuỗi nặng hSC.155 (SEQ ID NO: 184) mà có nguồn gốc từ SC17.90 (SEQ ID NO: 127) và hSC161vH1 (SEQ ID NO: 199) là biến thể của cấu trúc chuỗi nặng hSC17.161 (SEQ ID NO: 189). Như sẽ được bàn luận chi tiết hơn dưới đây, các biến thể này được cấu trúc và thử nghiệm để tối ưu hóa một hoặc nhiều đặc điểm sinh hóa của kháng thể gốc.

Hơn nữa, các trình tự axit nucleic tương ứng của mỗi trong số bảy mươi lăm chất điều biến chuột được lấy làm ví dụ và mười một chất điều biến ví dụ được làm tương thích với người và các biến thể nêu trên các Fig. 10A và 10B được bao gồm trong danh mục trình tự của đơn này (các SEQ ID NO: 220 – 399).

Với mục đích của sáng chế này, các SEQ ID NO của mỗi kháng thể cụ thể là liên tục. Do đó mAb SC17.1 chứa các SEQ ID NO: 20 và 21 lần lượt cho vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng. Về mặt này SC17.2 chứa các SEQ ID NO: 22 và 23, SC17.9 chứa các SEQ ID NO: 24 và 25, và v.v.. Hơn nữa, trình tự axit nucleic tương ứng cho mỗi trình tự axit amin của kháng thể trong các Fig. 10A và 10B được đưa vào đơn sáng chế này trong danh mục trình tự nộp kèm theo đây. Trong danh mục trình tự, trình tự axit nucleic bao gồm các trình tự SEQ ID NO nhiều hơn hai trăm lần trình tự axit amin tương ứng (chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ). Do đó, các trình tự axit nucleic mã hóa các trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của mAb SC17.1 (tức là, các SEQ ID NO: 20 và 21) bao gồm SEQ ID NO: 220 và 221 trong danh mục trình tự. Về mặt này, các trình tự axit nucleic mã hóa tất cả các trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được mô tả, bao gồm các trình tự mã hóa các cấu trúc được làm tương thích với người và các biến thể của chúng, được đánh số tương tự và bao gồm các SEQ ID NO: 220 đến 399.

Ví dụ 8

Tạo chất điều biến SEZ6 thể khảm và được làm tương thích với người

Như được nói đến ở trên, mười một trong số các kháng thể của chuột từ ví dụ 7 được làm tương thích với người nhờ sử dụng kỹ thuật ghép vùng quyết định bổ sung (CDR). Khung người cho các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được lựa chọn dựa trên sự

tương đồng trình tự và cấu trúc với gen dòng phôi chức năng của người. Về vấn đề này, sự tương đồng về cấu trúc được đánh giá bằng cách so sánh cấu trúc CDR chính tắc của chuột với các ứng cử viên của người có cùng các cấu trúc chính tắc như mô tả trong Chothia et at. (nêu trên).

Cụ thể hơn, mười một kháng thể của chuột SC17.16, SC17.17, SC17.24, SC17.28, SC17.34, SC17.46, SC17.151, SC17.155, SC17.156, SC17.161 và SC17.200 được làm tương thích với người nhờ sử dụng phương pháp ghép CDR được trợ giúp bởi máy tính (Abysis Database, UCL Business Plc.) và các kỹ thuật thao tác di truyền phân tử chuẩn để tạo ra chất điều biến hSC17.16, hSC17.17, hSC17.24, hSC17.28, hSC17.34, hSC17.46, hSC17.151, hSC17.155, hSC17.156, hSC17.161 và hSC17.200. Các vùng khung người của các vùng biến đổi này được lựa chọn dựa trên sự tương đồng trình tự cao nhất của chúng với trình tự khung ở chuột và cấu trúc chính tắc của nó. Đối với mục đích phân tích sự tương thích với người, việc gán các axit amin cho mỗi vùng chức năng CDR là theo cách đánh số của Kabat và các đồng tác giả (nêu trên).

Quy trình thao tác di truyền phân tử được thực hiện bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này. Cuối cùng, ARN thông tin tổng được chiết từ tế bào u lai và được khuếch đại như được đề cập trong ví dụ 7 ngay trên đây.

Từ những thông tin về trình tự nucleotit, dữ liệu liên quan đến các đoạn gen V, D và J của các chuỗi nặng và nhẹ của các kháng thể chuột được thu gom. Dựa trên các dữ liệu trình tự này, các bộ đoạn mồi mới đặc hiệu với trình tự dẫn đầu của chuỗi nhẹ V_H và V_K IgG của các kháng thể này được thiết kế để tách dòng kháng thể đơn dòng tái tổ hợp. Sau đó trình tự V-(D)-J được so sánh với trình tự dòng phôi Ig của chuột. Các dạng sắp xếp gen thu được đối với mỗi trong số mười một cấu trúc được làm tương thích với người được thể hiện trong Bảng 1 ngay dưới đây.

Bảng 1

mAb	VH người	DH người	JH người	Thay đổi FW	VK người	JK người	Thay đổi FW
hSC17.16	IGHV1-2	IGHD3-16	JH5	không	IGKV-O2	JK1	không
hSC17.17	IGHV1-2	IGHD4-11	JH4	không	IGKV-L6	JK2	không
shSC17.24	VH1-f	IGHD5-12	JH4	48I, 73K	VKB3	JK1	không
hSC17.28	IGHV1-2	IGHD3-16	JH4	không	IGKV-A10	JK4	không

hSC17.34	IGHV1-3	IGHD3-10	JH4	71V	IGKV-L1	JK1	71Y
hSC17.46	IGHV1-2	IGHD4-23	JH4	48I, 69L	IGKV-L11	JK1	87F
hSC17.151	IGHV1-46	IGHD1-14	JH4	không	VKL6	JK2	không
hSC17.155	IGHV1-46	IGHD2-2	JH4	không	VKB3	JK1	không
hSC17.156	IGHV2-26	IGHD4-17	JH4	không	VKO1	JK4	không
hSC17.161	IGHV1-2	IGHD1-14	JH4	không	VKB3	JK2	không
hSC17.200	IGHV5-51	IGHD4-17	JH4	không	IGKV-L6	JK4	không

Kháng thể được làm tương thích với người được liệt kê trong Bảng 1 tương ứng với các trình tự chuỗi nhẹ và chuỗi nặng được chú thích trên các Fig. 10A và 10B (các trình tự SEQ ID NO: 170-191). Các trình tự axit nucleic tương ứng của các vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng này được nêu trong danh mục trình tự. Bảng 1 còn chứng minh rằng rất ít thay đổi về khung làm việc là cần thiết để duy trì các đặc điểm có lợi của chất điều biến liên kết. Về mặt này, các thay đổi về khung làm việc hoặc các đột biến ngược chỉ được tạo ra ở ba trong số các vùng biến đổi chuỗi nặng và chỉ hai cải biến khung làm việc là được thực hiện trong vùng biến đổi chuỗi nhẹ.

Lưu ý rằng, đối với một số vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng được làm tương thích với người (ví dụ hSC17.200, hSC17.155 và hSC17.161), các đột biến axit amin bảo tồn được đưa vào các CDR để giải quyết mối lo ngại về độ ổn định trong khi vẫn duy trì sự liên kết kháng nguyên. Trong mỗi trường hợp, ái lực liên kết của các kháng thể này với các CDR cải biến được phát hiện là tương đương với kháng thể khảm hoặc kháng thể của chuột tương ứng. Các trình tự của chín chuỗi biến đổi được làm tương thích với người ví dụ (nhẹ và nặng,) được liệt kê ở cuối các Fig. 10A và 10B (các trình tự SEQ ID NO: 192 đến 199), trong đó chúng giữ nguyên ký hiệu của chuỗi mẹ được làm tương thích với người với chú thích là chúng đã được biến đổi (ví dụ hSC17.200vL1, hSC17.155vH1-6 và hSC17.161vH1).

Sau khi được làm tương thích với người tất cả các kháng thể được chọn bằng cách ghép CDR, trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng thu được được phân tích để xác định mức độ tương đồng của chúng với vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng thể cho là chuột và thể nhận là người. Các kết quả, được thể hiện trên Bảng 2 dưới đây, cho thấy rằng các cấu trúc được làm tương thích với người thể hiện ổn định sự tương đồng cao hơn đối với các trình tự thể nhận của người so với trình tự thể cho của chuột. Cụ thể hơn, các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được làm

tương thích với người thường thể hiện tỉ lệ phần trăm tương đồng cao hơn với bắt cặp gần nhất của gen dòng phôi của người (84%-95%) so với tỉ lệ phần trăm tương đồng của các trình tự vùng biến đổi được làm tương thích với người và các trình tự protein lai của thể cho (74%-89%).

Bảng 2

mAb	Tương đồng với kháng thể người (Thể cho CDR)	Tương đồng với kháng thể gốc của chuột (Thể nhận CDR)
hSC17.16 HC	91%	80%
hSC17.16 LC	86%	85%
hSC17.17 HC	93%	80%
hSC17.17 LC	87%	77%
hSC17.24 HC	86%	79%
hSC17.24 LC	93%	89%
hSC17.28 HC	89%	77%
hSC17.28 LC	92%	78%
hSC17.34 HC	85%	83%
hSC17.34 LC	84%	86%
hSC17.46 HC	85%	83%
hSC17.46 LC	84%	80%
hSC17.151 HC	90%	79%
hSC17.151 LC	87%	80%
hSC17.155 HC	90%	80%
hSC17.155 LC	95%	87%
hSC17.156 HC	89%	79%
hSC17.156 LC	86%	93%
hSC17.161 HC	89%	86%
hSC17.161 LC	93%	87%
hSC17.200 HC	90%	74%
hSC17.200 LC	88%	82%

Khi thử nghiệm, và như sẽ được bàn luận trong ví dụ 9, mỗi cấu trúc được làm tương thích với người thể hiện các đặc trưng liên kết tốt hơn so với các đặc trưng được thể hiện bởi các kháng thể gốc của chuột (dữ liệu không thể hiện trên hình vẽ).

Cho dù được làm tương thích với người hoặc của chuột, khi trình tự axit nucleic của các vùng biến đổi được xác định, các kháng thể của sáng chế này có thể được biểu hiện và phân lập bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này. Cuối cùng đoạn ADN tổng hợp của vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn (được làm tương thích với người hoặc của chuột) được tách dòng vào vector biểu hiện IgG1 của người. Tương tự, đoạn ADN của chuỗi nhẹ vùng biến đổi (được làm tương thích với người hoặc của chuột) được tách dòng vector biểu hiện chuỗi nhẹ của người. Kháng thể đã chọn sau đó đã được biểu hiện bằng cách đồng chuyển nhiễm cấu trúc axit nucleic chuỗi nhẹ và chuỗi nặng thu được vào các tế bào CHO.

Cụ thể hơn, một phương pháp tương thích để sản xuất kháng thể bao gồm tách dòng định hướng các gen vùng biến đổi của chuột hoặc được làm tương thích với người (khuếch đại bằng PCR) vào vectơ biểu hiện globulin miễn dịch của người đã chọn. Tất cả các đoạn mồi được sử dụng trong PCR đặc hiệu gen Ig bao gồm các vị trí giới hạn cho phép tách dòng định hướng vào vector biểu hiện chứa các vùng hằng định chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của IgG1 của người. Tóm lại, các sản phẩm PCR được tinh chế bằng kit tinh chế PCR Qiaquick (Qiagen) tiếp theo được cắt lần lượt bằng Age I và XhoI (cho chuỗi nặng) và XmaI và DraIII (cho chuỗi nhẹ). Sản phẩm PCR đã cắt được tinh chế trước khi nối vào vectơ biểu hiện. Phản ứng nối được thực hiện trong tổng thể tích 10 µl với 200U T4-ADN ligaza (New England Biolabs), 7,5µl sản phẩm PCR đặc hiệu gen được tinh chế và cắt và 25ng ADN vectơ được tạo mạch thẳng. Vi khuẩn E. coli DH10B khả biến (Life Technologies) được biến nạp bằng cách sốc nhiệt ở 42°C với 3µl sản phẩm nối và trải lên đĩa ampixilin (100mg/ml). Đoạn Agei-EcoRI của vùng V_H sau đó được chèn vào cùng vị trí của vectơ biểu hiện pEE6.4HuIgG1, trong khi đó đoạn gắn xen XmaI-DraIII VK tổng hợp được tách dòng vào vị trí XmaI-DraIII của vector biểu hiện pEE12.4 Hu-Kappa tương ứng.

Các tế bào sản sinh kháng thể đã chọn được tạo ra bằng cách chuyển nhiễm tế bào HEK 293 với các plasmit thích hợp bằng cách sử dụng 293fectin. Về bước này, ADN plasmit được tinh chế bằng cột QIAprep Spin (Qiagen). Tế bào 293T thận phôi người (HEK) (ATCC No CRL-11268) được nuôi cấy trong đĩa 150mm (Falcon, Becton Dickinson) trong điều kiện chuẩn trong môi trường Eagle cải biến của Dulbecco (DMEM) được bổ sung 10% FCS bất hoạt do nhiệt, 100µg/ml streptomyxin, 100U/mL penicillin G (tất cả từ Life Technologies).

Để chuyển nhiễm tạm thời, các tế bào được nuôi đến mức nhập dòng 80%. Lượng bằng nhau của ADN vectơ chuỗi IgH và IgL (12,5µg mỗi loại) được bổ sung vào 1,5ml Opti-MEM được trộn với 50µl chất phản ứng chuyển nhiễm HEK 293 trong 1,5ml Opti-MEM. Hỗn hợp được ủ trong 30 phút ở nhiệt độ phòng và phân bố đều trên đĩa nuôi cấy. Dịch nổi nuôi cấy được thu gom ba ngày sau khi chuyển nhiễm, thay thế bằng 20ml DMEM mới được bổ sung 10% FBS và được thu hoạch lại vào ngày thứ 6 sau khi chuyển nhiễm. Dịch nổi nuôi cấy được làm sạch các mảnh vụn tế bào bằng cách ly tâm 800×g trong 10 phút và bảo quản ở 4°C. Kháng thể thể khảm và được làm tương thích với người tái tổ hợp được tinh chế bằng các hạt protein G (GE Healthcare) và được bảo quản trong điều kiện thích hợp.

Ví dụ 9

Các đặc trưng của chất điều biến SEZ6s

Các phương pháp khác nhau được sử dụng để phân tích các đặc trưng liên kết và hóa miễn dịch của chất điều biến SEZ6 đã chọn được tạo ra như nêu trên. Cụ thể là, nhiều chất điều biến kháng thể được mô tả về mặt ái lực, phân nhóm và khả năng phản ứng chéo đối với kháng nguyên SEZ6 của người, khỉ cynomolgus, chuột cống và chuột cùng với các protein SEZ6L và SEZ6L2 bằng các phương pháp được thừa nhận trong lĩnh vực này bao gồm đếm tế bào theo dòng. Hằng số ái ực và động học $k_{mở}$ và $k_{đóng}$ của các chất điều biến đã chọn được đo bằng cách sử dụng phân tích giao thoa lớp sinh học trên ForteBio RED (ForteBio, Inc) hoặc cộng hưởng plasmon bề mặt sử dụng Biacore 2000 mỗi phương pháp theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Kết quả xác định đặc trưng được đưa ra dưới dạng bảng trong Fig. 11A, trong đó có thể thấy rằng chất điều biến được chọn thường biểu thị các ái lực tương đối cao ở phạm vi nanomol và, trong nhiều trường hợp, phản ứng chéo với một hoặc nhiều thể đồng đẳng SEZ6. Fig. 12 còn liệt kê bin được xác định theo kinh nghiệm được chiếm bởi chất điều biến theo sáng chế. Nói tóm lại, các dữ liệu này chứng minh các đặc điểm liên kết thay đổi của chất điều biến được mô tả cũng như khả năng phù hợp tiềm tàng của chúng đối với sự phát triển dược phẩm dựa trên khả năng phản ứng của chúng ở mô hình động vật.

Về mặt này, kỹ thuật đếm tế bào theo dòng được thực hiện bằng cách sử dụng FACSCanto II theo hướng dẫn của nhà sản xuất nhằm xác nhận rằng chất điều biến kháng thể SC17 được chọn có thể kết hợp đặc hiệu miễn dịch với SEZ6 của người và

để xác định xem cùng chất điều biến này có phản ứng chéo với SEZ6 của khỉ cynomolgus, chuột cống và/hoặc chuột ngoài SEZ6L và SEZ6L2. Cụ thể hơn, chất điều biến được kiểm tra về khả năng phản ứng chéo với SEZ6 của chuột nhắt và SEZ6 của chuột bằng phân tích đếm tế bào theo dòng đối với các dòng tế bào Neuro2a (ATCC Cat # CCL131), và RIN-m5F (ATCC cat # CRL-11605) mà lần lượt biểu hiện SEZ6 của chuột nhắt và SEZ6 của chuột cống. Để kiểm tra khả năng phản ứng chéo với SEZ6 của khỉ cynomolgus, nấm men biểu hiện vùng chức năng ngoại bào của SEZ6 của khỉ cynomolgus (Boder *et al*, 1997) được sử dụng cho phân tích đếm tế bào theo dòng.

Vắn tắt là $1x10^5$ tế bào trong mỗi giếng thuộc loại Neuro2a, RIN-5mF, hoặc nấm men biểu hiện các tế bào SEZ6 của khỉ cynomolgus được ủ trong 30 phút với 50µl đệm PBS (2%FCS) với 5µg/ml kháng thể. Các tế bào được rửa hai lần bằng cùng dung dịch đệm và sau đó ủ với 50µl mỗi mẫu IgG kháng chuột của dê được đánh dấu bằng DyLight 649, đoạn Fc đặc hiệu thứ cấp được pha loãng theo tỉ lệ 1:200 trong đệm PBS. Sau khi ủ trong 15 phút, các tế bào được rửa hai lần bằng dung dịch đệm PBS và được tạo huyền phù lại trong cùng dung dịch đệm này với DAPI để phân tích đếm tế bào theo dòng Neuro2a và Rin-m5F hoặc đệm không có DAPI để phân tích đếm tế bào theo dòng các tế bào nấm men có cSEZ6. Các kháng thể không liên kết vào các dòng tế bào Neuro2a hoặc RIN-m5F, hoặc nấm men biểu hiện SEZ6 của khỉ cynomolgus được xem là lần lượt phản ứng chéo với SEZ6 của chuột, SEZ6 của chuột cống hoặc SEZ6 của khỉ cynomolgus. Fig. 11A thể hiện các kết quả về khả năng phản ứng chéo. Sáu kháng thể là phản ứng chéo với SEZ6 của người và chuột (SC17.6, SC17.7, SC17.19, SC17.24, SC17.26 và SC17.42); sáu đối với SEZ6 của người và chuột (SC17.6, SC17.17, SC17.19, SC17.26, SC17.28, SC17.34 và SC17.42); và sáu đối với SEZ6 của người và khỉ cynomolgus (SC17.17, SC17.24, SC17.26, SC17.34, SC17.36 và SC17.45). Lưu ý rằng SC17.6 là bản sao của SC17.16 và thể hiện các đặc trưng liên kết giống nhau.

Để xác nhận dữ liệu về khả năng phản ứng chéo trên đây đối với SEZ6 của chuột và để xác định ái lực và hằng số động học $k_{mở}$ và $k_{đóng}$ của các phần tử tác động được chọn, phân tích giao thoa kế sinh lớp trên ForteBio RED (ForteBio, Inc.) hoặc cộng hưởng plasmon bề mặt trên Biacore 2000 (GE Healthcare) được thực hiện. Ái lực được xác định đối với cả SEZ6-His tái tổ hợp của người và SEZ6-His tái tổ hợp của

chuột được tạo ra trong Ví dụ 5. Như thấy trên Fig. 11A, nhiều kháng thể đã kiểm tra, phản ứng chéo với SEZ6 của chuột. Chất điều biến được chọn biểu hiện các ái lực tương đối cao đối với SEZ6 của cả chuột và người trong khoảng nanomol.

Để xác định khả năng phản ứng chéo với các protein thành viên của họ, SEZ6L và SEZ6L2, các thử nghiệm dựa trên ELISA được sử dụng. Các đĩa được phủ bằng các protein SEZ6, SEZ6L, hoặc SEZ6L2 ở nồng độ 0,2µg/ml trong PBS qua đêm. Sau khi rửa bằng PBS chứa 0,05% (v/v) Tween 20 (PBST), các giếng được phong bế bằng 2% (w/v) BSA trong PBS (PBSA), 100µl/giếng trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó bổ sung kháng thể ở nồng độ 1µg/ml trong 100µl PBSA trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi rửa bằng PBST, 100µl/giếng IgG của dê kháng chuột được đánh dấu bằng HRP được pha loãng tỉ lệ 1:2.000 trong PBSA trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Các đĩa được rửa và 100 µL/giếng dung dịch cơ chất TMB (Thermo Scientific 34028) được bổ sung trong 15 phút ở nhiệt độ phòng. Sau khi phát triển, thể tích tương đương của H_2SO_4 2M được bổ sung để dừng phát triển cơ chất và được phân tích bằng quang phổ kế ở OD 450. Fig. 11A thể hiện rằng một kháng thể phản ứng chéo SEZ6L (SC17.7) và năm kháng thể phản ứng chéo với SEZ6L2 (SC17.6, SC17.7, SC17.19, SC17.26 và SC17.28). Như được thảo luận ở trên, các kháng thể pan-SEZ6 này là phù hợp với các mô tả ở đây và có thể được sử dụng cùng với các phương pháp được mô tả.

Các đặc trưng liên kết của các cấu trúc được làm tương thích với người sau đây từ ví dụ 8, hSC17.16, hSC17.17, hSC17.24, hSC17.28, hSC17.34 và hSC17.46, được phân tích nhằm xác định xem quy trình ghép CDR có làm thay đổi một cách rõ ràng các đặc trưng liên kết của chúng hay không. Các cấu trúc được làm tương thích với người (được ghép CDR) được so sánh với kháng thể khảm "truyền thống" chứa các vùng chức năng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ mẹ (hoặc thể cho) của chuột và vùng hằng định của người gần như tương đương với vùng được sử dụng trong các cấu trúc được làm tương thích với người. Với các cấu trúc này, cộng hưởng plasmon bề mặt được thực hiện nhờ sử dụng Biacore 2000 (GE Healthcare) để nhận biết thay đổi khó thấy bất kỳ ở các hằng số tốc độ gây ra bởi quá trình làm tương thích với người. Trong tất cả các trường hợp, kháng thể được làm tương thích với người có ái lực liên kết tương đương hoặc tốt hơn các kháng thể tương ứng của chuột (Dữ liệu không được thể hiện).

Sự phân nhóm kháng thể được xác định đối với chất điều biến SEZ6 khác nhau như được thể hiện trên Fig. 11A. ForteBio RED được sử dụng theo hướng dẫn của nhà sản xuất để nhận biết các kháng thể cạnh tranh mà gắn vào các bin giống hoặc khác nhau. Một cách ngắn gọn, kháng thể tham chiếu (Ab1) được giữ lên một chip bắt giữ kháng chuột, sau đó nồng độ cao của kháng thể không liên kết được sử dụng để phong bế chip này và thu được đường cơ sở. SEZ6 tái tổ hợp, đơn phân của người (được mô tả trong ví dụ 5) sau đó sau đó được bắt giữ bởi kháng thể đặc hiệu (Ab1) và chóp này được nhúng vào giếng với cùng kháng thể (Ab1) làm đối chứng hoặc vào giếng với kháng thể thử nghiệm khác nhau (Ab2). Nếu quan sát được sự liên kết bổ sung với kháng thể mới, thì Ab1 và Ab2 được xác định nằm trong lớp khác. Nếu sự liên kết thêm không xảy ra, như được xác định bằng cách so sánh mức độ liên kết với Ab1 đối chứng, thì Ab2 được xác định là trong cùng lớp. Được biết trong lĩnh vực này, quá trình này có thể được mở rộng để sàng lọc các thư viện lớn của các kháng thể duy nhất sử dụng một hàng đầy đủ các kháng thể đại diện cho lớp duy nhất trong đĩa 96 giếng. Trong trường hợp này, quá trình phân nhóm cho thấy các kháng thể được sàng lọc liên kết với ít nhất 7 bin khác nhau trên protein SEZ6. Các bin A đến F là các bin duy nhất và các kháng thể chứa trong mỗi bin này cạnh tranh với nhau (nhưng không cạnh tranh với các kháng thể từ các bin được xác định khác) để gắn vào protein SEZ6. Bin U chứa các kháng thể mà không cạnh tranh với các kháng thể ở các bin A-F, nhưng có thể cạnh tranh để liên kết với nhau.

Ví dụ 10

Lập bản đồ epitop của chất điều biến SEZ6

Để xác định đặc trưng của các epitop mà chất điều biến kháng thể SEZ6 đã được mô tả kết hợp hoặc liên kết vào, việc lập bản đồ epitop mức độ vùng chức năng được thực hiện nhờ cải biến quy trình được mô tả bởi Cochran *et al.* (J Immunol Methods. 287 (1-2):147-158 (2004)) được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Từng vùng chức năng của SEZ6 được biểu hiện trên bề mặt của nấm men và liên kết bởi từng kháng thể SEZ6 được xác định thông qua kỹ thuật đếm tế bào theo dòng.

Nấm men biểu hiện cấu trúc plasmit được tạo ra để biểu hiện các cấu trúc sau: Vùng chức năng ngoại bào của SEZ6 (các axit amin 1-904); Vùng chức năng Sushi 1 (các axit amin 336-395), vùng chức năng CUB 1 (các axit amin 297-508), Vùng chức năng Sushi 2 (các axit amin 511-572), vùng chức năng CUB 2 (các axit amin 574-

685), Vùng chức năng Sushi 3 (các axit amin 690-748), Vùng chức năng Sushi 4 (các axit amin 750-813), Vùng chức năng Sushi 5 (các axit amin 817-878), và Vùng chức năng Sushi 5 + đầu cùng C (các axit amin 817-904). Ngoài ra, vùng chức năng có đầu cùng N (các axit amin 1-335) được chia thành 3 đoạn được gọi là N1 (các axit amin 1-70), N2 (các axit amin 71-169) và N3 (các axit amin 169-335), mỗi đoạn được tách dòng vào nấm men biểu hiện plasmit. Việc đánh số axit amin không bao gồm peptit dẫn. Để biết thêm thông tin vùng chức năng, xem Q53EL9 cổng cơ sở dữ liệu chung UniProtKB/Swiss-Prot. Các plasmit này được chuyển vào nấm men, sau đó nấm men này được nuôi và gây cảm ứng như được mô tả bởi Cochran *et al*. Lưu ý rằng việc đánh số tất cả các axit amin là dựa trên protein SEZ6 trưởng thành mà không có trình tự dẫn 19 aa.

Để kiểm tra khả năng liên kết với cấu trúc cụ thể, 200.000 tế bào nấm men được cảm ứng biểu hiện cấu trúc mong muốn được rửa hai lần trong PBS + 1mg/mL BSA (PBSA), và ủ trong 50µl PBSA với kháng c-myc của gà (Roche Diagnostics) ở 0,1µg/ml và 50nM kháng thể để tinh chế hoặc dịch pha loãng 1:2 của dịch nổi chưa được tinh chế từ tế bào lai được nuôi cấy 7 ngày. Các tế bào được ủ trong 90 phút trên đá lạnh và sau đó rửa hai lần trong PBSA. Các tế bào sau đó được ủ trong 50 µL PBSA với các kháng thể thứ cấp phù hợp: đối với các kháng thể của chuột, kháng thể dê kháng gà được liên hợp với Alexa 488 và kháng thể của dê kháng chuột được liên hợp với Alexa 647 (đều của Life Technologies) được bổ sung ở nồng độ 1µg/ml mỗi loại, và đối với kháng thể được làm tương thích với người hoặc thể khảm, kháng thể dê kháng gà được liên hợp với Alexa 647 (Life Technologies) và kháng thể của dê kháng người được liên hợp với R-phycoerythrin (Jackson Immunoresearch) được bổ sung ở nồng độ 1µg/mL mỗi loại. Sau khi ủ 20 phút trên nước đá, các tế bào được rửa hai lần bằng PBSA và phân tích trên FACS Canto II.

Tất cả chất điều biến chỉ gắn vào một vùng chức năng duy nhất được biểu hiện trên các tế bào nấm men. Trong một số trường hợp, các dòng kháng thể liên kết đặc hiệu vào nấm men biểu hiện vùng chức năng Sushi 5 + đầu cùng C nhưng không liên kết vào nấm men biểu hiện Vùng chức năng Sushi 5. Các dòng kháng thể này được được kết luận là chỉ liên kết vào vùng đầu cùng C (các axit amin 879-904).

Các epitop được phân loại là đối xứng (tức là không liên tục) hoặc tuyến tính. Nấm men biểu hiện cấu trúc SEZ6 ECD được xử lý nhiệt trong 30 phút ở 80°C để làm

biến tính kháng nguyên, được rửa hai lần trong PBSA lạnh trên đá và sau đó được đưa vào cùng một quy trình nhuộm và phân tích đếm tế bào theo dòng nêu trên. Các kháng thể liên kết với cả nấm men biến tính và nấm men tự nhiên được phân loại là liên kết với epitop tuyến tính, trong khi kháng thể liên kết với nấm men tự nhiên nhưng không liên kết với nấm men biến tính được phân loại là đặc hiệu cấu hình .

Tóm tắt dữ liệu lập bản đồ epitop mức độ vùng chức năng của các kháng thể đã kiểm tra được trình bày trong Bảng 3 dưới đây. Các kháng thể mà liên kết epitop tuyến tính được gạch chân và các kháng thể mà liên kết các thành viên thuộc họ SEZ6 là SEZ6L và SEZ6L2 lần lượt được ký hiệu bằng dấu hoa thị và/hoặc chữ thập.

Bảng 3

Vùng	Các dòng kháng thể
N1 (aa 1-70)	SC17.4, SC17.7†*, SC17.9, SC17.56, SC17.81, SC17.101, SC17.114, SC17.120, SC17.134, SC17.151, SC17.162, SC17.SC177, SC17.182, SC17.185, SC17.196, SC17.197, SC17.199
N2 (aa 71-169)	SC17.24, SC17.49, SC17.104, SC17.144, SC17.149, SC17.168, SC17.SC176, SC17.198
N3 (aa 170-335)	SC17.26†, SC17.42, SC17.83, SC17.85, SC17.88, SC17.91, SC17.92, SC17.99, SC17.125, SC17.128, SC17.130, SC17.137, SC17.145, SC17.161, SC17.192, SC17.195
Vùng Sushi 1 (aa 336-395)	SC17.34, SC17.36, SC17.46, SC17.75, SC17.82, SC17.87, SC17.97, SC17.116, SC17.129, SC17.SC178, SC17.187, SC17.200
Vùng CUB1 (aa 397-508)	SC17.73, SC17.76, SC17.86, SC17.100, SC17.105, SC17.107, SC17.1SC17, SC17.122, SC17.124, SC17.136, SC17.138, SC17.146, SC17.154, SC17.SC170, SC17.SC174, SC17.189, SC17.201, SC17.202
Vùng Sushi 2 (aa 511-572)	SC17.90, SC17.108, SC17.112, SC17.135, SC17.167, SC17.SC173, SC17.SC179, SC17.184, SC17.203, SC17.204
Vùng CUB2 (aa 574-685)	SC17.6†, SC17.28†, SC17.103, SC17.109, SC17.119, SC17.181, SC17.186, SC17.194
Vùng Sushi 3 (aa 690-748)	SC17.72, SC17.84, SC17.95, SC17.141, SC17.143, SC17.163

Vùng Sushi 4 (aa 750-813)	SC17.SC17, SC17.19†, SC17.93, SC17.102, SC17.121, SC17.140, SC17.156, SC17.159, SC17.166, SC17.SC175, SC17.180, SC17.191, SC17.193
Vùng Sushi 5 (aa 817-878)	SC17.74, SC17.106, SC17.142, SC17.190
Đầu tận cùng C (aa 879-904)	SC17.96, SC17.132

Xu hướng thú vị và bất ngờ được quan sát thấy khi thử nghiệm diệt tế bào *in vitro* được thực hiện nhờ sử dụng chất điều biến kháng thể SEZ6 được lập bản đồ vùng chức năng được mô tả trong ví dụ 10. Thử nghiệm diệt *in vitro* này, được thực hiện gần như được mô tả dưới đây trong ví dụ 14, xác định khả năng nội nhạp và tiêu diệt các tế bào HEK-293 của kháng thể cụ thể. Fig. 11B là biểu đồ tác dụng của các kháng thể thử nghiệm theo các vùng chức năng mà chúng gắn vào. Các kháng thể liên kết với một số vùng chức năng bao gồm: N1, N3, Vùng chức năng Sushi 1, và Vùng chức năng Sushi 4, thể hiện tác dụng diệt *in vitro* tăng cường. Các kháng thể mà kết hợp với vùng chức năng Sushi 4, mà rất hiệu quả trong việc nội nhập và tiêu diệt tế bào, thể hiện tương quan mạnh với các vùng khung dòng phôi IGHV1-34 và IKV4-59 của chuột.

Việc lập bản đồ epitop tỉ mỉ hơn được thực hiện tiếp trên các kháng thể được chọn để xác định các axit amin đặc hiệu mà chúng gắn vào. Các kháng thể gắn vào epitop tuyến tính được lập bản đồ nhờ sử dụng kit thư viện peptit biểu hiện thể thực khuẩn Ph.D.-12 (New England Biolabs E8110S). Kháng thể được chọn để lập bản đồ epitop được phủ lên ống Nunc MaxiSorp (Nunc) ở nồng độ 50µg/ml trong 3 mL dung dịch natri bicacbonat 0,1M, độ pH=8 và ủ qua đêm. Ống được phong bế bằng dung dịch BSA 3% trong dung dịch bicacbonat. Sau đó, 10^{11} thực khuẩn thể đầu vào trong PBS + 0,1% Tween-20 được cho liên kết, tiếp theo là mười lần rửa liên tiếp bằng 0,1% Tween-20 để rửa các thực khuẩn thể không liên kết. Thể thực khuẩn còn lại được rửa giải bằng 1 mL 0,2 M glyxin trong 10 phút ở nhiệt độ phòng kèm khuấy nhẹ, sau đó trung hòa bằng 50µl 1M Tris-HCl độ pH=9. Thực khuẩn thể đã rửa giải được khuếch đại và được quay lại với 10^{11} thực khuẩn thể đầu vào, sử dụng 0,5% Tween-20 trong các bước rửa để làm tăng độ nghiêm ngặt chọn lọc. ADN từ 24 vệt tan của thực khuẩn thể được rửa giải từ vòng thứ hai được phân lập nhờ sử dụng kít Qiaprep M13 Spin (Qiagen) và được giải trình tự. Sự liên kết các thực khuẩn thể vô tính được xác nhận nhờ sử dụng thử nghiệm ELISA, trong đó kháng thể được lập bản đồ hoặc kháng thể

đối chứng được phủ lên đĩa ELISA, được phong bế và tiếp xúc với mỗi thực khuẩn thể vô tính. Liên kết với thực khuẩn thể được phát hiện nhờ sử dụng kháng thể kháng M13 (GE Healthcare) liên kết với peroxidaza từ cây cải ngựa, và dung dịch 1-Step Turbo TMB ELISA (Pierce). Các trình tự peptit của thực khuẩn thể từ thực khuẩn thể liên kết đặc hiệu được sắp xếp thẳng hàng bằng cách sử dụng Vectơ NTI (Life Technologies) dựa vào trình tự peptit ECD kháng nguyên để xác định epitop liên kết.

Các kháng thể liên kết với epitop không liên tục được lập bản đồ nhờ sử dụng kỹ thuật được mô tả bởi Chao *et al.* (2007). Thư viện đột biến ECD của SEZ6 được tạo ra bằng PCR dễ bị lỗi nhờ sử dụng các dạng tương tự nucleotit 8-oxo-2'deoxyguanosin-5'-triphosphat và 2'-deoxy-p-nucleosit-5'triphosphat (đều từ TriLink Bio) đối với tỉ lệ sinh đột biến đích là một đột biến axit amin mỗi dòng. Các thể đột biến này được biến nạp vào dạng biểu hiện trên nấm men. Nhờ sử dụng kỹ thuật được mô tả trên đây để lập bản đồ mức độ vùng chức năng, thư viện này được nhuộm cho liên kết c-myc và kháng thể nM. Nhờ sử dụng FACS Aria (BD), các dòng mà biểu hiện sự mất liên kết so với SEZ6 ECD kiểu hoang được phân loại. Các dòng này được nuôi lại, và được đưa vào chu trình khác để phân loại bằng FACS về sự mất liên kết với kháng thể đích. Bằng cách sử dụng kit Zymoprep Yeast Plasmid Miniprep (Zymo Research), từng dòng ECD được phân lập và giải trình tự. Khi cần thiết, các đột biến được định dạng lại là các dòng ECD đột biến đơn sử dụng kit gây đột biến định hướng điểm Quikchange (Agilent).

Từng dòng ECD được sàng lọc tiếp để xác định xem sự mất liên kết có phải là do đột biến trong epitop này, hay do đột biến mà gây ra sự gấp sai. Các đột biến bao gồm xystein, prolin, và bộ ba kết thúc được tự động loại bỏ do khả năng đột biến gấp sai cao. Sau đó các dòng ECD còn lại được sàng lọc cho liên kết với kháng thể đặc hiệu cấu hình , không cạnh tranh. Các dòng ECD mà mất khả năng liên kết với các kháng thể đặc hiệu đối xứng không cạnh tranh được kết luận là chứa đột biết gấp lỗi, trong khi đó các dòng ECD mà vẫn có liên kết giống như SEZ6 ECD kiểu hoang được kết luận là được gấp đúng. Các đột biến trong các dòng ECD trong nhóm sau được được kết luận là nằm trong epitop này. Các mẫu tương đồng của vùng chức năngđược phân lập cũng được cấu trúc nhờ sử dụng MODELLER để xác nhận rằng các gốc được xác định là ở trong epitop này: 1) được định vị ở vị trí gần với nhau trong mô hình tương đồng gấp và 2) có các chuỗi bên mà được tiếp xúc với dung môi và không được

che phủ, vì gốc bị che phủ có khả năng gây gấp lỗi cao hơn và có thể không phải là một phần của epitop liên kết. Tóm tắt về các kháng thể với các epitop của chúng được liệt kê trong Bảng 4.

Bảng 4

Dòng kháng thể	Epitop	Không liên tục	SEQ ID NO:
SC17.4	Q12, P14, I16, E17, E18	Không	401
SC17.17	R762, D781, Q782	Có	NR
SC17.24	L73, P74, F75, Q76, P77, D78, P79	Không	402
SC17.34	T352, S353, H375	Có	NR
SC17.36	T352, S353, H375, S359	Có	NR
SC17.46	R343, K389	Có	NR

NR cho thấy rằng không có SEQ ID NO được chỉ định khi epitop là không liên tục.

Trong trường hợp của SC17.34, SC17.36 và SC17.46, các đột biến điểm được tạo ra trên vùng chức năng được phân lập, Vùng chức năng Sushi 1, mà được xác định là vùng chức năn gliên kết bằng cách lập bản đồ epitop mức độ vùng chức năng. Trong trường hợp của SC17.46, các đột biến ứng viên để sàng lọc không được nhận biết trong sàng lọc dựa vào thư viện, đúng hơn là chúng được nhận biết trên cơ sở lập bản đồ vùng chức năng, thiếu khả năng phản ứng chéo với SEZ6 ECD của khỉ cynomolgus và SEZ6 ECD của chuột, và sự sắp xếp thẳng hàng trình tự của các loài khác nhau để nhận biết sự khác biệt ở trình tự gốc của các loài này. Các đột biến ứng viên này được đưa vào phân tích giống như các kháng thể khác để xác nhận epitop của SC17.46.

Ví dụ 11

Phát hiện sự biểu hiện bề mặt của SEZ6 bằng kỹ thuật đếm tế bào theo dòng

Kỹ thuật đếm tế bào theo dòng được sử dụng để đánh giá tính đặc hiệu của kháng thể kháng SEZ6 mà được tạo ra để phát hiện sự có mặt của protein SEZ6 của người trên bề mặt của các dòng tế bào HEK-293T được thao tác di truyền, được cấu trúc như mô tả ở ví dụ 5. Các đối chứng được nhuộm Isotyp và huỳnh quang âm một (FMO) được sử dụng để xác nhận tính đặc hiệu nhuộm. Vắn tắt là, HEK-293T được biến nạp bằng SEZ6 và GFP người (xem ví dụ 5) hoặc các mẫu u NTX thu được được tách và phân tán vào huyền phù nhờ sử dụng kỹ thuật cắt bằng enzym được thừa nhận trong lĩnh vực này (xem, ví dụ, U.S.P.N. 2007/0292414 được đưa vào đây), được ủ trong 30 phút với kháng thể kháng SEZ6. Các tế bào được rửa trong PBS (2%FCS) hai

lần và sau đó ủ với 50µl mỗi mẫu IgG của dê kháng chuột được đánh dấu bằng DyLight 649, đoạn Fc đặc hiệu thứ cấp được pha loãng 1:200 trong đệm PBS. Sau khi ủ 15 phút, các tế bào được rửa hai lần bằng PBS và được tạo huyền phù lại trong PBS với DAPI và được phân tích bằng kỹ thuật đếm tế bào theo dòng như đã bàn luận trước.

Như được chứng minh bởi các dữ liệu điển hình được thể hiện trên Fig. 12A đối với SC17.33, chất điều biến SEZ6 nhận biết một cách mạnh mẽ các tế bào HEK-293T-HuSEZ6. Các dữ liệu này chứng minh rằng chất điều biết được tạo ra mà nhận biết đặc hiệu SEZ6 của người biểu hiện trên bề mặt tế bào.

Sự biểu hiện protein SEZ6 của người trên bề mặt của khối u NTX được chọn được đánh giá bằng kỹ thuật đếm tế bào theo dòng bằng cách sử dụng các kháng thể SC17 ví dụ. Sự biểu hiện của SEZ6 trong LU37, LU86 và KDY66 được kiểm tra nhờ sử dụng kháng thể SC17.6, trong khi sự biểu hiện của SEZ6 trong LU50, LU100 và LU73 được kiểm tra nhờ lần lượt sử dụng kháng thể SC17.10, SC17.42 và SC17.28. Các kết quả được nêu trên Fig. 13A. Các khối u NTX được thu gom, tách và nhuộm đồng thời bằng CD45 kháng chuột, H-2Kd kháng chuột, EpCAM kháng người có bán trên thị trường và một trong các kháng thể kháng SEZ6 của chuột kháng người nêu trên. Dữ liệu được thể hiện trên Fig. 13A được tạo ra nhờ sử dụng các tế bào nhuộm dương tính đối với kháng thể kháng chuột nêu trên nhưng không nhuộm dương tính đối với EpCAM kháng người. Tương tự với thử nghiệm nhuộm HEK-293T nêu trên, các đối chứng nhuộm isotyp và nhuộm huỳnh quang trừ một (FMO) được sử dụng để xác nhận tính đặc hiệu nhuộm. Như thấy trên Fig. 13A, việc nhuộm kháng-SEZ6 cao hơn FMO ở tất cả các tế bào khối u NTX của người, như được chỉ ra bởi độ dịch profin huỳnh quang sang bên phải và bởi các thay đổi ở trị số cường độ huỳnh quang trung bình (MFI), đối với các khối u NTX ở phổi LU37, LU50 và LU86 và khối u NTX ở thận, KDY66. Các dữ liệu này đề xuất rằng protein SEZ6 được biểu hiện trên bề mặt của các khối u NTX khác nhau và do đó có thể thay đổi thành dạng điều biến nhờ sử dụng kháng thể kháng SEZ6.

Ví dụ 12

Biểu hiện protein SEZ6 ở các khối u khác nhau

Do các mức phiên mã của ARN thông tin của SEZ6 tăng có liên quan đến các khối u khác nhau, thử nghiệm được tiến hành để chứng minh sự gia tăng tương ứng ở

sự biểu hiện của protein SEZ6 ở các khối u NTX. Sự biểu hiện protein SEZ6 được phát hiện bằng (i) thử nghiệm ELISA kẹp SEZ6 phát quang điện hóa nhờ sử dụng MSD Discovery Platform (Meso Scale Discovery, LLC); và (ii) nhuộm hóa mô miễn dịch.

Các khối u NTX được cắt từ chuột và làm lạnh nhanh trên đá/etanol khô. Đệm chiết Protein (Biochain Institute, Inc.) được bổ sung vào các mảnh khối u được làm tan và các khối u được nghiền nhỏ nhờ sử dụng hệ thống TissueLyser (Qiagen). Dịch ly giải được làm trong bằng cách ly tâm (20.000g, 20 phút, 4°C) và nồng độ protein tổng trong mỗi dịch ly giải được định lượng nhờ sử dụng axit bixinchoninic. Dịch ly giải protein được bảo quản ở -80°C cho đến khi thử nghiệm. Dịch ly giải mô bình thường được mua từ Novus Biologicals.

Các nồng độ protein SEZ6 từ các mẫu dịch ly giải được xác định bằng cách nội suy các trị số từ đường cong nồng độ protein chuẩn mà được tạo ra nhờ sử dụng protein SEZ6 tái tổ hợp được tinh chế (Ví dụ 5). Đường cong protein SEZ6 chuẩn và thử nghiệm định lượng protein được tiến hành như sau:

Các đĩa MSD chuẩn được phủ qua đêm ở 4°C với 30µl kháng thể SC17.17 ở nồng độ 2 µg/mL trong PBS. Các đĩa được rửa trong PBST và được phong bế trong 150 µL dung dịch A phong bế MSD 3% trong một giờ. Các đĩa này được rửa lại trong PBST. Sau đó, kháng thể SC17.36 được liên hợp với đuôi sulfo của MSD và 25 µL kháng thể SC17.36 được gắn đuôi được bổ sung vào các đĩa được rửa ở nồng độ 0,5 µg/mL trong dung dịch phong bế MSD A 1%. 25 µL dịch ly giải được pha loãng 10 lần trong dung dịch phong bế MSD A 1% hoặc chuẩn SEZ6 tái tổ hợp pha loãng tuần tự trong dung dịch phong bế MSD A 1% chứa 10% đệm tách Protein cũng được bổ sung vào các giếng và được ủ trong hai giờ. Các đĩa được rửa lại trong PBST. Đệm đọc MSD T với dịch nổi được pha loãng đến 1X trong nước và 150 µL được bổ sung vào mỗi giếng. Các đĩa được đọc trên MSD Sector Imager 2400 nhờ sử dụng chương trình phân tích phần mềm tích hợp để thu được nồng độ SEZ6 trong các mẫu NTX nhờ nội suy từ đường cong chuẩn. Sau đó các trị số được chia cho nồng độ protein tổng để thu được các trị số nanogram của SEZ6 trên mỗi miligram tổng protein ly giải. Các nồng độ thu được được nêu trong Fig. 12B, trong đó mỗi điểm biểu thị các nồng độ protein SEZ6 có nguồn gốc từ dòng u NTX đơn. Mặc dù mỗi điểm thu được từ một

dòng NTX, trong hầu hết các trường hợp nhiều mẫu sinh học được thử nghiệm từ cùng một dòng NTX và các trị số được lấy trung bình để tạo ra điểm dữ liệu.

Fig. 12B thể hiện là so với dịch ly giải của mô bình thường, các mẫu khối u ở thận, buồng trứng và LCNEC được chọn thể hiện sự biểu hiện protein SEZ6 vừa phải trong khi đó sự biểu hiện protein SEZ6 cao nhất được thấy ở các khối u SCLC. Tất các các dịch ly giải mô bình thường đều âm tính đối với sự biểu hiện protein SEZ6 ngoại trừ dịch ly giải của não và mắt người bình thường.

Hóa mô miễn dịch (IHC) được thực hiện trên các khối u PDX để xác nhận rằng SEZ6 được biểu hiện trên bề mặt của các khối u PDX nhất định; và để xác định vị trí của protein SEZ6 trên cấu trúc của khối u.

IHC được thực hiện trên các lát cắt mô được nhúng vào parafin được cố định bằng formalin nhờ sử dụng phương pháp phát hiện gián tiếp mà bao gồm kháng thể đơn dòng sơ cấp của chuột kháng SEZ6 (dòng 17.140), kháng thể thứ cấp liên hợp biotin đặc hiệu của chuột, phức hợp avidin/biotin được tạo cặp với peroxidaza của củ cải ngựa, và phát hiện DAB (Nakene PK 1968; 16:557-60). Khi nhuộm các khối u PDX ghép dị chủng, tác nhân phong bế IgG của chuột (Vector Laboratories; mục PK-2200) được sử dụng. SC17.140 được thừa nhận và xác nhận là thích hợp cho IHC nhờ thể hiện sự nhuộm đặc hiệu trên các lát cắt pelet tế bào HEK-293T biểu hiện quá mức SEZ6 so với các pelet tế bào HEK-293T chưa tiếp xúc, được tạo ra như đã biết trong lĩnh vực này. Tính đặc hiệu còn được xác nhận thêm bằng việc cạnh tranh tín hiệu với lượng dư 5 mol SEZ6 tái tổ hợp được tinh chế trên các tế bào HEK-293T biểu hiện quá mức SEZ6 của người và các khối u ghép dị chủng mà được thể hiện bằng IHC để biểu hiện SEZ6 (dữ liệu không được thể hiện trên hình vẽ). Fig. 16 thể hiện sự biểu hiện SEZ6 như đo được bởi IHC trong các khối u NTX SCLC. Cường độ nhuộm được tính điểm để đánh giá cường độ nhuộm từ 0 (âm tính) đến 3 (nhuộm màu mạnh). Các kết quả thể hiện rằng 64% các khối u SCLC NTX được kiểm tra biểu hiện SEZ6.

Các dữ liệu này, kết hợp với dữ liệu phiên mã ARN thông tin đối với sự biểu hiện của SEZ6 nêu trên (Ví dụ 4), sự biểu hiện protein SEZ6 trên bề mặt tế bào (ví dụ 11), củng cố thêm đề xuất rằng các yếu tố quyết định SEZ6 tạo ra đích hấp dẫn để can thiệp điều trị.

Ví dụ 13

Làm giàu quần thể tế bào tạo u

Các tế bào khối u có thể được chia theo nghĩa rộng thành hai loại quần thể tế bào con: các tế bào không tạo u (NTG) và các tế bào tạo u (TIC). TIC có khả năng tạo u khi được cấy vào chuột suy giảm miễn dịch. Các tế bào gốc ung thư (CSC) là tập hợp con của TIC và có thể tự sao chép một cách vô hạn trong khi vẫn duy trì khả năng biệt hóa đa dòng. Để xác định xem sự biểu hiện của SEZ6 có liên quan đến khả năng tạo u gia tăng hay không, việc giải trình tự toàn bộ hệ phiên mã, đếm tế bào theo dòng và thử nghiệm về khả năng tạo u được thực hiện, tất cả đều được mô tả dưới đây.

Phân tích toàn bộ hệ phiên mã về sự biểu hiện của SEZ6 trong các mẫu u khác nhau được thực hiện như được mô tả trong ví dụ 1. Các CSC được nhận biết dựa trên cơ sở sự biểu hiện của CD324 mà đã được chỉ ra là chất đánh dấu các tế bào gốc ở nhiều khối u khác nhau (xem đơn PCT 2012/031280). Các kết quả trên Fig. 6A thể hiện rằng sự biểu hiện ARN thông tin SEZ6 bị tăng lên ở các CSC so với các tế bào NTG được phân lập từ hai dòng u NTX SCLC (LU86 và LU95).

Đếm tế bào theo dòng được thực hiện trên các tế bào từ các khối u NTX ở phổi gần như được mô tả trong ví dụ 11. Các tế bào LU86, LU117 và LU64 được nhuộm đồng thời bằng CD324, chất đánh dấu quần thể CSC (xem đơn PCT 2012/031280), và kháng thể kháng SEZ6, SC17.10, SC17.28 hoặc SC17.42, để xác định SEZ6 có được biểu hiện khác biệt trên các quần thể này không. Như được chỉ ra trên Fig. 13B, các tế bào LU86, LU117 và LU64 nhuộm dương tính đối với cả CD324 và SEZ6 (được đen liền) chuyển dịch thêm sang bên phải so với các tế bào nhuộm dương tính đối với một mình SEZ6 (đường đen nét đứt), chỉ ra rằng SEZ6 được biểu hiện cao hơn trên các CSC so với quần thể tế bào NTG. Đối chứng isotyp của quần thể lớn được thể hiện dưới dạng biểu đồ tần số được tô xám (MOPC = IgG1).

Để xác định xem sự biểu hiện SEZ6 trên bề mặt tế bào có tương quan với khả năng tạo u gia tăng hay không, nghiên cứu về khả năng tạo u được tiến hành. Các mẫu khối u NTX được tách và phân tán vào huyền phù nhờ sử dụng kỹ thuật cắt bằng enzym được thừa nhận trong lĩnh vực này (xem, ví dụ, U.S.P.N. 2007/0292414 được kết hợp ở đây). Các chế phẩm tế bào đã tách từ dòng NTX này được nhuộm bằng kháng thể liên hợp huỳnh quang nhận biết đặc hiệu CD45 của chuột, H2kD, CD324 của người và SEZ6 của người, dòng SC17.42. Hai tập hợp con tế bào của người, đều được nhận biết dựa trên sự không bắt màu khi nhuộm bằng CD45 của chuột hoặc H2kD (để làm tiêu chế phẩm tế bào của các tế bào chuột này) được phân lập bằng cách

sử dụng máy đếm tế bào theo dòng FACSAria™ (BD Biosciences). Một tập hợp con được phân lập trên cơ sở sự đồng biểu hiện CD324 và SEZ6, trong khi tập hợp con còn lại được phân lập trên cơ sở kiểu hình của $CD324^{+}SEZ6^{-}$. Các quần thể con được làm giàu bằng chất đánh dấu riêng biệt sau đó được cấy chuyển vào chuột cái NOD/SCID suy giảm miễn dịch bằng cách tiêm dưới da vào lớp mỡ ở vú với liều xấp xỉ 50 tế bào mỗi chuột.

Các Fig. 14A và 14B minh họa các kết quả của các thử nghiệm này được tiến hành nhờ sử dụng các dòng tế bào NTX điển hình có nguồn gốc từ các khối u NSCLC thu được từ bệnh nhân. Fig. 14A là đồ thị phân tán (được kiểm soát nhờ sử dụng CD324 và SEZ6) thể hiện sự phân bố của tập hợp con $mCD45^{-}H2kD^{-}$ của khối u mẹ và các tế bào tạo u giả định được phân loại. Fig. 14B thể hiện bằng sơ đồ thể tích khối u đo được xuất phát từ việc cấy các quần thể con thế bào được phân loại vào chuột suy giảm miễn dịch. Các trị số trong ngoặc thể hiện số lượng khối u được tạo ra ở mỗi con chuột được cấy.

Dữ liệu từ Fig. 14 thể hiện là khả năng tạo u có liên quan phù hợp với quần thể con tế bào biểu hiện SEZ6 kết hợp với các mức CD324 cao. Ngược lại, cũng các dữ liệu này chứng minh rằng các tế bào khối u không biểu hiện, hoặc biểu hiện mức thấp SEZ6 có khả năng tạo u ít hơn nhiều so với các bản sao dương tính hoặc biểu hiện cao của chúng. Dựa trên dữ liệu được tạo ra, ngạc nhiên phát hiện ra là các quần thể con của các tế bào khối u biểu hiện kiểu hình $CD324^{+}SEZ6^{+}$ thường có khả năng tạo u rất lớn và đề xuất rằng SEZ6 có thể tạo ra đích điều trị hiệu quả để điều biến tế bào tạo u.

Ví dụ 14

Chất điều biến SEZ6 tạo thuận lợi cho việc phân phối các chất gây độc tế bào vào các tế bào HEK-293T biểu hiện SEZ6

Để chứng minh rằng chất điều biến SEZ6 theo sáng chế có khả năng làm trung gian cho sự phân phối chất gây độc tế bào đến các tế bào sống, thử nghiệm diệt tế bào *in vitro* được thực hiện nhờ sử dụng chất điều biến kháng thể SEZ6 được chọn gắn vào độc tố saporin. Saporin tiêu diệt các tế bào bằng cách bất hoạt các ribosom trong bào tương. Do đó sự chết tế bào nhờ sử dụng thử nghiệm sau đây là dấu hiệu cho thấy các kháng thể SEZ6 có khả năng nội nhập và phân phối các chất gây độc tế bào đến bào tương của tế bào đích.

Đoạn Fab của IgG kháng chuột liên kết cộng hóa trị với saporin ("Fab-Saporin") (Advanced Targeting Systems, #IT-48) được kết hợp với các kháng thể SEZ6 không được đánh dấu và được ủ với các tế bào HEK-293T biểu hiện SEZ6 của người (xem ví dụ 5). Khả năng nội nhập và diệt tế bào của các phức hợp saporin thu được được đo 72 giờ sau khi đo khả năng sống của tế bào.

Cụ thể là, 500 tế bào mỗi giếng trong DMEM được bổ sung 10% huyết thanh bào thai bò, được cấy lên đĩa được xử lý nuôi cấy 96 giếng một ngày trước khi bổ sung kháng thể và độc tố. Các tế bào HEK-293T biểu hiện SEZ6 của người được xử lý bằng đối chứng (IgG1, IgG2a hoặc IgG2b) hoặc chất điều biến SEZ6 chuột đã được tinh chế ở nồng độ 100, 50 hoặc 10 pM, cùng với 2 nM Fab-Saporin. Các tế bào này được nuôi cấy trong ba ngày, sau đó, số lượng tế bào sống sót được đếm nhờ sử dụng Cell Titer Glo® (Promega) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Môi trường nuôi cấy sử dụng đơn vị phát quang thô (RLU) chứa các tế bào có đoạn Saporin Fab được thiết lập là trị số tham chiếu 100% và tất cả các lần đếm khác được tính theo đó (được gọi là RLU chuẩn hóa hoặc "% tế bào sống"). Fig. 15A thể hiện rằng nhiều chất điều biến SEZ6 được thử nghiệm gây ra sự diệt các tế bào HEK-293T theo cách phụ thuộc nồng độ. Các đối chứng isotyp (IgG2a, IgG2b, và IgG1) không tác động đến số đếm tế bào như được thể hiện bởi các kết quả ở ba dòng đầu tiên của Fig. 15A (ND = không xác định).

Thử nghiệm này chứng minh rằng sự nội nhập có thể xuất hiện khi liên kết kháng thể đặc hiệu SEZ6 với bề mặt tế bào, mà không cần sự đime hóa hoặc liên kết ngang khác.

Ví dụ 15

Chất điều biến SEZ6 gây độc tế bào ở các tế bào u phổi *in vitro*

Để chứng thực cho kết quả của ví dụ 14 và xác định xem chất điều biến SEZ6 có thể gây ra sự nội nhập độc tố và tiêu diệt tế bào u người (trái ngược với các tế bào được thao tác di truyền) hay không, các tế bào NTX tiêu dòng của chuột được cấy và sau đó tiếp xúc với các kháng thể kháng SEZ6 và Fab-saporin.

Các khối u NTX được phân ly vào huyền phù tế bào đơn và cấy trên các đĩa Primaria™ (BD Biosciences) trong môi trường không có huyết thanh được bổ sung yếu tố sinh trưởng như đã biết trong lĩnh vực này. Sau khi nuôi cấy các tế bào trong một ngày ở 37˚C/5%CO_2/5%O_2, chúng được xử lý bằng đối chứng (IgG1, IgG2a hoặc IgG2b) hoặc chất điều biến SEZ6 của chuột và Fab-saporin như được mô tả trong ví

dụ 14. Sau bảy ngày, khả năng gây độc tế bào của saporin qua trung gian chất điều biến được đánh giá bằng cách định lượng số lượng tế bào sống sót còn lại nhờ sử dụng Cell Titer Glo.

Như thấy trên Fig. 15B sự giảm ở số lượng tế bào u là rõ ràng khi LU37, khối u NSCLC và LU80, u SCLC được cho tiếp xúc với chất điều biến SEZ6 SC17.6 (bản sao của SC17.16) và SC17.33. Tương tự khi LU100, khối u SCLC được cho tiếp xúc với bốn chất điều biến SEZ6, SC17.6, SC17.19, SC17.33 và SC17.34, ở nồng độ 50 và 500 pM sự giảm các tế bào khối u xảy ra. Ngược lại, các kháng thể đối chứng isotyp không ảnh hưởng đến số lượng tế bào sống sót sau khi xử lý.

Dữ liệu này không những chứng minh rằng các kháng thể ví dụ được mô tả ở đây có khả năng liên kết với kháng nguyên SEZ6 trên bề mặt tế bào và tạo thuận lợi cho việc phân phối các phần tải gây độc tế bào dẫn đến sự chết tế bào, mà còn chứng minh rằng nhiều kháng thể kháng SEZ6 có thể tiêu diệt các tế bào u NTX khác nhau.

Ví dụ 16

Tạo ra các thể liên hợp dược chất kháng thể SEZ6

Dựa trên các thử nghiệm diệt *in vitro* bằng saporin trong các ví dụ 14 và 15 và để chứng minh thêm tính linh hoạt của sáng chế, các thể liên hợp kháng thể kháng SEZ6 dược chất được bào chế có cấu trúc M-[L-D] nêu trên. Tức là, các thể liên hợp kháng thể kháng SEZ6 dược chất (SEZ6-ADCs) được bào chế nhờ sử dụng các chất gây độc tế bào được liên kết cộng hóa trị. Cụ thể hơn, các SEZ6-ADC được tạo ra chứa cầu liên kết như được mô tả ở đây, hoặc trong các tài liệu tham khảo ngay dưới đây và các dime pyrolobenzodiazepin (PBD) được chọn mà liên kết cộng hóa trị với chất điều biến được mô tả (xem, ví dụ, các U.S.P.N. 2011/0256157 và 2012/0078028 và bằng Mỹ số 6,214,345 mỗi tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ).

Tổ hợp PBD dược chất-cầu liên kết được tổng hợp và được tinh chế nhờ sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này khi tham khảo các tài liệu viện dẫn. Mặc dù nhiều đime PBD và cầu liên kết khác nhau được dùng để tạo ra các tổ hợp dược chất-cầu liên kết được chọn, mỗi đơn vị cầu liên kết gồm gốc maleimido kết thúc với sulfhydryl tự do. Bằng cách sử dụng các cầu liên kết này, các thể liên hợp được điều chế thông qua việc khử một phần mAb bằng tris (2-carboxyetyl)-phosphin

(TCEP) sau đó bằng phản ứng của các gốc Cys được khử bằng tải trọng maleimido-cầu liên kết.

Cụ thể hơn, chất điều biến kháng thể SEZ6 được chọn được khử bằng 1,3 mol TCEP trên mỗi mol mAb trong 2 giờ ở nhiệt độ 37°C trong 25 mM Tris HCl độ pH=7,5 và 5mM đệm EDTA. Phản ứng được để lạnh đến 15°C và tải trọng cầu liên kết trong DMSO được bổ sung với tỷ lệ 2,7 mol/mol mAb sau đó, lượng DMSO được bổ sung để đạt nồng độ cuối là 6% (v/v). Phản ứng được để diễn ra trong 1 giờ. Dược chất-cầu liên kết không phản ứng được gắn mũ bằng cách bổ sung lượng dư N-axetyl xystein. SEZ6-ADC (hoặc SC17-ADC) sau đó được tinh chế bằng cột trao đổi ion nhờ sử dụng hệ AKTA Explorer FPLC (G.E. Healthcare) để loại bỏ kháng thể khối lượng phân tử cao đã kết tập, đồng dung môi và các phân tử nhỏ được kết tụ. Sau đó, ADC đã rửa giải được trao đổi đệm bằng cách lọc dòng tiếp tuyến (TFF) vào đệm công thức, sau đó điều chỉnh nồng độ và bổ sung chất tẩy. ADC cuối được phân tích về nồng độ protein (bằng cách đo UV), sự kết tập (SEC), tỉ lệ dược chất so với kháng thể (DAR) bằng HPLC pha đảo (RP), sự có mặt của kháng thể không liên hợp bằng HPLC sắc ký tương tác kỵ nước (HIC), vật liệu không có protein bằng RP HPLC và khả năng gây độc tế bào *in vitro* nhờ sử dụng dòng tế bào biểu hiện SEZ6.

Nhờ sử dụng quy trình nêu trên, hoặc là phương pháp gần như tương tự, nhiều ADC (tức là, M-[L-D]n) chứa nhiều chất điều biến SEZ6 khác nhau và các dime PBD được tạo ra và thử nghiệm trong nhiều mô hình *in vivo* và *in vitro* khác nhau. Đối với các mục đích của các ví dụ và phần mô tả này, nhìn chung các ADC này có thể được gọi là các SEZ6-ADC hoặc SC17-ADC. Các ADC riêng biệt sẽ được đặt tên theo kháng thể (ví dụ, SC17.17) và ký hiệu cầu liên kết đặc hiệu – chất gây độc tế bào ADC1, ADC2, v.v.. Do đó, chất điều biến ví dụ thích hợp với sáng chế có thể chứa SC17.17-ADC1 hoặc SC17.24-ADC2 trong đó ADC1 và ADC2 biểu thị các chất gây độc tế bào dạng dime PBD riêng rẽ (và tùy ý cầu liên kết).

Để làm chuẩn ban đầu, khả năng gây độc tế bào *in vitro* của hSC17.17-ADC1 được đo ở IC50 11nM khi tiếp xúc với các tế bào HEK293 biểu hiện quá mức SEZ6 (dữ liệu không được thể hiện trên).

Ví dụ 17

Chất điều biến SEZ6 liên hợp gây độc tế bào ở các tế bào u phổi *in Vitro*

Các ADC được tạo ra trong ví dụ 16 nêu trên được thử nghiệm để xác định xem chúng có khả năng gây ra sự nội nhập độc tố và diệt tế bào của các tế bào u sơ cấp của người *in vitro* hay không.

Các tế bào u NTX được tiêu dòng chuột được cho tiếp xúc với các ADC kháng SEZ6 hoặc đối chứng isotyp của chuột (msIgG1) nhờ sử dụng phương pháp giống như được mô tả ở ví dụ 15, ngoại trừ việc Fab-saporin không được bổ sung vào. Khi LU64, khối u SCLC và OV26, u buồng trứng NET, được xử lý bằng các ADC kháng SEZ6 (SC17.24-ADC2, SC17.28-ADC2 và SC17.34-ADC2), quan sát được sự giảm tỉ lệ phần trăm tế bào sống sót gia tăng so với msIgG1 đối chứng (Fig. 17A). Mặc dù msIgG1 có thể gây độc tế bào đối với các tế bào ở nồng độ cao, cả ba ADC kháng SEZ6 được thử nghiệm đều có hiệu lực cao hơn, cho thấy đáp ứng đặc hiệu miễn dịch với SEZ6 hơn là đáp ứng chung với độc tố tế bào PBD.

Ví dụ 18

Chất điều biến SEZ6 liên hợp kìm hãm sự phát triển của khối u *in vivo*

Các ADC được tạo ra trong ví dụ 16 nêu trên được thử nghiệm để chứng minh khả năng của chúng trong việc thu nhỏ và kìm hãm sự phát triển khối u NTX ở các con chuột suy giảm miễn dịch.

Các khối u NTX thu được từ bệnh nhân được nuôi dưới da ở hai bên sườn của các con chuột cái nhận NOD/SCID nhờ sử dụng kỹ thuật được thừa nhận trong lĩnh vực này. Thế tích khối u và thể trọng của chuột được theo dõi hai lần mỗi tuần. Nếu thể tích khối u đạt 150 đến 250 mm^3, các con chuột được chia ngẫu nhiên vào các nhóm điều trị và tiêm trong màng bụng SC17-ADC1 hoặc MsIgG1-ADC1 đối chứng kháng hapten. Các con chuột được tiêm ba lần 1 mg/kg (được chỉ ra bởi các đường thẳng đứng trên Fig. 17B và các Fig. 18A và 18B) trong một khoảng thời gian là bảy ngày. Sau khi điều trị, thể tích khối u và thể trọng của chuột được theo dõi cho đến khi các khối u vượt quá 800 mm^3 hoặc các con chuột bị ốm.

Fig. 17B thể hiện rằng các ADC kháng SEZ6 có khả năng ức chế sự phát triển *in vivo* của khối u SCLC (LU86) và LCNEC (LU50) ở chuột. Trong trường hợp LU86, năm ADC được thử nghiệm (SC17.3-ADC1, SC17.24-ADC1, SC17.26-ADC1, SC17.28-ADC1 và SC17.34-ADC1) tạo ra sự thuyên giảm ổn định kéo dài, trong một số trường hợp, hơn 120 ngày sau khi điều trị. Cụ thể, việc điều trị bằng SC17.34-ADC1 ức chế sự phát triển của khối u trong suốt thời gian nghiên cứu ở liều này, trong

khi SC17.24-ADC1 gây ra tác dụng ức chế phát triển khối u đáng kể với thời gian duy trì tác dụng kéo dài hơn 50 ngày. Tương tự, việc điều trị LU50 bằng năm ADC ví dụ (SC17.3-ADC1, SC17.17-ADC1, SC17.24-ADC1, SC17.34-ADC1 và SC17.46-ADC1) gây ra tác dụng kìm hãm sự phát triển khối u kéo dài tới 35 ngày với SC17.46. Hơn nữa, các con chuột được điều trị bằng SC17-ADC1 không thể hiện các tác dụng không mong muốn về sức khỏe ngoài các tác dụng thường thấy ở các con chuột NOD/SCID có khối u, suy yếu miễn dịch. Các kết quả này đề xuất rằng các ADC được mô tả có thể được sử dụng để kìm hãm hiệu quả sự phát triển của khối u và các đặc tính của sự liên kết của chất điều biến SC17 có thể có tác động đến hiệu quả *in vivo*.

Trực tiếp hơn, khả năng của nhiều chất điều biến được liên hợp khác nhau trong việc làm chậm hoặc kìm hãm mạnh sự phát triển khối u *in vivo* trong thời gian kéo dài còn chứng minh hiệu quả của việc sử dụng SEZ6 làm đích điều trị để điều trị các rối loạn tăng sinh.

Ví dụ 19

Chất điều biến SEZ6 liên hợp được làm tương thích với người kìm hãm sự phát triển của khối u *in vivo*

Dựa trên các kết quả ấn tượng thu được từ chất điều biến ADC kháng SEZ6 của chuột, các thử nghiệm khác được thực hiện để chứng minh hiệu lực của chất điều biến ADC kháng SEZ6 được làm tương thích với người ví dụ trong việc điều trị các khối u SCLC *in vivo*. Các ADC kháng SEZ6 được làm tương thích với người được chọn (nhờ sử dụng chất điều biến hSC17.17, hSC17.24, hSC17.34 và hSC17.46), được tạo ra như được nêu trong Ví dụ 16, và ADC đối chứng isotyp IgG1 người (huIgG1) được sử dụng cho các con chuột suy giảm miễn dịch có các khối u NTX khác nhau. Chế độ dùng liều là giống như chế độ được thiết lập ở ví dụ 18.

Các kết quả của các thử nghiệm này được trình bày ở các Fig. 18A và 18B. Sự loại bỏ hoàn toàn và lâu dài khối u đạt được bằng cách sử dụng các ADC kháng SEZ6 được làm tương thích với người ở bốn khối u SCLC. Fig. 18A thể hiện sự giảm khối u LU80 nhờ hSC17.17-ADC1 và hSC17.46-ADC1; và sự loại bỏ khối u LU64 nhờ hSC17.17-ADC1, hSC17.34-ADC1 và hSC17.46-ADC1. Fig. 18B thể hiện sự giảm khối u LU117 nhờ hSC17.17-ADC1 và hSC17.46-ADC1; và sự giảm khối u LU111 nhờ hSC17.34-ADC1 và hSC17.46-ADC1. Sự không tái phát khối u được quan sát thấy trong hơn 50 ngày trong 3 trong 4 nghiên cứu này. Trong mỗi nghiên cứu, thể tích

khối u và thể trọng của chuột của các con chuột đối chứng được theo dõi cho đến khi vượt quá 800 mm^3 hoặc các con chuột bị ốm.

Các kết quả này chứng minh khả năng ứng dụng đáng ngạc nhiên của nhiều loại chất điều biến SEZ6 được làm tương thích với người khác nhau để làm chậm sự phát triển của các khối u khác nhau một cách có hiệu quả.

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ hiểu thêm rằng sáng chế có thể được thể hiện dưới các dạng cụ thể khác nhau mà không nằm ngoài trọng tâm của nó. Trong phần mô tả trên sáng chế chỉ bộc lộ các phương án là ví dụ của nó, phải hiểu rằng các biến thể khác được dự tính nằm trong phạm vi bảo hộ của sáng chế. Do đó, sáng chế không bị giới hạn ở các phương án cụ thể được mô tả chi tiết ở đây. Đúng hơn là, cần tham chiếu đến các yêu cầu bảo hộ kèm theo thể hiện phạm vi bảo hộ và nội dung của sáng chế.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể đơn dòng liên kết đặc hiệu với protein tương đồng 6 liên quan đến chứng co giật (SEZ6) ở người, kháng thể này chứa ba vùng quyết định tính bổ trợ của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (CDR-L1, CDR-L2, và CDR-L3) chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 190 và ba vùng quyết định tính bổ trợ của vùng biến đổi chuỗi nặng (CDR-H1, CDR-H2, và CDR-H3) chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 191.

2. Kháng thể đơn dòng theo điểm 1, trong đó kháng thể đơn dòng này được chọn từ nhóm gồm kháng thể khảm, kháng thể ghép CDR, và kháng thể được làm tương thích với người.

3. Kháng thể đơn dòng theo điểm 2, trong đó kháng thể này chứa:
(a) các gốc 24-34 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L1,
các gốc 50-56 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L2,
các gốc 89-97 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L3,
các gốc 31-35 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H1,
các gốc 50-65 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H2, và
các gốc 95-102 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H3,
trong đó các gốc này được đánh số theo Kabat;
(b) các gốc 23-34 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L1,
các gốc 50-56 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L2,
các gốc 89-97 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L3,
các gốc 26-32 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H1,
các gốc 50-58 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H2, và
các gốc 95-102 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H3,
trong đó các gốc này được đánh số theo Chothia; hoặc
(c) các gốc 30-36 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L1,
các gốc 46-55 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L2,
các gốc 89-96 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L3,
các gốc 30-35 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H1,
các gốc 47-58 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H2, và
các gốc 93-101 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H3,
trong đó các gốc này được đánh số theo MacCallum.

4. Kháng thể đơn dòng theo điểm 1, trong đó kháng thể đơn dòng này được liên hợp với chất gây độc tế bào.

5. Kháng thể đơn dòng theo điểm 4, trong đó chất gây độc tế bào là pyrolobenzodiazepin, duocarmycin, amanitin, auristatin, maytansinoid, calicheamicin, hoặc đồng vị phóng xạ.

6. Kháng thể đơn dòng theo điểm 1, trong đó kháng thể này chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 190 và vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 191.

7. Thể liên hợp kháng thể thuốc chứa kháng thể đơn dòng được liên hợp, liên kết hoặc kết nối theo cách khác với chất gây độc tế bào, trong đó kháng thể đơn dòng này liên kết đặc hiệu với protein tương đồng 6 liên quan đến chứng co giật (SEZ6) ở người và chứa ba vùng quyết định tính bổ trợ của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (CDR-L1, CDR-L2, và CDR-L3) chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 190 và ba vùng quyết định tính bổ trợ của vùng biến đổi chuỗi nặng (CDR-H1, CDR-H2, và CDR-H3) chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 191.

8. Thể liên hợp kháng thể thuốc theo điểm 7, trong đó thể liên hợp kháng thể thuốc này có công thức: Ab-[L-D]n
trong đó:
(a) Ab chứa kháng thể đơn dòng;
(b) L chứa cầu liên kết tùy ý;
(c) D chứa thuốc, là chất gây độc tế bào; và
(d) n là số nguyên từ 1 đến 20.

9. Thể liên hợp kháng thể thuốc theo điểm 7, trong đó chất gây độc tế bào là pyrolobenzodiazepin, duocarmycin, amanitin, auristatin, maytansinoid, calicheamicin, hoặc đồng vị phóng xạ.

10. Thể liên hợp kháng thể thuốc theo điểm 7, trong đó thể liên hợp kháng thể thuốc này chứa cầu liên kết.

11. Thể liên hợp kháng thể thuốc theo điểm 10, trong đó cầu liên kết bao gồm cầu liên kết không phân cắt được.

12. Thể liên hợp kháng thể thuốc chứa kháng thể đơn dòng được liên hợp với chất gây độc tế bào, trong đó kháng thể đơn dòng này liên kết đặc hiệu với protein tương đồng 6 liên quan đến chứng co giật (SEZ6) ở người và chứa ba vùng quyết định tính bổ trợ của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (CDR-L1, CDR-L2, và CDR-L3) chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 190 và ba vùng quyết định tính bổ trợ của vùng biến đổi chuỗi nặng (CDR-H1, CDR-H2, và CDR-H3) chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 191; và trong đó chất gây độc tế bào là calicheamicin.

13. Thể liên hợp kháng thể thuốc theo điểm 12, trong đó kháng thể đơn dòng chứa các gốc 24-34 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L1, các gốc 50-56 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L2, các gốc 89-97 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L3, các gốc 31-35 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H1, các gốc 50-65 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H2 và các gốc 95-102 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H3, trong đó các gốc này được đánh số theo Kabat.

14. Thể liên hợp kháng thể thuốc theo điểm 12, trong đó kháng thể đơn dòng chứa các gốc 23-34 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L1, các gốc 50-56 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L2, các gốc 89-97 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L3, các gốc 26-32 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H1, các gốc 50-58 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H2 và các gốc 95-102 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H3, trong đó các gốc này được đánh số theo Chothia.

15. Thể liên hợp kháng thể thuốc theo điểm 12, trong đó kháng thể đơn dòng chứa các gốc 30-36 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L1, các gốc 46-55 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L2, các gốc 89-96 của SEQ ID NO: 190 cho CDR-L3, các gốc 30-35 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H1, các gốc 47-58 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H2 và các gốc 93-101 của SEQ ID NO: 191 cho CDR-H3, trong đó các gốc này được đánh số theo MacCallum.

16. Thể liên hợp kháng thể thuốc theo điểm 12, trong đó thể liên hợp kháng thể thuốc này chứa cầu liên kết.

17. Thể liên hợp kháng thể thuốc theo điểm 16, trong đó cầu liên kết bao gồm cầu liên kết không phân cắt được.

ARN thông tin, biến thể phiên mã 1, chất đồng đẳng 6 liên quan đến chứng co giật của người hiện đại (SEZ6) >gi|148839279|ref|NM_178860.4|

(SEQ ID NO: 1)

GATCCCCGGCGCCGTCGCCAGGCGCTGGCCGTGGTGCTGATTCTGTCAGGCGCTGGCGGCGGCAGCGGCGGTGACGGCTGCGG
CCCCGCTCCCTCTACCCGGCCGGACCCGGCTCTGCCCCCGCGCCCAAGCCCCACCAAGCCCCCCGCCCTCCCGCCGCGGTCCC
AGCCCAGGGCGCGGCCGCAACCAGCACCATGCGCCCGGTAGCCCTGCTGCTCCTGCCCTCGCTGCTGGCGCTCCTGGCTCACG
GACTCTCTTTAGAGGCCCCAACCGTGGGGAAAGGACAAGCCCCAGGCATCGAGGAGACAGATGGCGAGCTGACAGCAGCCCCC
ACACCTGAGCAGCCAGAACGAGGCGTCCACTTTGTCACAACAGCCCCCACCTTGAAGCTGCTCAACCACCACCCGCTGCTTGA
GGAATTCCTACAAGAGGGGCTGGAAAAGGGAGATGAGGAGCTGAGGCCAGCACTGCCCTTCCAGCCTGACCCACCTGCACCCT
TCACCCCAAGTCCCCTTCCCCGCCTGGCCAACCAGGACAGCCGCCCTGTCTTTACCAGCCCCACTCCAGCCATGGCTGCGGTA
CCCACTCAGCCCCAGTCCAAGGAGGGACCCTGGAGTCCGGAGTCAGAGTCCCCTATGCTTCGAATCACAGCTCCCCTACCTCC
AGGGCCCAGCATGGCAGTGCCCACCCTAGGCCCAGGGGAGATAGCCAGCACTACACCCCCCAGCAGAGCCTGGACACCAACCC
AAGAGGGTCCTGGAGACATGGGAAGGCCGTGGGTTGCAGAGGTTGTGTCCCAGGGCGCAGGGATCGGGATCCAGGGGACCATC
ACCTCCTCCACAGCTTCAGGAGATGATGAGGAGACCACCACTACCACCACCATCATCACCACCACCATCACCACAGTCCAGAC
ACCAGGCCCTTGTAGCTGGAATTTCTCAGGCCCAGAGGGCTCTCTGGACTCCCCTACAGACCTCAGCTCCCCCACTGATGTTG
GCCTGGACTGCTTCTTCTACATCTCTGTCTACCCTGGCTATGGCGTGGAAATCAAGGTCCAGAATATCAGCCTCCGGGAAGGG
GAGACAGTGACTGTGGAAGGCCTGGGGGGGCCTGACCCACTGCCCCTGGCCAACCAGTCTTTCCTGCTGCGGGGCCAAGTCAT
CCGCAGCCCCACCCACCAAGCGGCCCTGAGGTTCCAGAGCCTCCCGCCACCGGCTGGCCCTGGCACCTTCCATTTCCATTACC
AAGCCTATCTCCTGAGCTGCCACTTTCCCCGTCGTCCAGCTTATGGAGATGTGACTGTCACCAGCCTCCACCCAGGGGGTAGT
GCCCGCTTCCATTGTGCCACTGGCTACCAGCTGAAGGGCGCCAGGCATCTCACCTGTCTCAATGCCACCCAGCCCTTCTGGGA
TTCAAAGGAGCCCGTCTGCATCGCTGCTTGCGGCGGAGTGATCCGCAATGCCACCACCGGCCGCATCGTCTCTCCAGGCTTCC
CGGGCAACTACAGCAACAACCTCACCTGTCACTGGCTGCTTGAGGCTCCTGAGGGCCAGCGGCTACACCTGCACTTTGAGAAG
GTTTCCCTGGCAGAGGATGATGACAGGCTCATCATTCGCAATGGGGACAACGTGGAGGCCCCACCAGTGTATGATTCCTATGA
GGTGGAATACCTGCTCCATTGAGGGCCTGCTCAGCTCTGGCAAACACTTCTTTGTTGAGCTCAGTACTGACAGCAGCGGGGCAG
CTGCAGGCATGGCCCTGCGCTATGAGGCCTTCCAGCAGGGCCATTGCTATGAGCCCTTTGTCAAATACGGTAACTTCAGCAGC
AGCACACCCACCTACCCTGTGGGTACCACTGTGGAGTTCAGCTGCGACCCTGGCTACACCCTGGAGCAGGGCTCCATCATCAT
CGAGTGTGTTGACCCCCACGACCCCCAGTGGAATGAGACAGAGCCAGCCTGCCGAGCCGTGTGCAGCGGGGAGATCACAGACT
CGGCTGGCGTGGTACTCTCTCCCAACTGGCCAGAGCCCTACGGTCGTGGGCAGGATTGTATCTGGGGTGTGCATGTGGAAGAG
GACAAGCGCATCATGCTGGACATCCGAGTGCTGCGCATAGGCCCTGGTGATGTGCTTACCTTCTATGATGGGGATGACCTGAC
GGCCCGGGTTCTGGGCCAGTACTCAGGGCCCCGTAGCCACTTCAAGCTCTTTACCTCCATGGCTGATGTCACCATTCAGTTCC
AGTCGGACCCCGGGACCTCAGTGCTGGGCTACCAGCAGGGCTTCGTCATCCACTTCTTTGAGGTGCCCCGCAATGACACATGT
CCGGAGCTGCCTGAGATCCCCAATGGCTGGAAGAGCCCATCGCAGCCTGAGCTAGTGCACGGCACCGTGGTCACTTACCAGTG
CTACCCTGGCTACCAGGTAGTGGGATCCAGTGTCCTCATGTGCCAGTGGGACCTAACTTGGAGTGAGGACCTGCCCTCATGCC
AGAGGGTGACTTCCTGCCACGATCCTGGAGATGTGGAGCACAGCCGACGCCTCATATCCAGCCCCAAGTTTCCCGTGGGGGCC
ACCGTGCAATATATCTGTGACCAGGGTTTTGTGCTGATGGGCAGCTCCATCCTCACCTGCCATGATCGCCAGGCTGGCAGCCC
CAAGTGGAGTGACCGGGCCCCTAAATGTCTCCTGGAACAGCTCAAGCCATGCCATGGTCTCAGTGCCCCTGAGAATGGTGCCC
GAAGTCCTGAGAAGCAGCTACACCCAGCAGGGGCCACCATCCACTTCTCGTGTGCCCCTGGCTATGTGCTGAAGGGCCAGGCC
AGCATCAAGTGTGTGCCTGGGCACCCCTCGCATTGGAGTGACCCCCCACCCATCTGTAGGGCTGCCTCTCTGGATGGGTTCTA
CAACAGTCGCAGCCTGGATGTTGCCAAGGCACCTGCTGCCTCCAGCACCCTGGATGCTGCCCACATTGCAGCTGCCATCTTCT
TGCCACTGGTGGCGATGGTGTTGTTGGTAGGAGGTGTATACTTCTACTTCTCCAGGCTCCAGGGAAAAAGCTCCCTGCAGCTG
CCCCGCCCCCGCCCCCGCCCTACAACCGCATTACCATAGAGTCAGCGTTTGACAATCCAACTTACGAGACTGGATCTCTTTC
CTTTGCAGGAGACGAGAGAATATGAAGTCTCCATCTAGGTGGGGGCAGTCTAGGGAAGTCAACTCAGACTTGCACCACAGTCC
AGCAGCAAGGCTCCTTGCTTCCTGCTGTCCCTCCACCTCCTGTATATACCACCTAGGAGGAGATGCCACCAAGCCCTCAAGAA
GTTGTGCCCTTCCCCGCCTGCGATGCCCACCATGGCCTATTTTCTTGGTGTCATTGCCCACTTGGGGCCCTTCATTGGGCCCA
TGTCAGGGGGCATCTACCTGTGGGAAGAACATAGCTGGAGCACAAGCATCAACAGCCAGCATCCTGAGCCTCCTCATGCCCTG
GACCAGCCTGGAACACACTAGCAGAGCAGGAGTACCTTTCTCCACATGACCACCATCCCGCCCTGGCATGGCAACCTGCAGCA
GGATTAACTTGACCATGGTGGGAACTGCACCAGGGTACTCCTCACAGCGCATCACCAATGGCCAAAACTCCTCTCAACGGTGA
CCTCTGGGTAGTCCTGGCATGCCAACATCAGCCTCTTGGGAGGTCTCTAGTTCTCTAAAGTTCTGGACAGTTCTGCCTCCTGC
CCTGTCCCAGTGGAGGCAGTAATTCTAGGAGATCCTAAGGGGTTCAGGGGGACCCTACCCCCACCTCAGGTTGGGCTTCCCTG
GGCACTCATGCTCCACACCAAAGCAGGACACGCCATTTTCCACTGACCACCCTATACCCTGAGGAAAGGGAGACTTTCCTCCG
ATGTTTATTTAGCTGTTGCAAACATCTTCACCCTAATAGTCCCTCCTCCAATTCCAGCCACTTGTCAGGCTCTCCTCTTGACC
ACTGTGTTATGGGATAAGGGAGGGGGTGGGCATATTCTGGAGAGGAGCAGAGGTCCAAGGACCCAGGAATTTGGCATGGAAC
AGGTGGTAGGAGAGCCCCAGGGAGACGCCCAGGAGCTGGCTGAAAGCCACTTTGTACATGTAATGTATTATATGGGGTCTGGG
CTCCAGCCAGAGAACAATCTTTTATTTCTGTTGTTTCCTTATTAAAATGGTGTTTTTGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAA

FIG. 1A

ARN thông tin, biến thể phiên mã 2, chất đồng đẳng 6 liên quan đến chứng co giật của người hiện đại >gi|148839345|ref|NM_001098635.1|

(SEQ ID NO: 2)

GATCCCCGGCGCCGTCGCCAGGCGCTGGCCGTGGTGCTGATTCTGTCAGGCGCTGGCGGCGGCAGCGGCGGTGACGGCTGCGG
CCCCGCTCCCTCTACCCGGCCGGACCCGGCTCTGCCCCCGCGCCCAAGCCCCACCAAGCCCCCCGCCCTCCCGCCGCGGTCCC
AGCCCAGGGCGCGGCCGCAACCAGCACCATGCGCCCGGTAGCCCTGCTGCTCCTGCCCTCGCTGCTGGCGCTCCTGGCTCACG
GACTCTCTTTAGAGGCCCCAACCGTGGGGAAAGGACAAGCCCCAGGCATCGAGGAGACAGATGGCGAGCTGACAGCAGCCCCC
ACACCTGAGCAGCCAGAACGAGGCGTCCACTTTGTCACAACAGCCCCCACCTTGAAGCTGCTCAACCACCACCCGCTGCTTGA
GGAATTCCTACAAGAGGGGCTGGAAAAGGGAGATGAGGAGCTGAGGCCAGCACTGCCCTTCCAGCCTGACCCACCTGCAGCCT
TCACCCCAAGTCCCCTTCCCCGCCTGGCCAACCAGGACAGCCGCCCTGTCTTTACCAGCCCCACTCCAGCCATGGCTGCGGTA
CCCACTCAGCCCCAGTCCAAGGAGGGACCCTGGAGTCCGGAGTCAGAGTCCCCTATGCTTCGAATCACAGCTCCCCTACCTCC
AGGGCCCAGCATGGCAGTGCCCACCCTAGGCCCAGGGGAGATAGCCAGCACTACACCCCCCAGCAGAGCCTGGACACCAACCC
AAGAGGGTCCTGGAGACATGGCAAGGCCGTGGGTTGCAGAGGTTGTGTCCCAGGGCGCAGGGATCGGGATCCAGGGGACCATC
ACCTCCTCCACAGCTTCAGGAGATGATGAGGAGACCACCACTACCACCACCATCATCACCACCACCATCACCACAGTCCAGAC
ACCAGGCCCTTGTAGCTGGAATTTCTCAGGCCCAGAGGGCTCTCTGGACTCCCCTACAGACCTCAGCTCCCCCACTGATGTTG
GCCTGGACTGCTTCTTCTACATCTCTGTCTACCCTGGCTATGGCGTGGAAATCAAGGTCCAGAATATCAGCCTCCGGGAAGGG
GAGACAGTGACTGTGGAAGGCCTGGGGGGGCCCTGACCCACTGCCCCTGGCCAACCAGTCTTTCCTGCTGCGGGGCCAAGTCAT
CCGCAGCCCCACCCACCAAGCGGCCCTGAGGTTCCAGAGCCTCCCGCCACCGGCTGGCCCTGGCACCTTCCATTTCCATTACC
AAGCCTATCTCCTGAGCTGCCACTTTCCCCGTCGTCCAGCTTATGGAGATGTGACTGTCACCAGCCTCCACCCAGGGGGTAGT
GCCCGCTTCCATTGTGCCACTGGCTACCAGCTGAAGGGCGCCAGGCATCTCACCTGTCTCAATGCCACCCAGCCCTTCTGGGA
TTCAAAGGAGCCCGTCTGCATCGCTGCTTGCGGCGGAGTGATCCGCAATGCCACCACCGGCCGCATCGTCTCTCCAGGCTTCC
CGGGCAACTACAGCAACAACCTCACCTGTCACTGGCTGCTTGAGGCTCCTGAGGGCCAGCGGCTACACCTGCACTTTGAGAAG
GTTTCCCTGGCAGAGGATGATGACAGGCTCATCATTCGCAATGGGGACAACGTGGAGGCCCCACCAGTGTATGATTCCTATGA
GGTGGAATACCTGCCCATTGAGGGCCTGCTGAGCTCTGGCAAACACTTCTTTGTTGAGCTCAGTACTGACAGCAGCGGGGCAG
CTGCAGGCATGGCCCTGCGCTATGAGGCCTTCCAGCAGGGCCATTGCTATGAGCCCTTTGTCAAATACGGTAACTTCAGCAGC
AGCACACCCACCTACCCTGTGGGTACCACTGTGGAGTTCAGCTGCGACCCTGGCTACACCCTGGAGCAGGGCTCCATCATCAT
CGAGTGTGTTGACCCCCACGACCCCCAGTGGAATGAGACAGAGCCAGCCTGCCGAGCCGTGTGCAGCGGGGAGATCACAGACT
CGGCTGGCGTGGTACTCTCTCCCAACTGGCCAGAGCCCTACGGTCGTGGGCAGGATTGTATCTGGGGTGTGCATGTGGAAGAG
GACAAGCGCATCATGCTGGACATCCGAGTGCTGCGCATAGGCCCTGGTGATGTGCTTACCTTCTATGATGGGGATGACCTGAC
GGCCCGGGTTCTGGGCCAGTACTCAGGGCCCCGTAGCCACTTCAAGCTCTTTACCTCCATGGCTGATGTCACCATTCAGTTCC
AGTCGGACCCCGGGACCTCAGTGCTGGGCTACCAGCAGGGCTTCGTCATCCACTTCTTTGAGGTGCCCCGCAATGACACATGT
CCGGAGCTGCCTGAGATCCCCAATGGCTGGAAGAGCCCATCGCAGCCTGAGCTAGTGCACGGCACCGTGGTCACTTACCAGTG
CTACCCTGGCTACCAGGTAGTGGGATCCAGTGTCCTCATGTGCCAGTGGGACCTAACTTGGAGTGAGGACCTGCCCTCATGCC
AGAGGGTGACTTCCTGCCACGATCCTGGAGATGTGGAGCACAGCCGACGCCTCATATCCAGCCCCAAGTTTCCCGTGGGGGCC
ACCGTGCAATATATCTGTGACCAGGGTTTTGTGCTGATGGGCAGCTCCATCCTCACCTGCCATGATCGCCAGGCTGGCAGCCC
CAAGTGGAGTGACCGGGCCCCTAAATGTCTCCTGGAACAGCTCAAGCCATGCCATGGTCTCAGTGCCCCTGAGAATGGTGCCC
GAAGTCCTGAGAAGCAGCTACACCCAGCAGGGGCCACCATCCACTTCTCGTGTGCCCCTGGCTATGTGCTGAAGGGCCAGGCC
AGCATCAAGTGTGTGCCTGGGCACCCCTCGCATTGGAGTGACCCCCCACCCATCTGTAGGGCTGCCTCTCTGGATGGGTTCTA
CAACAGTCGCAGCCTGGATGTTGCCAAGGCACCTGCTGCCTCCAGCACCCTGGATGCTGCCCACATTGCAGCTGCCATCTTCT
TGCCACTGGTGGCGATGGTGTTGTTGGTAGGAGGTGTATACTTCTACTTCTCCAGGCTCCAGGGAAAAAGCTCCCTGCAGCTG
CCCCGCCCCCGCCCCCGCCCCTACAACCGCATTACCATAGAGTCAGCGTTTGACAATCCAACTTACGAGACTGGAGAGACGAG
AGAATATGAAGTCTCCATCTAGGTGGGGGCAGTCTAGGGAAGTCAACTCAGACTTGCACCACAGTCCAGCAGCAAGGCTCCTT
GCTTCCTGCTGTCCCTCCACCTCCTGTATATACCACCTAGGAGGAGATGCCACCAAGCCCTCAAGAAGTTGTGCCCTTCCCCG
CCTGCGATGCCCACCATGGCCTATTTTCTTGGTGTCATTGCCCACTTGGGGCCCTTCATTGGGCCCATGTCAGGGGCATCTA
CCTGTGGGAAGAACATAGCTGGAGCACAAGCATCAACAGCCAGCATCCTGAGCCTCCTCATGCCCTGGACCAGCCTGGAACAC
ACTAGCAGAGCAGGAGTACCTTTCTCCACATGACCACCATCCCGCCCTGGCATGGCAACCTGCAGCAGGATTAACTTGACCAT
GGTGGGAACTGCACCAGGGTACTCCTCACAGCGCCATCACCAATGGCCAAAACTCCTCTCAACGGTGACCTCTGGGTAGTCCT
GGCATGCCAACATCAGCCTCTTGGGAGGTCTCTAGTTCTCTAAAGTTCTGGACAGTTCTGCCTCCTGCCCTGTCCCAGTGGAG
GCAGTAATTCTAGGAGATCCTAAGGGGTTCAGGGGGACCCTACCCCCACCTCAGGTTGGGCTTCCCTGGGCACTCATGCTCCA
CACCAAAGCAGGACACGCCATTTTCCACTGACCACCCTATACCCTGAGGAAAGGGAGACTTTCCTCCGATGTTTATTTAGCTG
TTGCAAACATCTTCACCCTAATAGTCCCTCCTCCAATTCCAGCCACTTGTCAGGCTCTCCTCTTGACCACTGTGTTATGGGAT
AAGGGGAGGGGGTGGGCATATTCTGGAGAGGAGCAGAGGTCCAAGGACCCAGGAATTTGGCATGGAACAGGTGGTAGGAGAGC
CCCAGGGAGACGCCCAGGAGCTGGCTGAAAGCCACTTTGTACATGTAATGTATTATATGGGGTCTGGGCTCCAGCCAGAGAAC
AATCTTTTATTTCTGTTGTTTCCTTATTAAAATGGTGTTTTTGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
A

FIG. 1B

Tiền chất của thể đồng dạng 1 của chất đồng đẳng 6 liên quan đến chứng co giật (SEZ6) của người hiện đại

>gi|148839280|ref|NP_849191.3|

(SEQ ID NO: 3)

MRPVALLLLPSLLALLAHGLSLEAPTVGKGQAPGIEETDGELTAAPTPEQPERGVHFVTTAPTLKLLNHH
PLLEEFLQEGLEKGDEELRPALPFQPDPPAPFTPSPLPRLANQDSRPVFTSPTPAMAAVPTQPQSKEGP
WSPESESPMLRITAPLPPGPSMAVPTLGPGEIASTTPPSRAWTPTQEGPGDMGRPWVAEVVSQGAGI
GIQGTITSSTASGDDEETTTTTTIITTTITTVQTPGPCSWNFSGPEGSLDSPTDLSSPTDVGLDCFFYISVYP
GYGVEIKVQNISLREGETVTVEGLGGPDPLPLANQSFLLRGQVIRSPTHQAALRFQSLPPPAGPGTFHFH
YQAYLLSCHFPRRPAYGDVTVTSLHPGGSARFHCATGYQLKGARHLTCLNATQPFWDSKEPVCIAACGG
VIRNATTGRIVSPGFPGNYSNNLTCHWLLEAPEGQRLHLHFEKVSLAEDDDRLIIRNGDNVEAPPVYDSY
EVEYLPIEGLLSSGKHFFVELSTDSSGAAAGMALRYEAFQQGHCYEPFVKYGNFSSSTPTYPVGTTVEFS
CDPGYTLEQGSIIIECVDPHDPQWNETEPACRAVCSGEITDSAGVVLSPNWPEPYGRGQDCIWGVHVE
EDKRIMLDIRVLRIGPGDVLTFYDGDDLTARVLGQYSGPRSHFKLFTSMADVTIQFQSDPGTSVLGYQQ
GFVIHFFEVPRNDTCPELPEIPNGWKSPSQPELVHGTVVTYQCYPGYQVVGSSVLMCQWDLTWSEDL
PSCQRVTSCHDPGDVEHSRRLISSPKFPVGATVQYICDQGFVLMGSSILTCHDRQAGSPKWSDRAPKCL
LEQLKPCHGLSAPENGARSPEKQLHPAGATIHFSCAPGYVLKGQASIKCVPGHPSHWSDPPPICRAASL
DGFYNSRSLDVAKAPAASSTLDAAHIAAAIFLPLVAMVLLVGGVYFYFSRLQGKSSLQLPRPRPRPYNRITI
ESAFDNPTYETGSLSFAGDERI

FIG. 1C

Tiền chất của thể đồng dạng 2 của chất đồng đẳng 6 liên quan đến chứng co giật của người hiện đại
>gi|148839346|ref|NP_001092105.1|

(SEQ ID NO: 4)

MRPVALLLLPSLLALLAHGLSLEAPTVGKGQAPGIEETDGELTAAPTPEQPERGVHFVTTAPT
LKLLNHHPLLEEFLQEGLEKGDEELRPALPFQPDPPAPFTPSPLPRLANQDSRPVFTSPTPAM
AAVPTQPQSKEGPWSPESESPMLRITAPLPPGPSMAVPTLGPGEIASTTPPSRAWTPTQEG
PGDMGRPWVAEVVSQGAGIGIQGTITSSTASGDDEETTTTTTIITTTITTVQTPGPCSWNFS
GPEGSLDSPTDLSSPTDVGLDCFFYISVYPGYGVEIKVQNISLREGETVTVEGLGGPDPLPLA
NQSFLLRGQVIRSPTHQAALRFQSLPPPAGPGTFHFHYQAYLLSCHFPRRPAYGDVTVTSLH
PGGSARFHCATGYQLKGARHLTCLNATQPFWDSKEPVCIAACGGVIRNATTGRIVSPGFPG
NYSNNLTCHWLLEAPEGQRLHLHFEKVSLAEDDDRLIIRNGDNVEAPPVYDSYEVEYLPIEG
LLSSGKHFFVELSTDSSGAAAGMALRYEAFQQGHCYEPFVKYGNFSSSTPTYPVGTTVEFSC
DPGYTLEQGSIIIECVDPHDPQWNETEPACRAVCSGEITDSAGVVLSPNWPEPYGRGQDCI
WGVHVEEDKRIMLDIRVLRIGPGDVLTFYDGDDLTARVLGQYSGPRSHFKLFTSMADVTIQ
FQSDPGTSVLGYQQGFVIHFFEVPRNDTCPELPEIPNGWKSPSQPELVHGTVVTYQCYPGY
QVVGSSVLMCQWDLTWSEDLPSCQRVTSCHDPGDVEHSRRLISSPKFPVGATVQYICDQG
FVLMGSSILTCHDRQAGSPKWSDRAPKCLLEQLKPCHGLSAPENGARSPEKQLHPAGATIH
FSCAPGYVLKGQASIKCVPGHPSHWSDPPPICRAASLDGFYNSRSLDVAKAPAASSTLDAAH
IAAAIFLPLVAMVLLVGGVYFYFSRLQGKSSLQLPRPRPRPYNRITIESAFDNPTYETGETREYE
VSI

FIG. 1D

Sắp xếp thẳng hàng trình tự các thể đồng dạng SEZ6

```
                          1                                                                  80
   hSEZ6v1 (NP_849191)     (1) MRPVALLLLPSLLALLAHGLSLEAPTVGKGQAPGIEETDGELTAAPTPEQPERGVHFVTTAPTLKLLNHHPLLEEFLQEG
hSEZ6v2 (NP_001092105)     (1) MRPVALLLLPSLLALLAHGLSLEAPTVGKGQAPGIEETDGELTAAPTPEQPERGVHFVTTAPTLKLLNHHPLLEEFLQEG
                          81                                                                 160
   hSEZ6v1 (NP_849191)    (81) LEKGDEELRPALPFQPDPPAPFTPSPLPRLANQDSRPVFTSPTPAMAAVPTQPQSKEGPWSPESESPMLRITAPLPPGPS
hSEZ6v2 (NP_001092105)    (81) LEKGDEELRPALPFQPDPPAPFTPSPLPRLANQDSRPVFTSPTPAMAAVPTQPQSKEGPWSPESESPMLRITAPLPPGPS
                         161                                                                 240
   hSEZ6v1 (NP_849191)   (161) MAVPTLGPGEIASTTPPSRAWTPTQEGPGDMGRPWVAEVVSQGAGIGIQGTITSSTASGDDEETTTTTTIITTTITTVQT
hSEZ6v2 (NP_001092105)   (161) MAVPTLGPGEIASTTPPSRAWTPTQEGPGDMGRPWVAEVVSQGAGIGIQGTITSSTASGDDEETTTTTTIITTTITTVQT
                         241                                                                 320
   hSEZ6v1 (NP_849191)   (241) PGPCSWNFSGPEGSLDSPTDLSSPTDVGLDCFFYISVYPGYGVEIKVQNISLREGETVTVEGLGGPDPLPLANQSFLLRG
hSEZ6v2 (NP_001092105)   (241) PGPCSWNFSGPEGSLDSPTDLSSPTDVGLDCFFYISVYPGYGVEIKVQNISLREGETVTVEGLGGPDPLPLANQSFLLRG
                         321                                                                 400
   hSEZ6v1 (NP_849191)   (321) QVIRSPTHQAALRFQSLPPPAGPGTFHFHYQAYLLSCHFPRRPAYGDVTVTSLHPGGSARFHCATGYQLKGARHLTCLNA
hSEZ6v2 (NP_001092105)   (321) QVIRSPTHQAALRFQSLPPPAGPGTFHFHYQAYLLSCHFPRRPAYGDVTVTSLHPGGSARFHCATGYQLKGARHLTCLNA
                         401                                                                 480
   hSEZ6v1 (NP_849191)   (401) TQPFWDSKEPVCIAACGGVIRNATTGRIVSPGFPGNYSNNLTCHWLLEAPEGQRLHLHFEKVSLAEDDDRLIIRNGDNVE
hSEZ6v2 (NP_001092105)   (401) TQPFWDSKEPVCIAACGGVIRNATTGRIVSPGFPGNYSNNLTCHWLLEAPEGQRLHLHFEKVSLAEDDDRLIIRNGDNVE
                         481                                                                 560
   hSEZ6v1 (NP_849191)   (481) APPVYDSYEVEYLPIEGLLSSGKHFFVELSTDSSGAAAGMALRYEAFQQGHCYEPFVKYGNFSSSTPTYPVGTTVEFSCD
hSEZ6v2 (NP_001092105)   (481) APPVYDSYEVEYLPIEGLLSSGKHFFVELSTDSSGAAAGMALRYEAFQQGHCYEPFVKYGNFSSSTPTYPVGTTVEFSCD
                         561                                                                 640
   hSEZ6v1 (NP_849191)   (561) PGYTLEQGSIIIECVDPHDPQWNETEPACRAVCSGEITDSAGVVLSPNWPEPYGRGQDCIWGVHVEEDKRIMLDIRVLRI
hSEZ6v2 (NP_001092105)   (561) PGYTLEQGSIIIECVDPHDPQWNETEPACRAVCSGEITDSAGVVLSPNWPEPYGRGQDCIWGVHVEEDKRIMLDIRVLRI
                         641                                                                 720
   hSEZ6v1 (NP_849191)   (641) GPGDVLTFYDGDDLTARVLGQYSGPRSHFKLFTSMADVTIQFQSDPGTSVLGYQQGFVIHFFEVPRNDTCPELPEIPNGW
hSEZ6v2 (NP_001092105)   (641) GPGDVLTFYDGDDLTARVLGQYSGPRSHFKLFTSMADVTIQFQSDPGTSVLGYQQGFVIHFFEVPRNDTCPELPEIPNGW
                         721                                                                 800
   hSEZ6v1 (NP_849191)   (721) KSPSQPELVHGTVVTYQCYPGYQVVGSSVLMCQWDLTWSEDLPSCQRVTSCHDPGDVEHSRRLISSPKFPVGATVQYICD
hSEZ6v2 (NP_001092105)   (721) KSPSQPELVHGTVVTYQCYPGYQVVGSSVLMCQWDLTWSEDLPSCQRVTSCHDPGDVEHSRRLISSPKFPVGATVQYICD
                         801                                                                 880
   hSEZ6v1 (NP_849191)   (801) QGFVLMGSSILTCHDRQAGSPKWSDRAPKCLLEQLKPCHGLSAPENGARSPEKQLHPAGATIHFSCAPGYVLKGQASIKC
hSEZ6v2 (NP_001092105)   (801) QGFVLMGSSILTCHDRQAGSPKWSDRAPKCLLEQLKPCHGLSAPENGARSPEKQLHPAGATIHFSCAPGYVLKGQASIKC
                         881                                                                 960
   hSEZ6v1 (NP_849191)   (881) VPGHPSHWSDPPPICRAASLDGFYNSRSLDVAKAPAASSTLDAAHIAAAIFLPLVAMVLLVGGVYFYFSRLQGKSSLQLP
hSEZ6v2 (NP_001092105)   (881) VPGHPSHWSDPPPICRAASLDGFYNSRSLDVAKAPAASSTLDAAHIAAAIFLPLVAMVLLVGGVYFYFSRLQGKSSLQLP
                         961                          994
   hSEZ6v1 (NP_849191)   (961) RPRPRPYNRITIESAFDNPTYETGSLSFAGDERI    (SEQ ID NO: 3)
hSEZ6v2 (NP_001092105)   (961) RPRPRPYNRITIESAFDNPTYETGETREYEVSI-    (SEQ ID NO: 4)
```

FIG. 1E

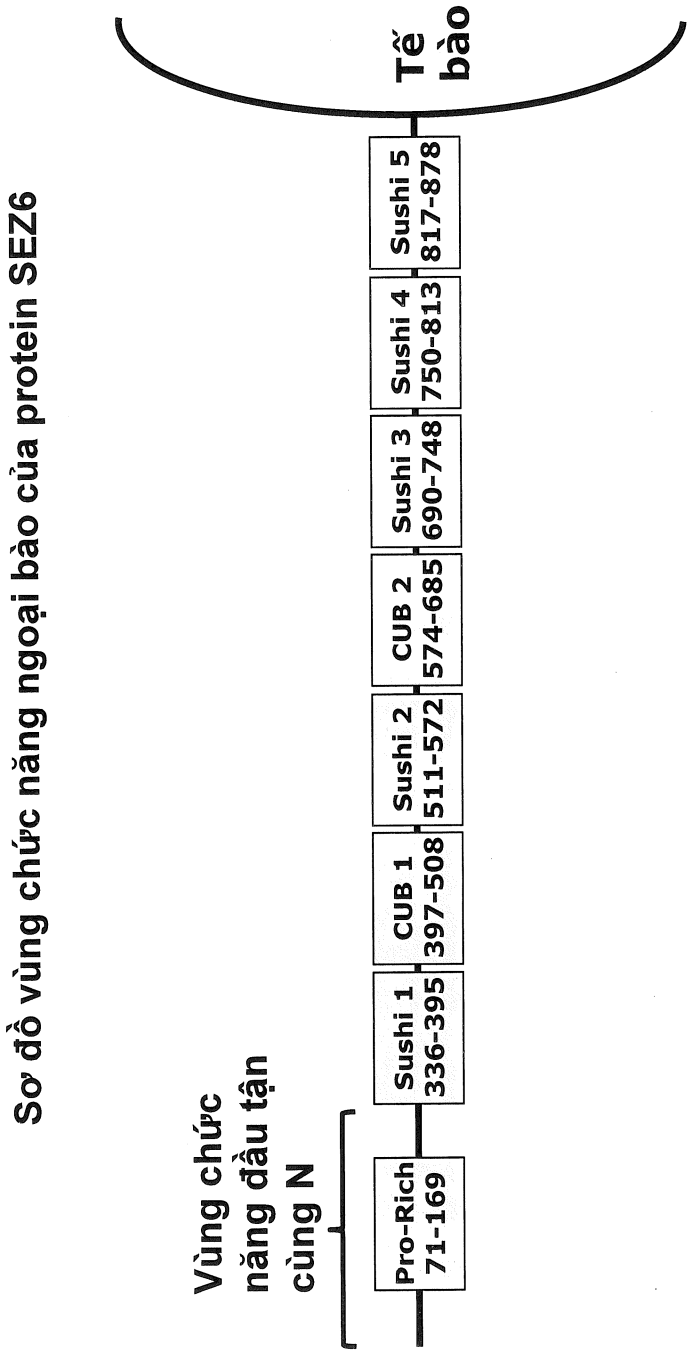

Sơ đồ vùng chức năng ngoại bào của protein SEZ6
Vùng chức năng đầu tận cùng N
Pro-Rich 71-169
Sushi 1 336-395
CUB 1 397-508
Sushi 2 511-572
CUB 2 574-685
Sushi 3 690-748
Sushi 4 750-813
Sushi 5 817-878
Tế bào

FIG. 1F

Tỉ lệ phần trăm tương đồng giữa các protein SEZ6 trưởng thành có chiều dài đầy đủ từ các loài khác nhau

SEZ6	khỉ rhesus (XP_001110503)	khỉ Cynomolgus (trong bản mô tả)	chuột nhắt (NP_067261)	Chuột cống (NP_001099224)
người 1 (NP_849191)		97,5%	90,5%	90,4%
người 2 (NP_001092105)	91,7%			
khỉ rhesus (XP_001110503)		93,0%		
chuột nhắt (NP_067261)				96,7%

FIG. 2A

SEZ6, SEZ6L, và SEZ6L2 của người hiện đại
số truy cập trình tự- NCBI

		ARN thông tin	protein
SEZ6	1	NM_178860	NP_849191
	2	NM_001098635	NP_001092105
SEZ6L	1	NM_021115	NP_066938
	2	NM_001184773	NP_001171702
	3	NM_001184774	NP_001171703
	4	NM_001184775	NP_001701704
	5	NM_001184776	NP_001171705
	6	NM_001184777	NP_001171706
SEZ6L2	1	NM_012410	NP_036542
	2	NM_201575	NP_963869
	3	NM_001114099	NP_001107571
	4	NM_001114100	NP_001107572
	5	NM_001243332	NP_001230261
	6	NM_001243333	NP_001230262

FIG. 2B

Tỉ lệ phần trăm tương đồng giữa các protein SEZ6, SEZ6L và SEZ6L2 khác nhau của người

protein nguyên vẹn người	SEZ6Lv1 (NP_066938	SEZ6L2v5 (NP_001230261)
SEZ6v1 (NP_849191)	42,5%	42,9%
SEZ6Lv1 (NP_066938)		41,1%

ECD người	SEZ6Lv1 (NP_066938)	SEZ6L2v5 (NP_001230261)
SEZ6v1 (NP_849191)	42,4%	43,2%
SEZ6Lv1 (NP_066938)		40,5%

FIG. 2C

Trình tự ADN bổ trợ của ORF dòng hSCRx17

(SEQ ID NO: 5)

CTGAGCCTGGAGGCCCCAACCGTGGGGAAAGGACAAGCCCCAGGCATCGAGGAGACAGATGGCGAGCTGACAGCAGCCCCCACACCTGAGCAGCCAGAAC
GAGGCGTCCACTTTGTCACAACAGCCCCCACCTTGAAGCTGCTCAACCACCACCCGCTGCTTGAGGAATTCCTACAAGAGGGGCTGGAAAAGGGAGATGAGG
AGTTGAGGCCAGCACTGCCCTTCCAGCCTGACCCACCTGCACCCTTCACCCCAAGTCCCCTTCCCCGCCTGGCCAACCAGGACAGCCGCCCTGTCTTTACCAGC
CCCACTCCAGCCATGGCTGCGGTACCCACTCAGCCCCAGTCCAAGGAGGGACCCTGGAGTCCGGAGTCAGAGTCCCCTATGCTTCGAATCACAGCTCCCCTAC
CTCCAGGGCCCAGCATGGCAGTGCCCACCCTAGGCCCAGGGGAGATAGCCAGCACTACACCCCCCAGCAGAGCCTGGACACCAACCCAAGAGGGTCCTGGA
GACATGGGAAGGCCGTGGGTTGCAGAGGTTGTGTCCCAGGGCGCGGGGATCGGGATCCAGGGGACCATCACCTCCTCCACAGCTTCAGGAGATGATGAGG
AGACCACCACTACCACCACCATCATCACCACCACCATCACCACAGTCCAGACACCAGGCCCTTGTAGCTGGAATTTCTCAGGCCCAGAGGGCTCTCTGGACTCC
CCTACAGACCTCAGCTCCCCCACTGATGTTGGCCTGGACTGCTTCTTCTACATCTCTGTCTACCCTGGCTATGGCGTGGAAATCAAGGTCCAGAATATCAGCCT
CCGGGAAGGGGAGACAGTGACTGTGGAAGGCCTGGGGGGGCCCGACCCACTGCCCCTGGCCAACCAGTCTTTCCTGCTGCGGGGCCAAGTCATCCGCAGCC
CCACCCACCAAGCGGCCCTGAGGTTCCAGAGCCTCCCGCCACCGGCTGGCCCTGGCACCTTCCATTTCCATTACCAAGCCTATCTCCTGAGCTGCCACTTTCCCC
GTCGTCCAGCTTATGGAGATGTGACTGTCACCAGCCTCCACCCAGGGGGTAGTGCCCGCTTCCATTGTGCCACTGGCTACCAGCTGAAGGGCGCCAGGCATC
TCACCTGTCTCAATGCCACCCAGCCCTTCTGGGATTCAAAGGAGCCCGTCTGCATCGCTGCTTGCGGCGGAGTGATCCGCAATGCCACCACCGGCCGCATCGT
CTCTCCAGGCTTCCCGGGCAACTACAGCAACAACCTCACCTGTCACTGGCTGCTTGAGGCTCCTGAGGGCCAGCGGCTACACCTGCACTTTGAGAAGGTTTCC
CTGGCAGAGGATGATGACAGGCTCATCATTCGCAATGGGGACAACGTGGAGGCCCCACCAGTGTATGATTCCTATGAGGTGGAATACCTGCCCATTGAGGG
CCTGCTCAGCTCTGGCAAACACTTCTTTGTTGAGCTCAGTACTGACAGCAGCGGGGCAGCTGCAGGCATGGCCCTGCGCTATGAGGCCTTCCAGCAGGGCCA
TTGCTATGAGCCCTTTGTCAAATACGGTAACTTCAGCAGCAGCACACCCACCTACCCTGTGGGTACCACTGTGGAGTTCAGCTGCGACCCTGGCTACACCCTG
GAGCAGGGCTCCATCATCATCGAGTGTGTTGACCCCCACGACCCCCAGTGGAATGAGACAGAGCCAGCCTGCCGAGCCGTGTGCAGCGGGGAGATCACAGA
CTCGGCTGGCGTGGTACTCTCTCCCAACTGGCCAGAGCCCTACGGTCGTGGGCAGGATTGTATCTGGGGTGTGCATGTGGAAGAGGACAAGCGCATCATGCT
GGACATCCGAGTGCTGCGCATAGGCCCTGGTGATGTGCTTACCTTCTATGATGGGGATGACCTGACGGCCCGGGTTCTGGGCCAGTACTCAGGGCCCCGTAG
CCACTTCAAGCTCTTTACCTCCATGGCTGATGTCACCATTCAGTTCCAGTCGGACCCCGGGACCTCAGTGCTGGGCTACCAGCAGGGCTTCGTCATCCACTTCT
TTGAGGTGCCCCGCAATGACACATGTCCGGAGCTGCCTGAGATCCCCAATGGCTGGAAGAGCCCATCGCAGCCTGAGCTAGTGCACGGCACCGTGGTCACTT
ACCAGTGCTACCCTGGCTACCAGGTAGTGGGATCCAGTGTCCTCATGTGCCAGTGGGACCTAACTTGGAGTGAGGACCTGCCCTCATGCCAGAGGGTGACTT
CCTGCCACGATCCTGGAGATGTGGAGCACAGCCGACGCCTCATATCCAGCCCCAAGTTTCCCGTGGGGGCCACCGTGCAATATATCTGTGACCAGGGTTTTGT
GCTGATGGGCAGCTCCATCCTCACCTGCCATGATCGCCAGGCTGGCAGCCCCAAGTGGAGTGACCGGGCCCCTAAATGTCTCCTGGAACAGCTCAAGCCATG
CCATGGTCTCAGTGCCCCTGAGAATGGTGCCCGAAGTCCTGAGAAGCAGCTACACCCAGCAGGGGCCACCATCCACTTCTCGTGTGCCCCTGGCTATGTGCTG
AAGGGCCAGGCCAGCATCAAGTGTGTGCCTGGGCACCCCTCGCATTGGAGTGACCCCCCACCCATCTGTAGGGCTGCCTCTCTGGATGGGTTCTACAACAGT
CGCAGCCTGGATGTTGCCAAGGCACCTGCTGCCTCCAGCACCCTGGATGCTGCCCACATTGCAGCTGCCATCTTCTTGCCACTGGTGGCGATGGTGTTGTTGG
TAGGAGGTGTATACTTCTACTTCTCCAGGCTCCAGGGAAAAAGCTCCCTGCAGCTGCCCCGCCCCCGCCCCCGCCCCTACAACCGCATTACCATAGAGTCAGC
GTTTGACAATCCAACTTACGAGACTGGATCTCTTTCCTTTGCAGGAGACGAGAGAATA

FIG. 3A

Dịch mã ORF dòng hSCRx17

(SEQ ID NO: 6)

LSLEAPTVGKGQAPGIEETDGELTAAPTPEQPERGVHFVTTAPTLKLLNHHPLLEEFLQEGLEKGDE
ELRPALPFQPDPPAPFTPSPLPRLANQDSRPVFTSPTPAMAAVPTQPQSKEGPWSPESESPMLRIT
APLPPGPSMAVPTLGPGEIASTTPPSRAWTPTQEGPGDMGRPWVAEVVSQGAGIGIQGTITSST
ASGDDEETTTTTTIITTTITTVQTPGPCSWNFSGPEGSLDSPTDLSSPTDVGLDCFFYISVYPGYGVE
IKVQNISLREGETVTVEGLGGPDPLPLANQSFLLRGQVIRSPTHQAALRFQSLPPPAGPGTFHFHY
QAYLLSCHFPRRPAYGDVTVTSLHPGGSARFHCATGYQLKGARHLTCLNATQPFWDSKEPVCIAA
CGGVIRNATTGRIVSPGFPGNYSNNLTCHWLLEAPEGQRLHLHFEKVSLAEDDDRLIIRNGDNVE
APPVYDSYEVEYLPIEGLLSSGKHFFVELSTDSSGAAAGMALRYEAFQQGHCYEPFVKYGNFSSST
PTYPVGTTVEFSCDPGYTLEQGSIIIECVDPHDPQWNETEPACRAVCSGEITDSAGVVLSPNWPEP
YGRGQDCIWGVHVEEDKRIMLDIRVLRIGPGDVLTFYDGDDLTARVLGQYSGPRSHFKLFTSMAD
VTIQFQSDPGTSVLGYQQGFVIHFFEVPRNDTCPELPEIPNGWKSPSQPELVHGTVVTYQCYPGY
QVVGSSVLMCQWDLTWSEDLPSCQRVTSCHDPGDVEHSRRLISSPKFPVGATVQYICDQGFVL
MGSSILTCHDRQAGSPKWSDRAPKCLLEQLKPCHGLSAPENGARSPEKQLHPAGATIHFSCAPGY
VLKGQASIKCVPGHPSHWSDPPPICRAASLDGFYNSRSLDVAKAPAASSTLDAAHIAAAIFLPLVA
MVLLVGGVYFYFSRLQGKSSLQLPRPRPRPYNRITIESAFDNPTYETGSLSFAGDERI

FIG. 3B

Sắp xếp thẳng hàng trình tự các biến thể SEZ6

```
                    1                                                                                80
hSEZ6 BC146292     (1) MRPVALLLLPSLLALLAHGLSLEAPTVGKGQAPGIEETDGELTAAPTPEQPERGVHFVTTAPTLKLLNHHPLLEEFLQEG
hSEZ6 NP_849191    (1) MRPVALLLLPSLLALLAHGLSLEAPTVGKGQAPGIEETDGELTAAPTPEQPERGVHFVTTAPTLKLLNHHPLLEEFLQEG
                   81                                                                               160
hSEZ6 BC146292    (81) LEKGDEELRPALPFQPDPPAPFTPSPLPRLANQDSRPVFTSPTPAMAAVPTQPQSKEGPWSPESESPMLRITAPLPPGPS
hSEZ6 NP_849191   (81) LEKGDEELRPALPFQPDPPAPFTPSPLPRLANQDSRPVFTSPTPAMAAVPTQPQSKEGPWSPESESPMLRITAPLPPGPS
                  161                                                                               240
hSEZ6 BC146292   (161) MAVPTLGPGEIASTTPPSRAWTPTQEGPGDMGRPWVAEVVSQGAGIGIQGTITSSTASGDDEETTTTTTIITTTITTVQT
hSEZ6 NP_849191  (161) MAVPTLGPGEIASTTPPSRAWTPTQEGPGDMGRPWVAEVVSQGAGIGIQGTITSSTASGDDEETTTTTTIITTTITTVQT
                  241                                                                               320
hSEZ6 BC146292   (241) PGPCSWNFSGPEGSLDSPTDLSSPTDVGLDCFFYISVYPGYGVEIKVQNISLREGETVTVEGLGGPDPLPLANQSFLLRG
hSEZ6 NP_849191  (241) PGPCSWNFSGPEGSLDSPTDLSSPTDVGLDCFFYISVYPGYGVEIKVQNISLREGETVTVEGLGGPDPLPLANQSFLLRG
                  321                                                                               400
hSEZ6 BC146292   (321) QVIRSPTHQAALRFQSLPPPAGPGTFHFHYQAYLLSCHFPRRPAYGDVTVTSLHPGGSARFHCATGYQLKGARHLTCLNA
hSEZ6 NP_849191  (321) QVIRSPTHQAALRFQSLPPPAGPGTFHFHYQAYLLSCHFPRRPAYGDVTVTSLHPGGSARFHCATGYQLKGARHLTCLNA
                  401         ** *                                                                  480
hSEZ6 BC146292   (401) TQPFWDSKEPVCIGECPGVIRNATTGRIVSPGFPGNYSNNLTCHWLLEAPEGQRLHLHFEKVSLAEDDDRLIIRNGDNVE
hSEZ6 NP_849191  (401) TQPFWDSKEPVCIAACGGVIRNATTGRIVSPGFPGNYSNNLTCHWLLEAPEGQRLHLHFEKVSLAEDDDRLIIRNGDNVE
                  481                                                                               560
hSEZ6 BC146292   (481) APPVYDSYEVEYLPIEGLLSSGKHFFVELSTDSSGAAAGMALRYEAFQQGHCYEPFVKYGNFSSSTPTYPVGTTVEFSCD
hSEZ6 NP_849191  (481) APPVYDSYEVEYLPIEGLLSSGKHFFVELSTDSSGAAAGMALRYEAFQQGHCYEPFVKYGNFSSSTPTYPVGTTVEFSCD
                  561                                                                               640
hSEZ6 BC146292   (561) PGYTLEQGSIIIECVDPHDPQWNETEPACRAVCSGEITDSAGVVLSPNWPEPYGRGQDCIWGVHVEEDKRIMLDIRVLRI
hSEZ6 NP_849191  (561) PGYTLEQGSIIIECVDPHDPQWNETEPACRAVCSGEITDSAGVVLSPNWPEPYGRGQDCIWGVHVEEDKRIMLDIRVLRI
                  641                                                                               720
hSEZ6 BC146292   (641) GPGDVLTFYDGDDLTARVLGQYSGPRSHFKLFTSMADVTIQFQSDPGTSVLGYQQGFVIHFFEVPRNDTCPELPEIPNGW
hSEZ6 NP_849191  (641) GPGDVLTFYDGDDLTARVLGQYSGPRSHFKLFTSMADVTIQFQSDPGTSVLGYQQGFVIHFFEVPRNDTCPELPEIPNGW
                  721                                                                               800
hSEZ6 BC146292   (721) KSPSQPELVHGTVVTYQCYPGYQVVGSSVLMCQWDLTWSEDLPSCQRVTSCHDPGDVEHSRRLISSPKFPVGATVQYICD
hSEZ6 NP_849191  (721) KSPSQPELVHGTVVTYQCYPGYQVVGSSVLMCQWDLTWSEDLPSCQRVTSCHDPGDVEHSRRLISSPKFPVGATVQYICD
                  801                                                                               880
hSEZ6 BC146292   (801) QGFVLMGSSILTCHDRQAGSPKWSDRAPKCLLEQLKPCHGLSAPENGARSPEKQLHPAGATIHFSCAPGYVLKGQASIKC
hSEZ6 NP_849191  (801) QGFVLMGSSILTCHDRQAGSPKWSDRAPKCLLEQLKPCHGLSAPENGARSPEKQLHPAGATIHFSCAPGYVLKGQASIKC
                  881                                                                               960
hSEZ6 BC146292   (881) VPGHPSHWSDPPPICRAASLDGFYNSRSLDVAKAPAASSTLDAAHIAAAIFLPLVAMVLLVGGVYFYFSRLQGKSSLQLP
hSEZ6 NP_849191  (881) VPGHPSHWSDPPPICRAASLDGFYNSRSLDVAKAPAASSTLDAAHIAAAIFLPLVAMVLLVGGVYFYFSRLQGKSSLQLP
                  961                             994
hSEZ6 BC146292   (961) RPRPRPYNRITIESAFDNPTYETGSLSFAGDERI          (SEQ ID NO: 7)
hSEZ6 NP_849191  (961) RPRPRPYNRITIESAFDNPTYETGSLSFAGDERI          (SEQ ID NO: 3)
```

FIG. 3C

ORF của hSCRx17-Fc

(SEQ ID NO: 8)

ATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGCTGCTCTGGGTTCCCGGGTCCACTGGTGAC**GGCGCGCCTGGATCC**CTGAGCCTGGAGGCCCCAACCGTGGGGAAAGG
ACAAGCCCCAGGCATCGAGGAGACAGATGGCGAGCTGACAGCAGCCCCCACACCTGAGCAGCCAGAACGAGGCGTCCACTTTGTCACAACAGCCCCCACCTTGAAGCTGCT
CAACCACCACCCGCTGCTTGAGGAATTCCTACAAGAGGGGCTGGAAAAGGGAGATGAGGAGTTGAGGCCAGCACTGCCCTTCCAGCCTGACCCACCTGCACCCTTCACCCC
AAGTCCCCTTCCCCGCCTGGCCAACCAGGACAGCCGCCCTGTCTTTACCAGCCCCACTCCAGCCATGGCTGCGGTACCCACTCAGCCCCAGTCCAAGGAGGGACCCTGGAGT
CCGGAGTCAGAGTCCCCTATGCTTCGAATCACAGCTCCCCTACCTCCAGGGCCCAGCATGGCAGTGCCCACCCTAGGCCCAGGGGAGATAGCCAGCACTACACCCCCCAGCA
GAGCCTGGACACCAACCCAAGAGGGTCCTGGAGACATGGGAAGGCCGTGGGTTGCAGAGGTTGTGTCCCAGGGCGCGGGGATCGGGATCCAGGGGACCATCACCTCCTCC
ACAGCTTCAGGAGATGATGAGGAGACCACCACTACCACCACCATCATCACCACCACCATCACCACAGTCCAGACACCAGGCCCTTGTAGCTGGAATTTCTCAGGCCCAGAGG
GCTCTCTGGACTCCCCTACAGACCTCAGCTCCCCCACTGATGTTGGCCTGGACTGCTTCTTCTACATCTCTGTCTACCCTGGCTATGGCGTGGAAATCAAGGTCCAGAATATCA
GCCTCCGGGAAGGGGAGACAGTGACTGTGGAAGGCCTGGGGGGGCCCGACCCACTGCCCCTGGCCAACCAGTCTTTCCTGCTGCGGGGCCAAGTCATCCGCAGCCCCACC
CACCAAGCGGCCCTGAGGTTCCAGAGCCTCCCGCCACCGGCTGGCCCTGGCACCTTCCATTTCCATTACCAAGCCTATCTCCTGAGCTGCCACTTTCCCCGTCGTCCAGCTTAT
GGAGATGTGACTGTCACCAGCCTCCACCCAGGGGGTAGTGCCCGCTTCCATTGTGCCACTGGCTACCAGCTGAAGGGCGCCAGGCATCTCACCTGTCTCAATGCCACCCAGC
CCTTCTGGGATTCAAAGGAGCCCGTCTGCATCGCTGCTTGCGGCGGAGTGATCCGCAATGCCACCACCGGCCGCATCGTCTCTCCAGGCTTCCCGGGCAACTACAGCAACAA
CCTCACCTGTCACTGGCTGCTTGAGGCTCCTGAGGGCCAGCGGCTACACCTGCACTTTGAGAAGGTTTCCCTGGCAGAGGATGATGACAGGCTCATCATTCGCAATGGGGAC
AACGTGGAGGCCCCACCAGTGTATGATTCCTATGAGGTGGAATACCTGCCCATTGAGGGCCTGCTCAGCTCTGGCAAACACTTCTTTGTTGAGCTCAGTACTGACAGCAGCG
GGGCAGCTGCAGGCATGGCCCTGCGCTATGAGGCCTTCCAGCAGGGCCATTGCTATGAGCCCTTTGTCAAATACGGTAACTTCAGCAGCAGCACACCCACCTACCCTGTGGG
TACCACTGTGGAGTTCAGCTGCGACCCTGGCTACACCCTGGAGCAGGGCTCCATCATCATCGAGTGTGTTGACCCCCACGACCCCCAGTGGAATGAGACAGAGCCAGCCTGC
CGAGCCGTGTGCAGCGGGGAGATCACAGACTCGGCTGGCGTGGTACTCTCTCCCAACTGGCCAGAGCCCTACGGTCGTGGGCAGGATTGTATCTGGGGTGTGCATGTGGA
AGAGGACAAGCGCATCATGCTGGACATCCGAGTGCTGCGCATAGGCCCTGGTGATGTGCTTACCTTCTATGATGGGGATGACCTGACGGCCCGGGTTCTGGGCCAGTACTC
AGGGCCCCGTAGCCACTTCAAGCTCTTTACCTCCATGGCTGATGTCACCATTCAGTTCCAGTCGGACCCCGGGACCTCAGTGCTGGGCTACCAGCAGGGCTTCGTCATCCACT
TCTTTGAGGTGCCCCGCAATGACACATGTCCGGAGCTGCCTGAGATCCCCAATGGCTGGAAGAGCCCATCGCAGCCTGAGCTAGTGCACGGCACCGTGGTCACTTACCAGT
GCTACCCTGGCTACCAGGTAGTGGGATCCAGTGTCCTCATGTGCCAGTGGGACCTAACTTGGAGTGAGGACCTGCCCTCATGCCAGAGGGTGACTTCCTGCCACGATCCTGG
AGATGTGGAGCACAGCCGACGCCTCATATCCAGCCCCAAGTTTCCCGTGGGGGCCACCGTGCAATATATCTGTGACCAGGGTTTTGTGCTGATGGGCAGCTCCATCCTCACC
TGCCATGATCGCCAGGCTGGCAGCCCCAAGTGGAGTGACCGGGCCCCTAAATGTCTCCTGGAACAGCTCAAGCCATGCCATGGTCTCAGTGCCCCTGAGAATGGTGCCCGA
AGTCCTGAGAAGCAGCTACACCCAGCAGGGGCCACCATCCACTTCTCGTGTGCCCCTGGCTATGTGCTGAAGGGCCAGGCCAGCATCAAGTGTGTGCCTGGGCACCCCTCG
CATTGGAGTGACCCCCCACCCATCTGTAGGGCTGCCTCTCTGGATGGGTTCTACAACAGTCGCAGCCTGGATGTTGCCAAGGCACCTGCTGCCTCCAGCACCCTGGATGCTG
CCCAC**CTGGCCGGCCACAGATCT**GTCGAGTGCCCACCGTGCCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCC
CGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCC
ACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCT
CCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCAGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCT
GACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCATGCTGGACTCCGACG
GCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAA
GAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTTGA

FIG. 4A

protein hSCRx17-Fc

(SEQ ID NO: 9)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGD**GAPGS**LSLEAPTVGKGQAPGIEETDGELTAAPTPEQPERGVHFVTTAPTLKLLN
HHPLLEEFLQEGLEKGDEELRPALPFQPDPPAPFTPSPLPRLANQDSRPVFTSPTPAMAAVPTQPQSKEGPWSPES
ESPMLRITAPLPPGPSMAVPTLGPGEIASTTPPSRAWTPTQEGPGDMGRPWVAEVVSQGAGIGIQGTITSSTASG
DDEETTTTTTIITTTITTVQTPGPCSWNFSGPEGSLDSPTDLSSPTDVGLDCFFYISVYPGYGVEIKVQNISLREGETV
TVEGLGGPDPLPLANQSFLLRGQVIRSPTHQAALRFQSLPPPAGPGTFHFHYQAYLLSCHFPRRPAYGDVTVTSLH
PGGSARFHCATGYQLKGARHLTCLNATQPFWDSKEPVCIAACGGVIRNATTGRIVSPGFPGNYSNNLTCHWLLEA
PEGQRLHLHFEKVSLAEDDDRLIIRNGDNVEAPPVYDSYEVEYLPIEGLLSSGKHFFVELSTDSSGAAAGMALRYEA
FQQGHCYEPFVKYGNFSSSTPTYPVGTTVEFSCDPGYTLEQGSIIIECVDPHDPQWNETEPACRAVCSGEITDSAG
VVLSPNWPEPYGRGQDCIWGVHVEEDKRIMLDIRVLRIGPGDVLTFYDGDDLTARVLGQYSGPRSHFKLFTSMA
DVTIQFQSDPGTSVLGYQQGFVIHFFEVPRNDTCPELPEIPNGWKSPSQPELVHGTVVTYQCYPGYQVVGSSVLM
CQWDLTWSEDLPSCQRVTSCHDPGDVEHSRRLISSPKFPVGATVQYICDQGFVLMGSSILTCHDRQAGSPKWSD
RAPKCLLEQLKPCHGLSAPENGARSPEKQLHPAGATIHFSCAPGYVLKGQASIKCVPGHPSHWSDPPPICRAASLD
GFYNSRSLDVAKAPAASSTLDAAH**LAGHRS**VECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED
PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR
EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

FIG. 4B

Trình tự ADN bổ trợ mã hóa SEZ6 trưởng thành của chuột

(SEQ ID NO: 10)

CTCTCCTCAGAGGCTCCGATCACGGGGGAAGGTCATGCCACGGGCATCAGGGAGACGGATGGGGAGCTGACCGCAGCCCCTACACCTGAGCAGTCAGACC
GAGGCGTCCACTTCGTCACCACAGCCCCTACCCTCAAGCTGCTCAACCACCACCCACTTCTGGAAGAATTTCTTCAAGAGGGGCTAGAAAGAGAGGAAGCGC
CGCAGCCTGCACTGCCCTTCCAGCCGGACTCACCTACACACTTTACTCCAAGCCCCCTCCCCCGCCTCACCAACCAGGACAACCGCCCCGTCTTTACCAGTCCG
ACTCCAGCCGTGGCTGCAGCACCCACCCAGCCCCACTCCAGGGAGAAACCTTGGAACCTAGAATCCAAACCCCCTGAGCTTTCTATCACATCGTCCCTTCCTCC
AGGGCCGAGTATGGCAGTGCCCACACTGCTCCCAGAGGACAGACCCAGTACTACACCCCCTAGCCAAGCATGGACTCCAACTCAGGAGGGTCCTGGAGACA
TGGACAGACCTTGGGTTCCAGAGGTCATGTCTAAGACCACAGGGCTTGGTGTCGAGGGAACCATTGCCACCTCCACAGCTTCAGGGGATGACGAAGAGACC
ACTACCACCATCATTACCACTACTGTCACCACAGTTCAGCCACCAGGCCCCTGTAGCTGGAATTTCTCAGGCCCAGAGGGCTCTCTGGATTCCCCCACGGCCCC
CAGCTCACCCTCTGATGTTGGCCTGGACTGTTTCTACTATATCTCTGTCTACCCTGGATATGGAGTAGAGATCAAGGTGGAGAACATCAGCCTTCAGGAAGGG
GAGACCATCACCGTGGAGGGCCTGGGGGGCCCCGATCCACTGCCCTTGGCTAACCAGTCGTTCCTGCTGAGGGGCCAGGTCATCCGCAGCCCCACCCACCA
AGCAGCCCTGAGGTTCCAGAGCCTCCCGCTACCCGCTGGGCCTGGCACTTTCCATTTCCGCTACCAAGCCTATCTCCTGAGCTGCCACTTTCCCCGACGTCCAG
CGTATGGAGATGTGACTGTCACCAGTCTCCACCCAGGAGGCAGCGCCCACTTCCATTGTGCCACTGGCTACCAGCTCAAGGGTGCCAGGTTCCTCACCTGTCT
CAATGCCACCCAGCCCTTTTGGGATTCCCAAGAGCCTGTTTGCATTGCTGCTTGTGGTGGAGTGATTCGGAATGCCACCACTGGCCGCATTGTCTCTCCTGGC
TTCCCGGGGAACTACAGCAACAACCTCACCTGCCACTGGTTGCTAGAGGCTCCAGAGAGCCAGCGGCTGCACCTGCACTTTGAAAAGGTCTCCCTGGCAGAA
GACGACGACAGGCTCATCATCCGCAATGGAAATAACGTGGAGGCCCCGCCGGTGTACGACTCCTATGAGGTGGAATACCTGCCCATTGAGGGCCTGCTCAG
CTCTGGCAGACACTTCTTCGTGGAGTTCAGTACTGACAGCAGTGGGGCAGCTGCAGGCATGGCCCTGCGCTATGAGGCCTTCCAGCAAGGACATTGCTATGA
GCCCTTTGTCAAATACGGCAACTTCAGCAGCAGTGCACCGTCCTACCCTGTGGGTACAACTGTGGAGTTCAGCTGTGACCCTGGCTACACCCTGGAGCAGGG
CTCCATCATCATCGAATGCGTCGACCTCCACGACCCCCAGTGGAATGAGACAGAGCCAGCCTGCCGAGCCGTGTGCAGCGGGGAGATCACAGACTCTGCAG
GCGTGGTGCTCTCTCCAAACTGGCCGGAGCCTTATGGCCGAGGGCAGGACTGCATCTGGGGTGTGCATGTGGAGGAGGACAAGCGCATCATGCTGGACAT
CCGAGTGCTGCGCATAGGCTCTGGGGATGTACTGACCTTCTACGATGGGGATGACCTCACAGCCCGGGTCCTGGGCCAATACTCAGGGCCCCGTGGCCACTT
CAAGCTCTTTACCTCCATGGCCGATGTCACCATCCAGTTCCAGTCAGACCCTGGGACCTCGGCGCTGGGTTACCAGCAAGGATTTGTCATCCACTTCTTTGAG
GTTCCCCGCAACGACACATGTCCAGAGCTACCCGAGATCCCCAACGGCTGGAAGAACCCATCACAGCCTGAGCTGGTGCACGGCACGGTGGTCACCTATCAG
TGCTACCCTGGTTACCAGGTGGTGGGATCCAGTATTCTCATGTGCCAGTGGGACCTAAGCTGGAGTGAGGACCTGCCTTCATGCCAGAGAGTGACATCTTGC
CATGACCCAGGGGATGTGGAGCACAGCCGACGCCTCATATCCAGCCCCAAGTTTCCCGTGGGAGCAACTGTGCAATATGTCTGTGACCAGGGTTTTGTGCTG
ACGGGGAGTGCCATTCTCACCTGCCATGATCGGCAAGCAGGCAGTCCCAAGTGGAGTGACAGGGCCCCCAAGTGTCTCTTGGAACAATTCAAGCCGTGCCA
TGGCCTCAGCGCCCCGGAGAATGGTGCCCGCAGCCCTGAGAAGCGGCTTCACCCAGCAGGGGCCACCATCCACTTCTCCTGTGCCCCTGGTTATGTGCTGAA
GGGCCAGGCCAGCATCAAATGCGTGCCTGGACACCCCTCGCATTGGAGTGACCCACCACCCATCTGTAGGGCTGCCTCTCTGGATGGGTTCTACAACGGCCG
TAGCCTGGATGTTGCCAAGGCACCTGCCGCCTCCAGTGCCCTGGACGCTGCTCACCTGGCTGCTGCCATCTTCCTACCATTGGTGGCCATGGTGTTGCTGGTG
GGAGGAGTGTACCTCTATTTTTCCAGATTCCAGGGGAAAAGTCCCCTGCAACTTCCCCGAACTCATCCTCGCCCCTATAACCGCATCACGGTAGAGTCAGCAT
TTGACAATCCAACTTATGAGACTGGATCTCTTTCCTTTGCAGGAGACGAGAGAATATGA

FIG. 5A

Dịch mã của ORF dòng mSCRx17

(SEQ ID NO: 11)

LSSEAPITGEGHATGIRETDGELTAAPTPEQSDRGVHFVTTAPTLKLLNHHPLLEEFLQEGLEREEAPQPALPFQPDSPTHFT
PSPLPRLTNQDNRPVFTSPTPAVAAAPTQPHSREKPWNLESKPPELSITSSLPPGPSMAVPTLLPEDRPSTTPPSQAWTPT
QEGPGDMDRPWVPEVMSKTTGLGVEGTIATSTASGDDEETTTTIITTTVTTVQPPGPCSWNFSGPEGSLDSPTAPSSPSD
VGLDCFYYISVYPGYGVEIKVENISLQEGETITVEGLGGPDPLPLANQSFLLRGQVIRSPTHQAALRFQSLPLPAGPGTFHFR
YQAYLLSCHFPRRPAYGDVTVTSLHPGGSAHFHCATGYQLKGARFLTCLNATQPFWDSQEPVCIAACGGVIRNATTGRIVS
PGFPGNYSNNLTCHWLLEAPESQRLHLHFEKVSLAEDDDRLIIRNGNNVEAPPVYDSYEVEYLPIEGLLSSGRHFFVEFSTD
SSGAAAGMALRYEAFQQGHCYEPFVKYGNFSSSAPSYPVGTTVEFSCDPGYTLEQGSIIIECVDLHDPQWNETEPACRAV
CSGEITDSAGVVLSPNWPEPYGRGQDCIWGVHVEEDKRIMLDIRVLRIGSGDVLTFYDGDDLTARVLGQYSGPRGHFKLF
TSMADVTIQFQSDPGTSALGYQQGFVIHFFEVPRNDTCPELPEIPNGWKNPSQPELVHGTVVTYQCYPGYQVVGSSILMC
QWDLSWSEDLPSCQRVTSCHDPGDVEHSRRLISSPKFPVGATVQYVCDQGFVLTGSAILTCHDRQAGSPKWSDRAPKCLL
EQFKPCHGLSAPENGARSPEKRLHPAGATIHFSCAPGYVLKGQASIKCVPGHPSHWSDPPPICRAASLDGFYNGRSLDVAK
APAASSALDAAHLAAAIFLPLVAMVLLVGGVYLYFSRFQGKSPLQLPRTHPRPYNRITVESAFDNPTYE TGSLSFAGDERI

FIG. 5B

Trình tự ADN bổ trợ của ORF dòng rSCRx17

(SEQ ID NO: 12)

ctctcctcagaggctccaatcacgggggaaggtcaagccacgggcatcagggagatggatggggagctgaccgcagcccctacacctgagcagtcagaccgaggcgtccacttcgtcaccac
agcccctaccctcaagctactcaaccaccacccacttctggaggaatttcttcaagaggggctagaagggagagaggaagctccgaggccggcactgcccttccagccagactcacctacac
cctttactccaagccccttccccgcctcaccaaccaggacaaccgccctgtctttaccagtccgacgccagctgtagctgcggcacccacgcagccccactccagaaagaaaccctggaacc
cagagtcagagcccccggagctttacatcacatctcccctccctccaggccgagtatggcagtgcccacactgcacccagaggacagacccagcactacacccccccagccaagcatggact
ccaacccaggagggtcctggagacatgggcagaccttgggttccagagatcatgtctaagaccacagggcttggtatcgaggggaccattgccacctccacagcttcaggggatgacgaaga
gaccaccaccaccaccatcattaccaccgtcaccacaattcagccaccaggcccctgtagctggaatttctcaggcccggagggctctctggattcccctgcggtccccagcgtcccctctgatg
ttggcctggactgtctctactacatctctgtctaccctggatatggagtcgagatcaaggtgaagaacatcagccttcaggaaggagagaccataaccgtggagggcctgggggggcctgacc
cactgcccttggctaaccagtctttcctgctgaggggccaggtcatccgcagccccacccaccaggcagccgtgaggttccaaagccttccacttcccgctggacctggtactttccatttccact
accaagcctatctcctgagctgccactttcctcggcgtccagcttatggagatgtgactgtcaccagcctccacccaggaggcagcgcccgcttccactgtgccactggctaccagctaaagggt
gccaggttcctcacctgtctcaatgccacccagccctttgggattcccaagagcctgtctgcattgctgcttgtggaggagtgattcggaatgccaccactggccgcattgtctctcctggctttcc
cgggaactacagcaacaacctcacctgccactggctgctagaagcccccgagagccagcggctgcacctgcactttgaaaaggtctccctggcagaagatgacgacaggctcatcatccgta
acgggaataacgtggaggccccgccagtgtatgactcctatgaggtggagtacctgcccattgagggcctgctcagttctggcagacacttcttcgtggagttcagtactgacagcagcggggc
agccgcaggcatggcactgcgctatgaggccttccagcaaggacattgctatgagccctttgtcaaatacggtaacttcagcagcagcgcaccgtcctaccctgtgggtacgactgtggagttc
agctgtgaccctggctacaccctggagcagggttccatcatcatcgaatgcgtcgacctccgtgacccccagtggaatgagacagaaccagcctgccgagccgtgtgcagcggggagatcac
agactctgcaggcgtggtgctctctccaaactggccggagccttatggccgagggcaggactgcatctggggtgtgcatgtggaggaggacaagcgcatcatgctggacatccgagtgctgcg
cataggctctggggatgtactgaccttctacgatggggatgacctgacagcccgggtcctgggccaatactcagggccccgtggccacttcaagctctttacctccatggctgatgtcaccattc
agttccagtcagaccctgggacgtcggcgctgggttaccagcaaggatttgtcatccacttctttgaggtgccccgcaatgacacatgtccagagcttcccgagatccccaacggctggaagaa
cccatcacagcctgagctggtgcatggcacggtggtcacctatcagtgctaccccggttaccaggtggtgggatccagtattctcatgtgccagtgggacctgagctggagtgaggacctgccct
catgccagagagtgacatcctgccatgacccaggggatgtggagcacagccgacgcctcatatccagcctcaagtttcctgtgggagcaactgtgcagtatatctgtgaccagggttttgtgctc
acgggtagcgccatccttacttgccatgatcgtcaagcgggcagtcccaagtggagtgacagggccccccaagtgtctcttggaacagttcaaaccatgtcatggcctcagtgcccctgagaatg
gtgcccgcagccctgagaagaggctccacccagcaggggccaccattcacttctcctgtgcccctggttatgtgctgaagggccaggccagcatcaaatgcgtgcctggacaccctcacattg
gagtgatcctccacccatctgtagggctgcttctctggatgggttctacaacggccgtagcctggatgttgccaaggcacctgccacctccagtgccctggatgctgcccacatggcagctgcca
tctttctaccattggtggccatggtgttgctggtgggaggagtgtacctctatttctccagactccagggaaaaagtcctctgcagcttcccggaactcatcctcgcccctataaccgtatcacggt
agagtcagcatttgacaatccaacttatgagaccggatctctttcctttgcaggagacgagagaata

FIG. 5C

Dịch mã của ORF dòng rSCRx17

(SEQ ID NO: 13)

LSSEAPITGEGQATGIREMDGELTAAPTPEQSDRGVHFVTTAPTLKLLNHHPLLEEFLQEGLEGREEAPRPALPFQPDSPTPFTPS
PLPRLTNQDNRPVFTSPTPAVAAAPTQPHSRKKPWNPESEPPELYITSPLPPGPSMAVPTLHPEDRPSTTPPSQAWTPTQEGPG
DMGRPWVPEIMSKTTGLGIEGTIATSTASGDDEETTTTTIITTVTTIQPPGPCSWNFSGPEGSLDSPAVPSVPSDVGLDCLYYISV
YPGYGVEIKVKNISLQEGETITVEGLGGPDPLPLANQSFLLRGQVIRSPTHQAAVRFQSLPLPAGPGTFHFHYQAYLLSCHFPRRP
AYGDVTVTSLHPGGSARFHCATGYQLKGARFLTCLNATQPFWDSQEPVCIAACGGVIRNATTGRIVSPGFPGNYSNNLTCHWL
LEAPESQRLHLHFEKVSLAEDDDRLIIRNGNNVEAPPVYDSYEVEYLPIEGLLSSGRHFFVEFSTDSSGAAAGMALRYEAFQQGH
CYEPFVKYGNFSSSAPSYPVGTTVEFSCDPGYTLEQGSIIIECVDLRDPQWNETEPACRAVCSGEITDSAGVVLSPNWPEPYGRG
QDCIWGVHVEEDKRIMLDIRVLRIGSGDVLTFYDGDDLTARVLGQYSGPRGHFKLFTSMADVTIQFQSDPGTSALGYQQGFVI
HFFEVPRNDTCPELPEIPNGWKNPSQPELVHGTVVTYQCYPGYQVVGSSILMCQWDLSWSEDLPSCQRVTSCHDPGDVEHS
RRLISSLKFPVGATVQYICDQGFVLTGSAILTCHDRQAGSPKWSDRAPKCLLEQFKPCHGLSAPENGARSPEKRLHPAGATIHFSC
APGYVLKGQASIKCVPGHPSHWSDPPPICRAASLDGFYNGRSLDVAKAPATSSALDAAHMAAAIFLPLVAMVLLVGGVYLYFSR
LQGKSPLQLPGTHPRPYNRITVESAFDNPTYETGSLSFAGDERI

FIG. 5D

Trình tự ADN bổ trợ của ORF dòng cSCRx17

(SEQ ID NO: 14)

atggagacagacacactcctgctatgggtactgctgctctgggttccaggttccactggtgacggcgcgccactcagcagcgaagctcccacaatgggcaagggacaggcccccggaattga
agaaaccgatggcgaactcaccgctgcccctaccctgagcaacccgaaaggggagtgcactttgtgaccaccgctcccaccctgaagctgctcaatcaccacccctcctggaggagtttct
gcaggaaggcctggaaaaaggcgacgaggaactcagacctgccctgcccttccaacccgaccctcctacccccttacacctagccctctccctagactggccaaccaagactccagacctgt
gttcaccagccctacacctgctacagctgccgtccctacccaacctcaatccaaggagggaccttggagcctcgagagcgagcctcccgtgctgagaatcacagctcctctccctcctggcccctt
ccatggctgtccccacactcggacctggcgaaaggcccagcacaacacccccctccagagcctggacccctacacaagaaggccctggcgacatgggaaggccttgggtccctgaagtcgt
gagccaaggcgccggcatcggaatccagggaaccatcgccagctccacagccagcggagacgatgaggaaacaaccaccacaaccaccatcatcaccaccacaatcacaacagtccaga
ccccggccccttgcagctggaatttttccggccctgagggatccctggattccccccacagatctgtcctcccctcctgacgtgggcctcgactgtttcttctatatctccgtgtatcctggctacggc
gtcgaaatcaaagtccagaacatctccctgagggagggcgaaacagtcaccgtggaaggactgggcggacccgctcctctgcctctcgccaaccaatccttcctcctcaggggccaagtgatt
agatcccccacacatcaagctgctctcaggttccaaagcctccctcccccgctggacccggaacctttcacttccactaccaagcctatctcctcagctgccatttcccccacaggcccgcttat
ggagatgtcacagtcacctccctgcatcctggcggctccgctagattccactgcgctaccggataccaactcaagggcgccaggcatctgacatgtctcaatgctacccagcccttctgggaca
gcaaggagcccgtctgcattgccgcttgcggaggcgtcatcagaaatgccaccaccggcagaatcgtgagccccggcttccctggcaactactccaacaacctgacatgccactggctgctgg
aagctcctgagggccagagactgcatctgcacttcgagaaggtcagcctggccgaagatgacgacagactcatcatcaggaacggcgacaacgtggaggctccccccgtctatgattcctacg
aggtcgagtacctccccatcgagggactgctgtcctccggcaagcatttttcgtggagctgtccacagattccagcggagctgccgccggaatggctctcaggtacgaggctttccaacagggc
cactgttacgagccctttgtgaagtacggcaacttctccagctccgctcctacctaccccgtcggcacaaccgtcgaatttagctgcgaccctggatacacactcgagcaaggctccatcatcatc
gagtgtgtcgacccccacgaccccaatggaacgagacagagcccgcctgtagggccgtgtgtagcggagagattaccgactccgccggagtggtgctctcccctaattggcctgaaccctac
ggcagaggacaagattgtatttggggcgtccatgtcgaggaggacaagaggattatgctcgacgtgagggtgctgaggattggacctggcgacgtgctcacattctatgacggcgacgatctc
accgccagagtcctgggacaatactccggccctcacagccacttcaagctgttcaccagcatggctgacgtgaccatccagttccagtccgatcctggaacatccgtgctgggataccagcagg
gcttcgtcatccacttcttcgaggtccccaggaacgacacctgccccgaactgcccgagattcccaacggctggaaatccccctcccaacctgatctcgtgcacggcaccgtcgtcacctaccaa
tgctaccctggataccaagtcgtcggcagcagcgtgctgatgtgccaatgggacctcacctggagcgaggatctgccctcctgccagagagtcacctcctgccacgatcccggcgatgtggaac
actccaggaggctgattagctcccccaagttccctgtcggagccaccgtgcaatacatctgcgaccagggctttgtgctgaccggaaccagcatcctcacatgccacgacaggcaagctggatc
ccccaagtggtccgatagggcccccaaatgcctcctggaacagctgaagccttgtcatggcctcagcgctcctgaaaacggcgctaggagccccgaaaagaggctccaccctgccggagcca
ccatccacttttcctgtgcccccggatacgtgctgaagggccaggcctccattaagtgcgtgcccggacatccttcccactggtccgaccccctcccatctgtaaagccgcctccctggacggat
tctataacagcagaagcctggacgtcgctaaggcccctgctgcttcctccaccctggatgctgctcacatcgctgctgccatctttctgcccctcgtcgccatggtgctgctggtgggaggcgtct
acttctacttctccaggctgcagggaaagagctccctgcaactgcctaggacaagacccaggccctacaataggatcacagtcgagagcgccttcgacaaccccacatacgagacaggatcc
ctgagctttgccggagacgagagaatt

FIG. 5E

Dịch mã ORF dòng cSCRx17

(SEQ ID NO: 15)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDGAPLSSEAPTMGKGQAPGIEETDGELTAAPTPEQPER
GVHFVTTAPTLKLLNHHPLLEEFLQEGLEKGDEELRPALPFQPDPPTPFTPSPLPRLANQ
DSRPVFTSPTPATAAVPTQPQSKEGPWSLESEPPVLRITAPLPPGPSMAVPTLGPGERPS
TTPPSRAWTPTQEGPGDMGRPWVPEVVSQGAGIGIQGTIASSTASGDDEETTTTTTIITT
TITTVQTPGPCSWNFSGPEGSLDSPTDLSSPPDVGLDCFFYISVYPGYGVEIKVQNISLR
EGETVTVEGLGGPAPLPLANQSFLLRGQVIRSPTHQAALRFQSLPPPAGPGTFHFHYQAY
LLSCHFPHRPAYGDVTVTSLHPGGSARFHCATGYQLKGARHLTCLNATQPFWDSKEPVCI
AACGGVIRNATTGRIVSPGFPGNYSNNLTCHWLLEAPEGQRLHLHFEKVSLAEDDDRLII
RNGDNVEAPPVYDSYEVEYLPIEGLLSSGKHFFVELSTDSSGAAAGMALRYEAFQQGHCY
EPFVKYGNFSSSAPTYPVGTTVEFSCDPGYTLEQGSIIIECVDPHDPQWNETEPACRAVC
SGEITDSAGVVLSPNWPEPYGRGQDCIWGVHVEEDKRIMLDVRVLRIGPGDVLTFYDGDD
LTARVLGQYSGPHSHFKLFTSMADVTIQFQSDPGTSVLGYQQGFVIHFFEVPRNDTCPEL
PEIPNGWKSPSQPDLVHGTVVTYQCYPGYQVVGSSVLMCQWDLTWSEDLPSCQRVTSCHD
PGDVEHSRRLISSPKFPVGATVQYICDQGFVLTGTSILTCHDRQAGSPKWSDRAPKCLLE
QLKPCHGLSAPENGARSPEKRLHPAGATIHFSCAPGYVLKGQASIKCVPGHPSHWSDPPP
ICKAASLDGFYNSRSLDVAKAPAASSTLDAAHIAAAIFLPLVAMVLLVGGVYFYFSRLQG
KSSLQLPRTRPRPYNRITVESAFDNPTYETGSLSFAGDERI

FIG. 5F

Trình tự ADN bổ trợ của ECD SEZ6L của người

(SEQ ID NO: 16)

ctcgagagggatgctctgcctgagggagatgcttcccctctcggaccttatctgctgcccagcggagctcctgagaggggatcccccggaaaggagcatcccgaagaaagagtggtcacagct
ccccctagctccagccagagcgctgaggtgctgggagaactggtcctcgacggaacagcccccttccgcccatcacgatattcctgccctcagccctctcctccccgaggaagctaggcctaaac
acgccctcccccctaaaaagaagctgccttccctcaagcaggtcaattccgccaggaagcagctcagacccaaggccacctccgctgctacagtccaaagagctggatcccagcctgccagc
cagggactcgatctgctcagcagctccacagaaaaacctggacctcctggcgatcctgaccctattgtggccagcgaagaagctagcgaagtccctctgtggctggacaggaaggagtccgct
gtccccaccacacccgctcctctccagatcagccccttcacctcccagccttatgtcgctcatacactgcctcagaggcctgagcctggcgaacctggacctgacatggctcaggaggctcctca
ggaggacaccagccctatggccctgatggataagggcgagaatgaactgaccggaagcgccagcgaggaaagccaggagaccaccaccagcacaatcatcaccaccaccgtcatcaccac
cgaacaggcccccgctctgtgttccgtgtccttttccaaccccgagggctacattgacagcagcgattacccctgctccctctcaacaacttcctcgagtgcacctacaatgtgaccgtgtacac
cggctacggagtcgaactccaggtgaagtccgtgaacctctccgatggcgaactgctctccattaggggcgtcgatggccctacactcaccgtcctggctaaccaaaccctgctcgtcgaaggc
caggtgattaggtcccccaccaacaccatctccgtctacttcaggacctttcaagacgacggactgggaaccttccaactgcattaccaggccttcatgctgtcctgtaatttccccaggagaccc
gactccggagacgtcaccgtcatggatctgcactccggaggcgtggcccacttttcattgtcacctcggctacgagctccagggcgccaagatgctgacatgcatcaacgccagcaaacctcact
ggtccagccaggagcctatctgtagcgctccttgcggcggagccgtgcacaatgctacaattggcagagtgctcagcccttcctaccctgaaaacaccaacggctcccagttctgcatctggac
aatcgaggcccccgaaggccaaaagctgcacctgcactttgagaggctcctgctccacgacaaagacaggatgaccgtgcactccggccagaccaataagtccgccctcctgtatgacagcc
tgcagacagagtccgtccctttgaaggcctgctgtccgagggcaataccatcaggattgagttcacatccgaccaagccagggctgctagcaccttcaacattaggtttgaggctttcgaaaag
ggacactgctacgagccctatattcagaatggcaatttcacaacctccgaccccacctacaatatcggcacaattgtggagtttacctgcgaccctggacacagcctggagcagggacctgcca
tcatcgaatgcatcaacgtcagggacccctactggaacgacacagaacctctgtgtagggctatgtgcggaggcgaactgagcgctgtggctggagtcgtgctctcccctaactggcccgaac
cctatgtggagggcgaagattgcatctggaagatccacgtcggcgaggaaaaaaggatctttctggacatccagttcctgaatctctccaacagcgacatcctgaccatctacgacggagatga
ggtcatgccccacattctgggccagtatctcggaaactccggcccccaaaagctctactcctccaccccgacctcacaatccaattccacagcgatcctgctggcctcatctttggaaagggac
aaggctttatcatgaattacatcgaggtcagcagaaacgacagctgctccgacctgcctgagatccagaacggatggaagaccacctcccacaccgagctcgtcaggggagctaggatcaca
taccagtgcgaccccggatacgacatcgtcggctccgataccctgacatgccagtgggatctgagctggagctccgaccccccctttgtgagaagatcatgtactgcaccgaccccggcgaag
tcgatcatagcaccaggctcatcagcgatcctgtgctgctcgtcggcacaaccatccaatacacctgtaaccccggattcgtgctcgaaggatcctccctgctcacctgttacagcagggaaacc
ggcaccccatttggacatccaggctgcctcactgcgtgtccgaagagagcctggcttgcgataatcccggcctgcctgagaacggataccagattctgtacaaaaggctgtacctccccggcg
agtccctgaccttcatgtgctacgaaggattcgagctcatgggcgaagtcaccatcaggtgcatcctcggccagccctcccactggaacggacctctccccgtctgtaaggtcaatcaggattcc
ttcgagcacgctctggaagtcgctgaggctgccgccgagacaagcctggaaggcggc

FIG. 5G

Protein ECD SEZ6L của người

(SEQ ID NO: 17)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDHGAPLERDALPEGDASPLGPYLLPSGAPERGSPGKEHPEERVVT
APPSSSQSAEVLGELVLDGTAPSAHHDIPALSPLLPEEARPKHALPPKKKLPSLKQVNSARKQLRPK
ATSAATVQRAGSQPASQGLDLLSSSTEKPGPPGDPDPIVASEEASEVPLWLDRKESAVPTTPAPLQI
SPFTSQPYVAHTLPQRPEPGEPGPDMAQEAPQEDTSPMALMDKGENELTGSASEESQETTTSTII
TTTVITTEQAPALCSVSFSNPEGYIDSSDYPLLPLNNFLECTYNVTVYTGYGVELQVKSVNLSDGELL
SIRGVDGPTLTVLANQTLLVEGQVIRSPTNTISVYFRTFQDDGLGTFQLHYQAFMLSCNFPRRPDS
GDVTVMDLHSGGVAHFHCHLGYELQGAKMLTCINASKPHWSSQEPICSAPCGGAVHNATIGRV
LSPSYPENTNGSQFCIWTIEAPEGQKLHLHFERLLLHDKDRMTVHSGQTNKSALLYDSLQTESVPF
EGLLSEGNTIRIEFTSDQARAASTFNIRFEAFEKGHCYEPYIQNGNFTTSDPTYNIGTIVEFTCDPGH
SLEQGPAIIECINVRDPYWNDTEPLCRAMCGGELSAVAGVVLSPNWPEPYVEGEDCIWKIHVGEE
KRIFLDIQFLNLSNSDILTIYDGDEVMPHILGQYLGNSGPQKLYSSTPDLTIQFHSDPAGLIFGKGQG
FIMNYIEVSRNDSCSDLPEIQNGWKTTSHTELVRGARITYQCDPGYDIVGSDTLTCQWDLSWSSD
PPFCEKIMYCTDPGEVDHSTRLISDPVLLVGTTIQYTCNPGFVLEGSSLLTCYSRETGTPIWTSRLPH
CVSEESLACDNPGLPENGYQILYKRLYLPGESLTFMCYEGFELMGEVTIRCILGQPSHWNGPLPVC
KVNQDSFEHALEVAEAAAETSLEGGLAGHHHHHHHHH

FIG. 5H

Trình tự ADN bổ trợ của ECD SEZ6L2 của người

(SEQ ID NO: 18)

ctgcctctcaaagaggaagagattctccccgagcccggatccgagacacccacagtggcttccgaagccctcgctgaactgctgcacggagccctcctgagaaaggggacctgaaatgggcta
tctccctggctccgacagagatcccacactcgccacacctcctgctggacagaccctcgctgtgccttccctgcccagagccacagaacccggaacaggccctctcacaacagctgtgacccct
aacggcgtcagaggagctggacctacagcccctgagctgctgacacctcctcctggcacaaccgctcctcctcctccttccccctgctagccctggacccccctctcggacctgaaggaggcgagg
aggagacaaccaccaccattattaccaccaccaccgtgacaaccacagtgaccagccctgtcctgtgcaacaacaacatcagcgaaggcgaaggctatgtggaatcccctgacctgggctcc
cctgtgtccagaacactcggcctcctggattgcacatactccattcacgtgtaccccggctacggaatcgagattcaggtgcagaccctgaatctgtcccaggaggaggaactgctggtgctgg
ctggcggaggaagccctggcctcgctcctagactcctcgctaactcctccatgctcggcgaaggccaggtcctcagatcccctaccaacaggctgctcctgcacttccagagccccagagtgcc
tagaggaggcggcttcaggattcactaccaggcctatctcctgagctgtggattccctcccagacccgctcatggcgatgtctccgtcaccgacctccaccccggaggaacagccaccttccact
gtgattccggataccagctgcaaggcgaggagaccctgatttgcctcaatggcaccaggcccagctggaacggagagacacctagctgcatggctagctgcggcggaaccatccataatgcc
accctcggcaggatcgtcagccctgaacctggcggagctgtgggacctaacctcacatgcagatgggtgatcgaagctgctgaaggcaggagactccacctccacttcgagagggtgtccctg
gacgaggacaacgacaggctcatggtcagaagcggcggaagccctctcagccctgtgatttacgacagcgacatggacgatgtgcctgagaggggcctcatctccgatgcccaaagcctgta
cgtggaactcctctccgagaccccgctaacccctcctcctgagcctcagattcgaggccttcgaggaggacagatgtttcgctccttttctggcccatggcaacgtgaccacaaccgaccccg
agtacagacccggagctctggctaccttcagctgtctgcctggctacgccctcgaacctcccggacctcctaatgccatcgaatgtgtggatcccaccgaaccccattggaacgacaccgagcc
cgcttgtaaggctatgtgcggcggagaactcagcgaacctgccggagtggtcctctccctgattggccccagagctattccccggacaagactgtgtctggggcgtgcacgtccaggagga
aaagaggatcctcctccaggtggagattctgaacgtcagagagggagacatgctgaccctgttcgacggagacggaccttccgccagagtcctcgctcagctgagaggccctcagcccagaa
ggagactgctcagctccggccccgatctgacactccagtttcaggcccccctggcccccctaatcctggcctgggacagggcttcgtgctccacttcaaggaggtccccaggaatgatacatg
ccccgaactgcctcctcccgagtggggatggaggacagcttcccatggcgacctgatcaggggaaccgtgctgacatatcagtgtgaacccggctacgagctgctgggaagcgatatcctgac
ctgtcagtgggatctctcctggagcgctgctccccctgcctgtcagaaaatcatgacctgcgctgaccctggagagatcgctaacggccacaggaccgcttccgacgctggatttcccgtgggct
cccacgtgcaatacaggtgcctccccggatactccctcgaaggcgctgccatgctgacatgctacagcagggacaccggcacacccaagtggtccgacagggtgcccaaatgtgctctgaagt
acgagccctgtctcaatcccggagtgcccgagaacggataccagaccctgtacaagcaccactatcaggccggcgaatccctgagattcttctgctacgagggcttcgagctcatcggcgagg
tgacaattacctgtgtgcccggccatccttcccagtggaccagccagccccctctctgtaaggtcgcctacgaagagctgctcgacaataggaagctggaggtcacccagaccaccgaccttc
cagacaactggaaggcggc

FIG. 5I

Protein ECD SEZ6L2 của người

(SEQ ID NO: 19)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGDGAPLPLKEEEILPEPGSETPTVASEALAELLHGALLRRGPEMGYL
PGSDRDPTLATPPAGQTLAVPSLPRATEPGTGPLTTAVTPNGVRGAGPTAPELLTPPPGTTAPPPPS
PASPGPPLGPEGGEEETTTTIITTTTVTTTVTSPVLCNNNISEGEGYVESPDLGSPVSRTLGLLDCTY
SIHVYPGYGIEIQVQTLNLSQEEELLVLAGGGSPGLAPRLLANSSMLGEGQVLRSPTNRLLLHFQSP
RVPRGGGFRIHYQAYLLSCGFPPRPAHGDVSVTDLHPGGTATFHCDSGYQLQGEETLICLNGTRPS
WNGETPSCMASCGGTIHNATLGRIVSPEPGGAVGPNLTCRWVIEAAEGRRLHLHFERVSLDEDN
DRLMVRSGGSPLSPVIYDSDMDDVPERGLISDAQSLYVELLSETPANPLLLSLRFEAFEEDRCFAPF
LAHGNVTTTDPEYRPGALATFSCLPGYALEPPGPPNAIECVDPTEPHWNDTEPACKAMCGGELSE
PAGVVLSPDWPQSYSPGQDCVWGVHVQEEKRILLQVEILNVREGDMLTLFDGDGPSARVLAQL
RGPQPRRRLLSSGPDLTLQFQAPPGPPNPGLGQGFVLHFKEVPRNDTCPELPPPEWGWRTASH
GDLIRGTVLTYQCEPGYELLGSDILTCQWDLSWSAAPPACQKIMTCADPGEIANGHRTASDAGFP
VGSHVQYRCLPGYSLEGAAMLTCYSRDTGTPKWSDRVPKCALKYEPCLNPGVPENGYQTLYKHH
YQAGESLRFFCYEGFELIGEVTITCVPGHPSQWTSQPPLCKVAYEELLDNRKLEVTQTTDPSRQLEG
GLAGHHHHHHHHH

FIG. 5J

Trị số biểu hiện tương đối cho các bản sao ARN thông tin liên quan đến khối u thần kinh nội tiết ở dòng NTX sử dụng kỹ thuật giải trình tự toàn bộ hệ phiên mã

	DLL1	DLL3	DLL4	NOTCH1	NOTCH2	NOTCH3	NOTCH4	ASCL1	NCAM1	CHGA	HES1	HES6	HEY1
LU37p3 - LCNEC	86,2	93,7	4,5	0,1	14,4	7,8	0,7	2690,8	72,0	94,0	2,7	55,1	5,6
LU64p2 - SCLC	10,9	34,3	10,8	8,2	0,2	0,7	5,7	418,4	57,8	729,5	6,3	2605,8	2,0
LU73p1 - SCLC	176,1	227,6	16,6	4,2	0,0	33,0	79,7	3429,1	77,5	515,0	34,5	3270,6	33,9
LU86p3 - SCLC	4,7	11,9	12,2	18,7	176,8	14,5	0,5	0,4	294,9	17,7	13,9	285,2	9,9
LU95p2 - SCLC	2,4	16,0	1,6	2,1	0,4	8,5	12,2	273,2	171,5	18,2	2,8	72,6	9,3
LU137p0 -LU_Ad	1,8	0,0	4,3	10,6	247,7	27,5	0,4	0,0	0,0	0,0	54,6	1,5	1,7
LU146p0 - LU_Ad	0,0	0,0	0,3	5,6	56,8	37,9	3,9	0,0	0,8	0,0	42,8	0,8	0,3
LU153p0 - LU_Ad	0,8	0,0	5,7	8,1	195,1	8,0	6,5	0,2	4,4	0,0	4,8	0,2	1,4
LU49p4 – LU_SCC	2,6	0,7	0,0	7,6	104,2	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	62,1	4,3	0,0
LU70p4 - LU_SCC	4,7	0,0	0,8	12,6	123,2	1,8	0,1	0,0	0,0	0,3	42,3	2,1	0,0
LU76p5 - LU_SCC	0,8	0,0	4,8	20,0	32,5	0,1	0,0	3,4	0,3	0,3	23,0	0,8	0,0
OV26p3 - OV	34,2	65,4	15,7	0,0	101,0	17,4	0,6	2253,7	128,8	23,1	4,3	35,1	7,1
OV100p0 - OV	0,0	0,5	0,4	3,6	154,2	16,3	0,5	0,0	2,0	0,0	84,1	0,0	17,3
OV45p3 - OV	1,7	1,9	0,1	14,9	53,2	84,5	2,7	0,0	60,4	0,1	14,6	2,4	64,4
OV55p5 - OV	0,3	0,2	0,0	31,0	139,8	71,7	1,4	0,0	11,4	0,0	19,4	1,9	6,7
OV72METp0 - OV	0,0	0,1	0,2	1,6	303,1	46,8	0,2	0,3	34,5	0,1	17,1	1,9	2,0
OV91METp0 - OV	0,3	1,6	0,1	10,5	340,1	345,3	2,3	0,0	3,9	0,0	31,7	1,2	1,0
phổi bình thường 1	1,7	0,0	5,7	8,2	85,9	33,1	11,4	0,4	3,4	0,0	13,8	0,1	11,4
phổi bình thường 2	17,0	0,1	8,8	24,0	81,5	54,0	62,8	5,3	4,6	0,4	23,2	2,4	43,0
phổi bình thường 3	26,9	0,2	41,6	146,0	25,6	239,3	91,7	0,8	1,8	1,3	11,9	8,1	40,2
phổi bình thường 4	0,2	0,0	6,0	11,8	81,5	40,4	15,8	0,0	1,2	0,0	11,4	0,3	14,1
Buồng trứng bình thường	0,3	0,0	5,1	7,8	250,9	44,1	5,1	0,6	125,5	0,2	8,5	0,7	0,4

FIG. 6A

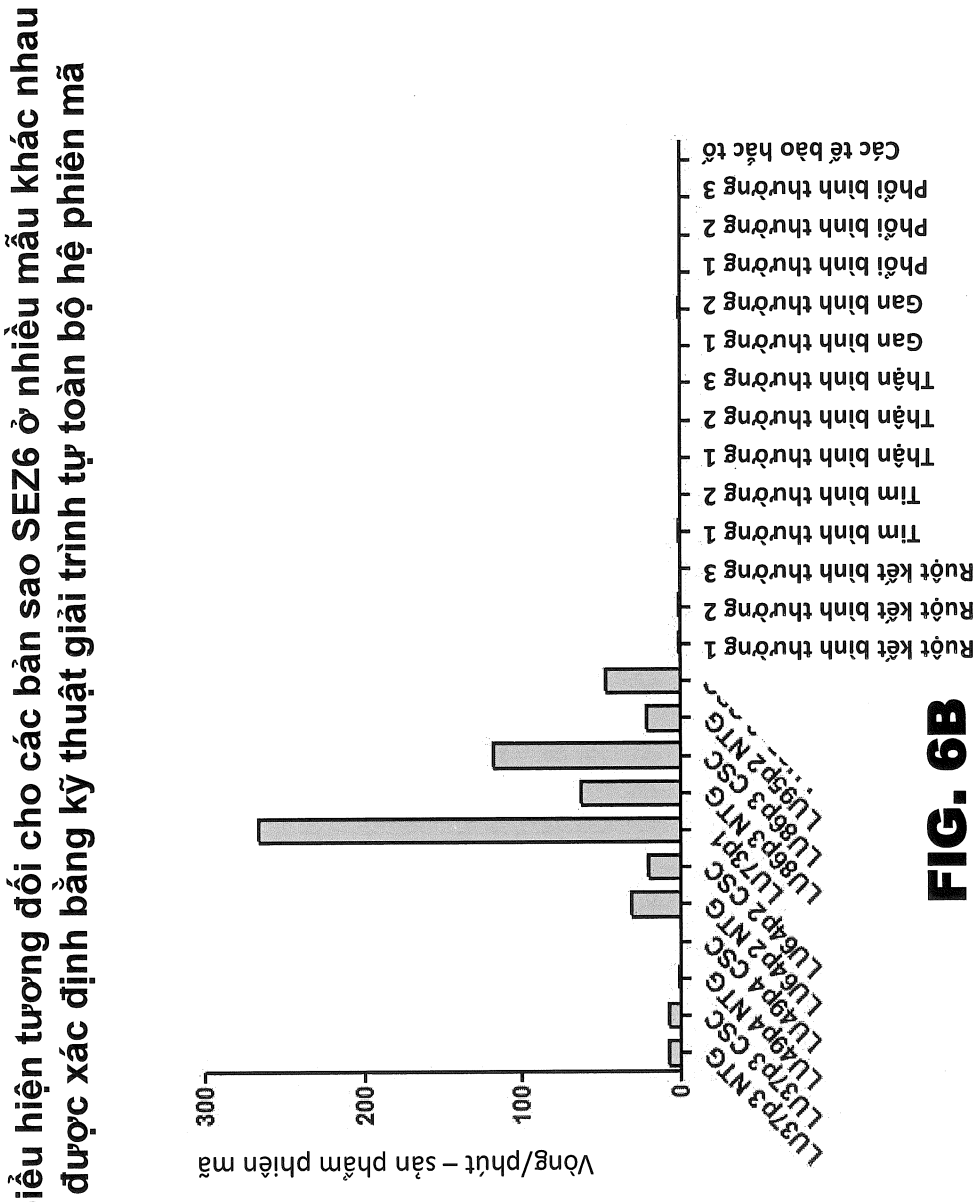

Trị số biểu hiện tương đối cho các bản sao SEZ6 ở nhiều mẫu khác nhau như được xác định bằng kỹ thuật giải trình tự toàn bộ hệ phiên mã
Vong/phút – sản phẩm phiên mã
300
200
100
0
LU37P3 NTG
LU37P3 CSC
LU49P4 NTG
LU49P4 CSC
LU64P2 NTG
LU64P2 CSC
LU73P1 CSC
LU86P3 NTG
LU86P3 CSC
Ruột kết bình thường 1
Ruột kết bình thường 2
Ruột kết bình thường 3
Tim bình thường 1
Tim bình thường 2
Thận bình thường 1
Thận bình thường 2
Thận bình thường 3
Gan bình thường 1
Gan bình thường 2
Phổi bình thường 1
Phổi bình thường 2
Phổi bình thường 3
Các tế bào hắc tố

FIG. 6B

Dữ liệu vi chuỗi phản ứng thể hiện các cụm khối u có các đặc điểm u thần kinh nội tiết

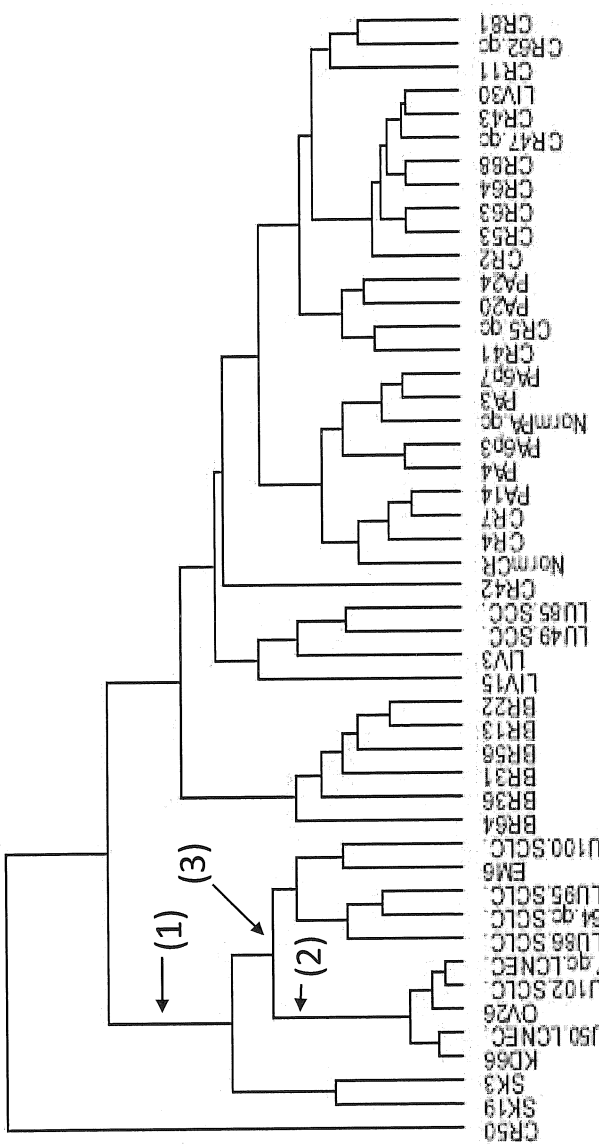


FIG. 7A

Trị số cường độ chuẩn hóa trung bình cho chất đánh dấu phổ biến kiểu hình thần kinh nội tiết

			cụm C					cụm D			cụm E		cụm G	
	Ký hiệu gen	Trung bình (48 mẫu)	KD66	LU50(LCNEC)	OV26	LU102(SCLC)	LU37-qc(LCNEC)	LU86(SCLC)	LU64-qc(SCLC)	LU95(SCLC)	EM6	LU100(SCLC)	LU49(SCC)	LU85(SCC)
Thể tương đồng phức hợp Achaete-scute 1	ASCL1	9	6589	8238	9382	12169	9664	11	3390	10298	14	261	8	5
Canxitonin	CALCA	73	16138	8352	10035	14633	14547	70	24	2477	53	45	52	39
CGRP	CALCB	143	2534	1147	1547	2584	2757	13189	433	1264	309	135	65	81
CD117, thụ thể kit	KIT	343	5978	4907	3561	6416	6254	12760	11215	15187	712	948	34	301
Chromogranin A	CHGA	53	6167	8902	12848	8206	7408	7950	19869	35715	9726	4378	1249	2364
Chromogranin B	CHGB	22	1615	2152	1516	1456	1242	2365	1362	4151	4656	1833	32	24
Dopa decaroxylaza	DDC	2441	21606	24512	23595	31824	25707	1498	4234	9297	85	334	134	286
Gamma (Neural) Enolaza	ENO2	1910	2054	1881	1911	1573	1262	4043	4737	11120	6394	1824	2472	2241
Thụ thể alpha 1 thuộc họ GDNF	GFRA1	9	263	29	37	146	133	90	4	6	77	47	9	4
CD56	NCAM1	82	551	875	801	999	727	2618	2519	3296	361	2899	425	106
PGP9,5	UCHL1	415	16415	13168	12862	24212	19977	13414	9749	25738	7789	4249	122	8251
Proopiomelanocortin	POMC	94	751	427	590	750	657	66	560	5204	68	84	213	160
Somatostatin	SST	67	27000	1316	19913	5869	12189	35	9	62	1992	3613	90	28T
Thụ thể Somatostatin 5	SSTR5	613	733	906	875	636	633	907	344	622	916	662	918	401
Synaptophysin	SYP	19	15	15	9	17	15	27	53	91	49	19	11	19
TTF1	NKX2-1	18	3137	3508	2734	5180	3315	1258	3585	2229	27	311	85	8

FIG. 7B

Trị số cường độ được chuẩn hóa trung bình cho các gen được chọn trong đường Notch và ASCL1

		Cụm C					Cụm D			Cụm G	
	Trung bình (48 mẫu)	KD66	LU50(LCNEC)	OV26	LU102(SCLC)	LU37(LCNEC)	LU86(SCLC)	LU64(SCLC)	LU95(SCLC)	LU49(SCC)	LU85(SCC)
ASCL1	9	6589	8238	9382	12169	9664	11	3390	10298	8	5
DLL1	51	348	565	406	497	179	218	98	514	29	120
DLL3	350	4584	3985	6232	5884	5233	1686	3137	5814	601	492
DLL4	614	601	445	592	301	280	763	198	673	357	469
HES1	670	128	129	160	92	82	551	137	335	2665	2024
HES6	117	196	361	481	416	279	5456	2716	3535	28	33
HEY1	89	86	101	116	103	77	1660	680	2502	3776	231
HEYL	87	157	132	128	148	132	2645	102	267	333	80
JAG1	630	159	114	110	95	111	743	521	311	9131	678
JAG2	125	335	529	398	420	247	324	513	611	159	153
NOTCH1	666	34	23	41	17	14	1039	381	202	4720	438
NOTCH2	26	6	11	12	16	12	105	11	1	37	5
NOTCH3	101	13	27	91	81	72	302	37	136	1474	322
NOTCH4	14	6	7	13	9	5	14	15	69	14	7
RBPJ	1289	1891	2255	1933	2717	2278	4502	2678	5167	1226	1029

FIG. 7C

Biểu hiện ARN thông tin HES6 ở các khối u thần kinh nội tiết thu được bằng qRT-PCR

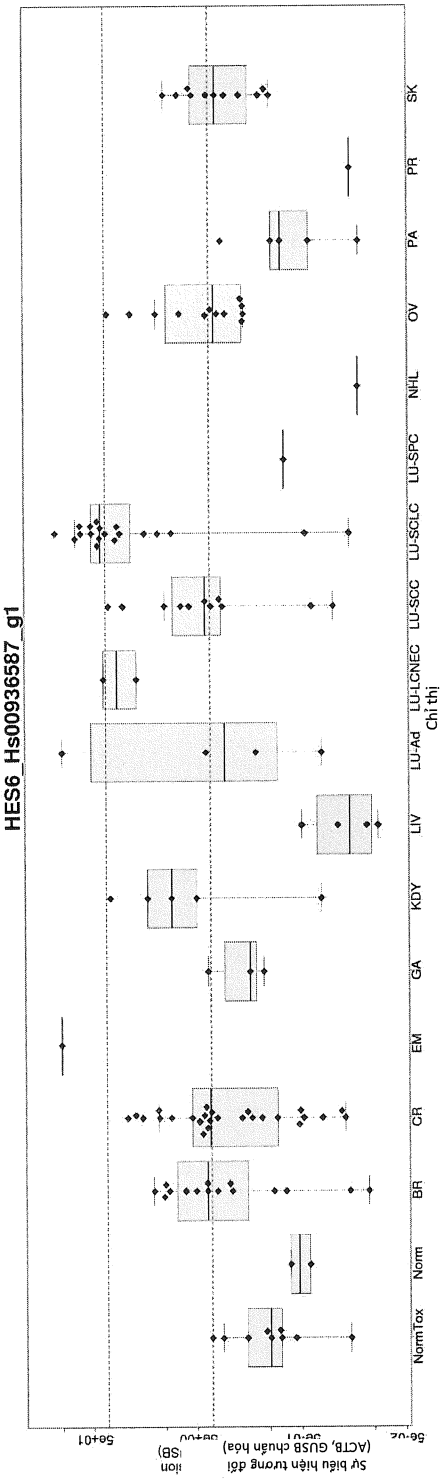


FIG. 7D

Mức độ liên quan đến các kiểu hình thần kinh của các gen được chọn

			cụm C					cụm D			cụm E		cụm G	
	Ký hiệu gen	Trung bình (48 mẫu)	KD66	LU50 (LCNEC)	OV26	LU102 (SCLC)	LU37 (LCNEC)	LU86 (SCLC)	LU64 (SCLC)	LU95 (SCLC)	EM6	LU100 (SCLC)	LU49 (SCC)	LU85 (SCC)
thể tương đồng 1 của phức hợp achaete-scute	ASCL1	9	6589	8238	9382	12169	9664	11	3390	10298	14	261	8	5
Protein liên kết X biểu hiện ở não1	BEX1	62	2393	4403	5349	5987	3653	10549	15134	21994	14246	81	764	50
Protein liên kết X biểu hiện ở não3	NGFRAP1	8484	3367	4346	5975	10692	5222	21096	28966	45936	23887	21665	25401	17685
Protein liên kết X biểu hiện ở não4	BEX4	36	8	8	36	14	6	2108	3743	6528	2113	197	511	406
CD56	NCAM1	82	551	875	801	999	727	2618	2519	3296	361	2899	425	106
Claudin 11	CLDN11	7	670	739	2374	5820	3373	548	126	213	14	108	18	3
xytokeratin 10	KRT10	2624	3096	2503	2855	5373	5057	2731	1642	4621	3756	1026	12186	2310
xytokeratin 17	KRT17	5858	5436	7664	9874	11215	8933	2600	3701	5971	63	304	5283	5662
xytokeratin 19	KRT19	19604	2081	2432	3214	2435	2532	445	317	7074	877	816	2060	26391
xytokeratin 7	KRT7	123	249	348	396	515	312	23	9	333	12	54	18	600
Delta-giống 1	DLL1	51	348	565	406	497	179	218	98	514	146	162	29	120
Delta-giống 3	DLL3	350	4584	3985	6232	5884	5233	1686	3137	5814	758	676	601	492
Tóc và gen tăng cường tách 1	HES1	670	128	129	160	92	82	551	137	335	118	528	2665	2024
Tóc và gen tăng cường tách 6	HES6	117	196	361	481	416	279	5456	2716	3535	1634	694	28	33
Islet 1	ISL1	48	18	23	22	33	16	1807	40056	37811	121	672	34	26
LIM homeobox 1	LHX2	21	9	12	29	8	1	6849	6671	10091	6243	1663	161	29
sự biệt hóa thần kinh1	NEUROD1	8	44	11	35	62	91	331	135	799	4917	1475	6	2
sự biệt hóa thần kinh2	NEUROD2	59	49	40	52	32	25	808	231	416	3019	450	61	65
phân tử bám dính tế bào thần kinh	NRCAM	66	721	797	870	1156	1409	3981	4359	4579	1311	1619	5191	659
NK2 homeobox 2	NKX2-2	7	4	7	7	10	4	9725	206	1168	63	201	0	247
Rhombotin-3	LMO3	145	6875	13564	7101	6912	6886	45	2252	27415	182	9992	72	271
Secretagogin	SCGN	77	1950	2620	2468	1701	3052	1164	9356	32767	147	935	42	20
Secretogranin II	SCG2	23	445	299	423	1122	1265	37	693	4085	1002	3050	108	51
Secretogranin III	SCG3	26	1552	1961	1723	1870	1892	2331	3164	10139	5925	3721	54	19
Semaphorin 4C	SEMA4C	1647	941	651	781	1123	742	9648	5452	6341	2769	3426	5124	957
Semaphorin 6C	SEMA6C	118	323	318	279	241	220	1313	1859	619	512	432	1106	107
thể tương đồng 6 liên quan đến chứng co giật	SEZ6	60	153	143	135	75	86	1087	435	2324	135	690	51	61
Giống thể tương đồng 6 liên quan đến chứng co giật	SEZ6L	113	43	25	53	42	26	48	64	116	108	114	18	119
Giống thể tương đồng 6 liên quan đến chứng co giật 2	SEZ6L2	1464	1136	1667	1852	1336	1089	2317	3026	5631	3793	4933	1491	3247
SRY (vùng quyết định giới tínhY)-box 11	SOX11	13	426	360	361	597	768	3754	6124	981	10	1880	11	17
SRY (vùng quyết định giới tínhY)-box 2	SOX2	8	171	175	270	396	312	2816	74	3267	0	2937	1376	348
SRY (vùng quyết định giới tínhY)-box 4	SOX4	5404	5693	5641	4070	3872	5240	12537	30389	36920	19178	13442	6451	1367
protein liên quan đến synaptosome, 25kDa	SNAP25	10	1037	1040	1027	1108	1040	1112	921	565	618	1612	37	27
Synaptotagmin IV	SYT4	26	1418	1237	2115	3958	3076	1150	1061	11120	2775	2488	11	10
TTF-1	NKX2-1	18	3137	3508	2734	5180	3315	1258	3585	2229	27	311	85	8
Thành viên 2 thuộc họ Zic	ZIC2	163	25	18	29	10	5	7683	5555	2940	697	279	93	227

FIG. 7E

Trị số cường độ được chuẩn hóa trung bình đối với cho SEZ6 thu được bằng phân tích vi chuỗi phản ứng

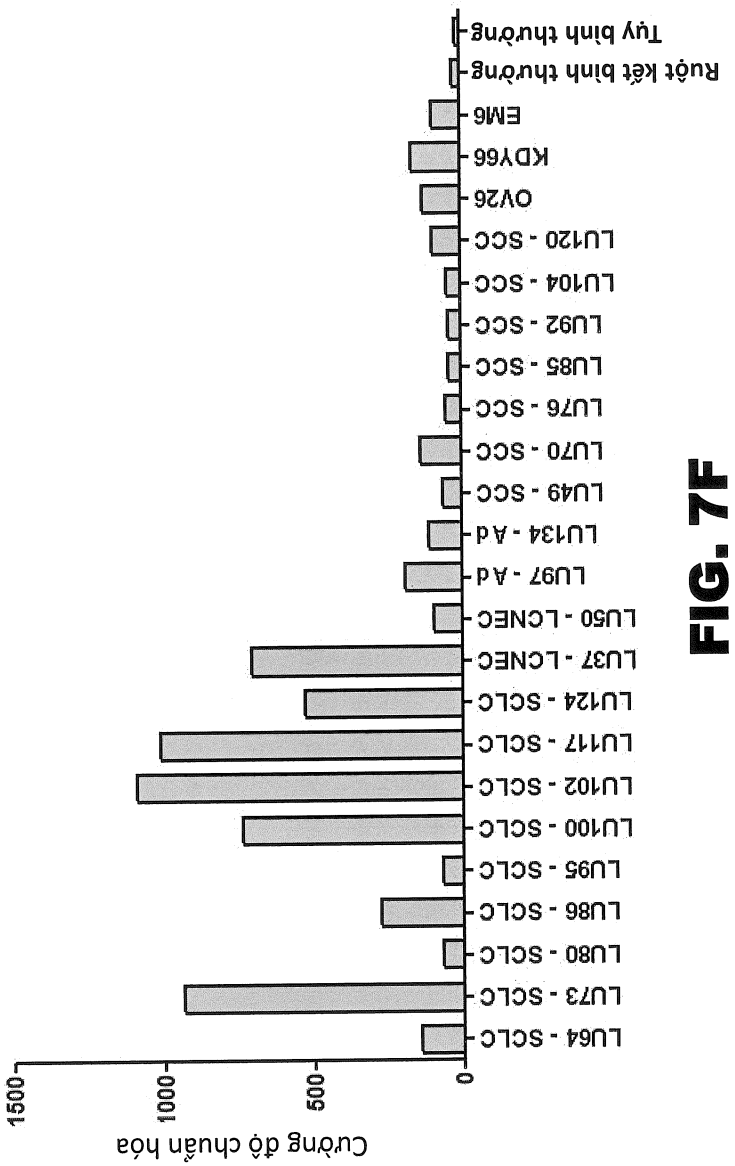


FIG. 7F

Biểu hiện sản phẩm phiên mã ARN thông tin của SEZ6 ở các dòng u NTX thần kinh nội tiết được xác định bằng qRT-PCR

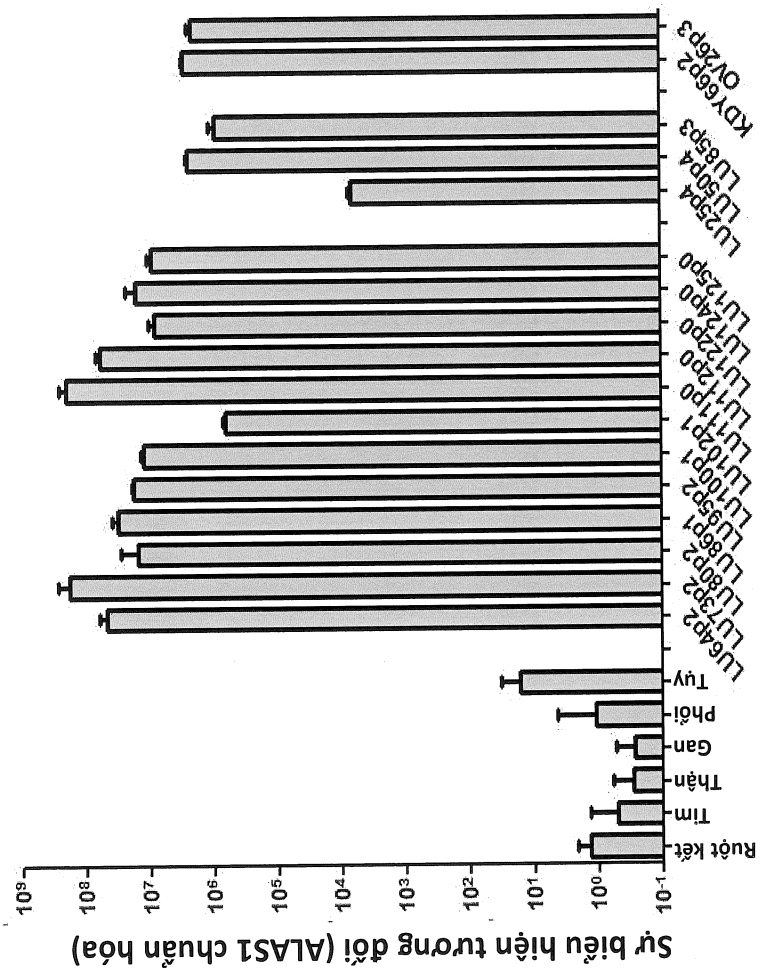


FIG. 8A

Biểu hiện sản phẩm phiên mã ARN thông tin của SEZ6 ở các dòng u NTX được xác định bằng qRT-PCR

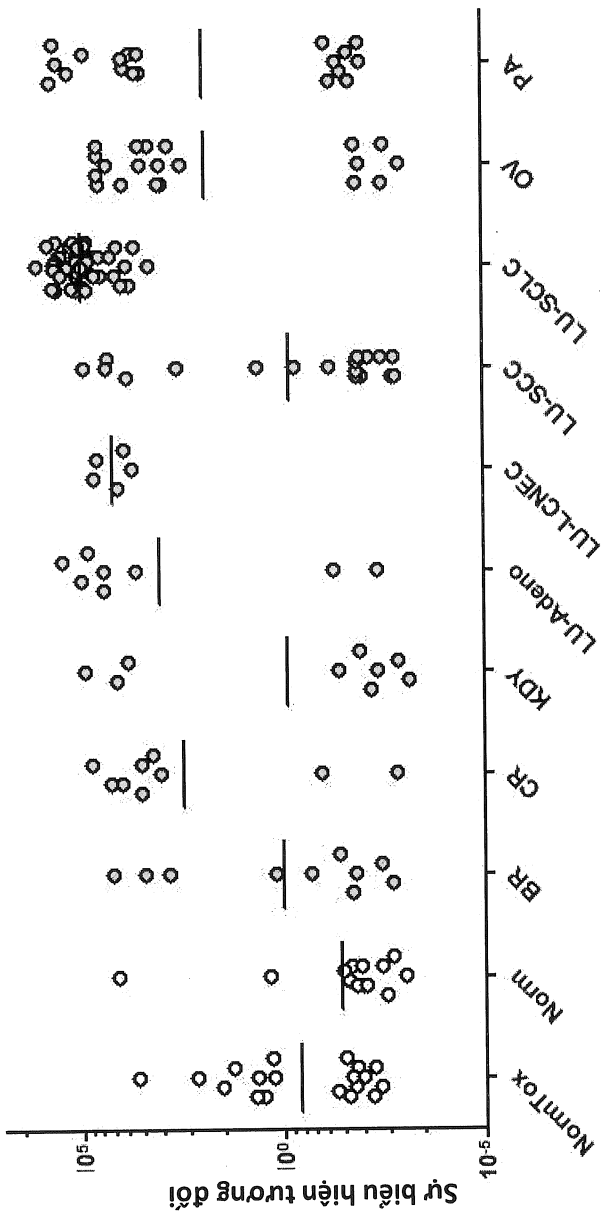


FIG. 8B

Sự biểu hiện ARN thông tin của SEZ6 tuyệt đối và được chuẩn hóa ở nhiều mẫu u nguyên vẹn khác nhau bằng cách sử dụng qRT-PCR

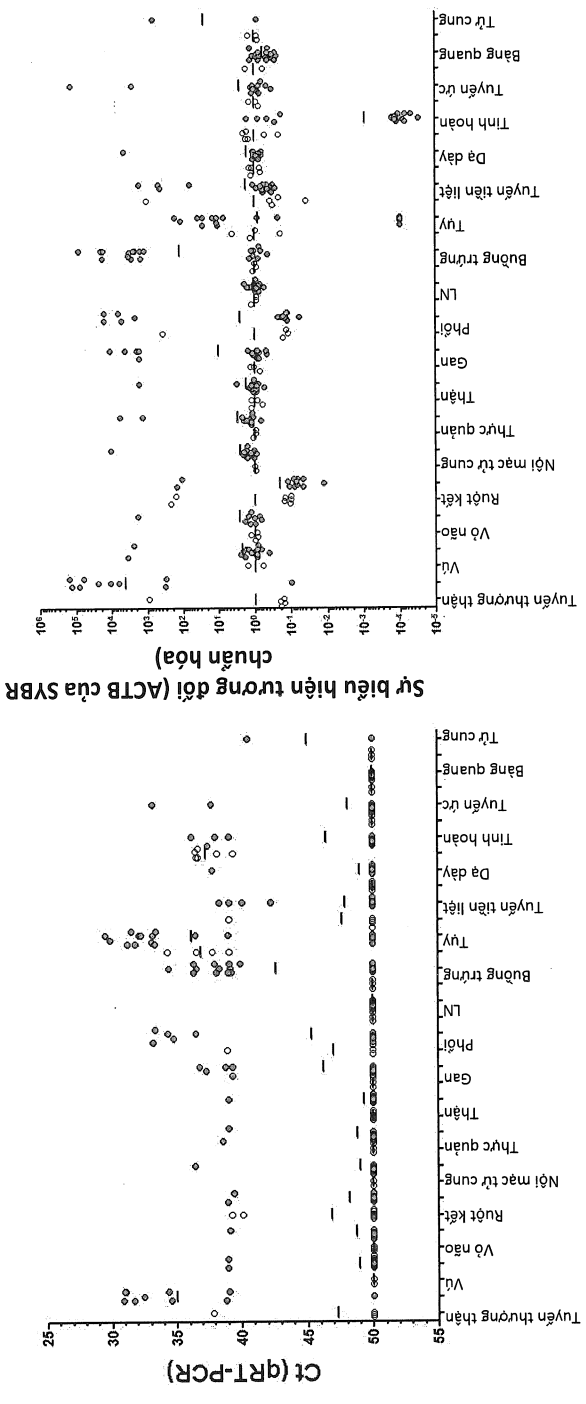


FIG. 9B

FIG. 9A

Trình tự protein của vùng biến đổi chuỗi nặng điều biến SEZ6 của chuột làm ví dụ

mAb	FW1	CDRL1	FW2	CDRL2	FW3	CDRL3	SEQ ID NO.
SC17.1	QIVLTQSPALMSASPGEKVSLTC	SANSTVSF	MYWYQQKPRSSPTPWIY	LTSNLAS	GVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYC	QQWSSNSPITFGAGTKLELK	20
SC17.2	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSC	KSSQSLLYSSNQKSY	LAWYQQKPGQSPKLLIY	WASTRES	GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYC	KQSYNLRTFGGGTKLEIK	22
SC17.9	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSC	KSSQSLLYSSNQKNY	LAWYQQKPGQSPKLLIY	WASTRES	GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVKAEDLAVYFC	QQYYNYPYTFGGGTKLK	24
SC17.16	DIQMTQSPASLSVSVGETVTITC	RASANINSN	LVWYQQKQGKSPQLLVY	AATNLAD	GVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDFGNYYC	QHFWGTPRTFGGGTKLEIK	26
SC17.38	DIVVTQSPASLAVSLGQRATISC	RASESVEYYGTSL	MQWFQQKPGQPPKLLIY	AASNVES	GVPARFSGSGSGTDFSLNIHPVEEDDIAMYFC	QQDRKVPWTFGGGTKLEIK	28
SC17.3	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSC	KSSQSLLYSSNQKNY	LAWYQQKPGQSPKLLIY	WASTRES	GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVKAEDLAVYYC	QQYYSYPTFGGGTKLEIK	30
SC17.4	DIKMTQSPSSMYASLGERVTITC	KASQDINSY	LTWFQQKPGKSPKTLIY	RANRLID	GVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLDYEDMGIYYC	LQYDDFPWTFGGGTKLEIK	32
SC17.8	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISC	RSSQSLVHSNGDTY	LHWYLQKPGQSPKLLIY	KVSNRFS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGLYFC	SQSTLIPYTFGGGTKLDIKR	34
SC17.10	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSC	KSSQSLLYSSNQKNY	LAWYQQKPGQSPKLLIY	WASTRES	GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVKTEDLALYYC	QQYYWFPYTFGGGTKLEIK	36
SC17.11	ENVLTQSPAIMSASPGEKVTMTC	RASSSVSSSY	LHWYQQKSGASPKLWIY	STSNLAS	GVPARFSGSGSGTSYSLTISSVEAEDAATYYC	QQYSDYPFTFGSGTKLVIK	38
SC17.14	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISC	RSSQSIVHSNGNTY	LEWFLQKPGQSPKLLIY	KVSNRFS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYC	FQGSHVPYTFGGGTKLEIKR	40
SC17.15	QIVLTQSPALMSASPGEKVTMTC	SASSSVNY	MYWYQQKPRSSPKPWIY	LTSNLAS	GVPVRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYC	QQWSNNPPTFGSGTKLELK	42
SC17.17	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTC	SASSSVSY	MHWYQQKSGTSPKRWIY	DTSKLPS	GVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYC	QQWSSTPPTFGAGTKLELK	44
SC17.18	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITC	KASDHINNW	LAWYQQKPGNAPRLLIS	GATSLET	GVPSRFSGSGSGKDYTLSITSLQTEDVATYYC	QQYWSIPLTFGAGTKLELK	46
SC17.19	DIVLTQSPASLAVSLGQRAAISC	KPSQSVDYDGDSY	MNWYQQKPGQPPKLLIY	AASNLES	GIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC	HQINDDPWTFGGGTKLK	48
SC17.22	DVVLTQTPLSLPVSLGDQASISC	RSSQSIVHINRHTY	LGWYLQKPGQSLKLLIY	GVSNRFS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDMGVYYC	FQGTHVPFTFGSGTKLEIK	50
SC17.24	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSC	KSSQSLLYSSNQKSY	LAWYQQKPGQSPKLLIY	WASTRES	GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYC	KQSYNLRTFGGGTKLEIK	52
SC17.27	DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISCK	SSQSLLESDGKTY	LNWLLQRPGQSPKRLIY	LVSKLDS	GVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYC	WQGIQHPRTFGGGTKLEIK	54
SC17.28	DILLTQSPAILSVSPGEGVSFSC	RASQSIGTS	IHWYQQRTNGSPRLLIK	YASESIS	GIPSRFSGSGSGTDFTLRINSLESEDIADYYC	QQSNSWPLTFGAGTKLELK	56
SC17.29	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITC	KASQDVGTD	VAWYQQKPGQSPKLLIY	WASTRHT	GVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVQSEDLADYFC	QQYSSYPYTFGGGTKLEIKR	58
SC17.30	ENVLTQSPAIVSASPGEKVTMTC	RASSSVISSY	LHWYQQKSGASPKLWIY	STSNLAS	GVPARFSGSASGTSYSLTISSVEAEDAATYYC	QQYSGYPLTFGAGTKLELK	60

FIG. 10A

Trình tự protein của vùng biến đổi chuỗi nặng điều biến SEZ6 của chuột làm ví dụ

mAb	FW1	CDRL1	FW2	CDRL2	FW3	CDRL3	SEQ ID NO.
SC17.32	DIQMTQSPASLSASVGETVTMTC	RASGNIHNY	LVWYQQKQGKSPQLLVY	NAKTLAD	GVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQPEDFGSYYC	QHFWSTPPTFGGGTKLEIK	62
SC17.34	DIKMTQSPSSMYASLGERVTITC	KASQDINSY	LSWFQQKPGKSPKTLIY	RANRLVD	GVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLEYEDMGIYYC	LQYDEFPPTFGGGTKLEIK	64
SC17.35	ENVLTQSPAIMSASPGEKVTLTC	RASSSMSSSY	LHWYQQKSGASPKLWIY	STSNLAS	GVPARFSGSGSGTSYSLTISSVEAEDAATYYC	QQYSAYPFTFGSGTKLEIK	66
SC17.36	QIVLTQSPALMSASPGEKVTMTC	SASSSVSY	MYWYQQKPRSSPKPWIY	LTSNLAS	GVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYC	QQWSSNPPTFGGGTKLEIKR	68
SC17.39	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISC	RSSQSLVHRNGNTY	FHWYLQKPGQSPKLLIY	KVSNRFS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFC	SQSTYVPWTFGGGTKLEIK	70
SC17.40	DVVMTQTPLSRPVTLGDQASISC	RSSQSLVHSNGNTY	LHWYLQKPGQSPKLLIY	KVSNRFS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFC	SQNTHVPFTFGSGTKLEIK	72
SC17.41	QIVLTQSPALMSASPGEKVTMTC	SASSSVSY	MYWYQQKPRSSPKPWIY	LTSNLAS	GVPTRFSGSGSGTSYSLTISSMGAEDAATYYC	QQWNTNPPTFGAGTKLELK	74
SC17.42	ENVLTQSPAIMSASPGEKVTMTC	SASSSVNY	MYWYQQKSSTSPKLWIY	DTSKLTS	GVPGRFSGSGSGNSYSLTISNMEAEDVATYYC	FQGSGYPLTFGSGTKLEIK	76
SC17.45	ENVLTQSPAIMSASPGEKVTMTC	SASSSVNY	MYWYQQKSSTSPKLWIY	DTSKLT	GVPGRFSGSGSGNSYSLTISNMEAEDVATYYC	FQGSGYPLTFGSGTKLEIK	78
SC17.46	SFVMTQTPKFLLVSAGDRVTITC	KASQSVNND	VAWYQQKPGQSPKLLIY	YASNRYT	GVPDRFTGSGYGTDFTFTISTVQAEDLAVYFC	QQDYSSPRTFGGGTKLEIK	80
SC17.47	QIVLTQSPAIMSASPGEKVSMTC	SASSSVSY	MHWYQQKSGTSPKRWIY	DTSKLAS	GVPARFSGSGSGSSYSLTISSMEAEDAATYYC	QQWSSTPPTFGGGTKLEIKR	82
SC17.49	DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISC	KSSQSLLESDGKTY	LNWLLQRPGQSPKRLIY	LVSKLDS	GVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYC	WQGIQHPRTFGGGTKLEIK	84
SC17.50	DIVLTQSPASLAASLGQRATISC	RASQSVSTSSYSY	MHWYQQKPGQPPKLLIK	YASNLES	GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYC	QHSWEIPWTFGGGTKLEIK	86
SC17.53	DIVLTQSPASLAASLGQRATISC	RASQSVSTSSYSY	MHWYQQKPGHPPKLLIR	YASNLES	GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYC	QHSWEIPYTFGGGTKLEIKR	88
SC17.54	DVVLTQTPLTLSVTIGQPASISC	KSSQSLLYSDGKTY	LNWLLQRPGQSPKRLIY	LVSKLDS	GVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGLYYC	WQGTHFPWTFGGGTKLEIK	90
SC17.56	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSC	KSSQSLLYSSNQKNY	LAWYQQKPGQSPKLLIY	WASTRES	GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVKAEDLAVYFC	QQYYNYPYTFGGGTKLEIKR	92
SC17.57	QIVLTQSPAIMSASLGERVTMTC	TASSSVSSSY	LHWYQQKPGSSPKLWIY	STSNLAS	GVPPRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYC	HQYHRSPPTFGGGTKLEIK	94
SC17.59	DIQMTQSPASLSASVGETVTITC	RASGNLHNY	LAWYQQKQGKSPQLLVY	NAKTLAD	GVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQPEDFGTYFC	QHFWSIPPTFGGGTKLEIKR	96
SC17.61	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTISC	SASSSVSY	IYWYQQKPGSSPKPWIY	RTSNLAS	GVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYC	QQYHSYPWTFGGGTKLEIK	98
SC17.63	SIVMTQTPKFLLVSAGDRVAITC	KASQSVSND	VAWYQQKPGQSPTLLISY	ASNRYT	GVPDRFTGSGYGTDFTFTISTVQAEDLAVYFC	QQGYSSPFTFGGGTKLEIKR	100

FIG. 10A (tiếp theo)

Trình tự protein của vùng biến đổi chuỗi nặng điều biến SEZ6 của chuột làm ví dụ

mAb	FW1	CDRL1	FW2	CDRL2	FW3	CDRL3	SEQ ID NO.
SC17.71	DIQMTQSPASLSASVGETVTIAC	RASGNIHNY	LTWYQQRQGKSPQLLVY	NAKTLAV	GVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQPEDFGSYYC	QHFWNTPPTFGGGTKLEIK	102
SC17.72	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISC	SASQGISNY	LNWYQQKPDGTVKLLIY	YTSSLHS	GVPSKFSGSGSGTDYSLTISNLEPEDIATYYC	QQYSKLPYTFGGGTKLEIKR	104
SC17.74	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTITC	KASDHINNW	LAWYQQKPGNAPRLLIS	GATSLET	GVPSRFSGSGSGKDYTLSITSLQTEDVATYYC	QQYWSTPPTFGAGTKLELK	106
SC17.76	DIVITQDELSNPVTSGESVSISC	RSSKSLLYKDGKTY	LNWFLQRPGQSPQLLIY	LMSTRAS	GVSDRFSGSGSGTDFTLEISRVKAEDVGVYYC	QQLVEYPRTFGGGTKLEIK	108
SC17.77	DIQMTQSPASLSASVGETVTITC	RASGNIHNY	LAWYQQKQGKSPQLLVY	NAKALAD	GVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQPEDFGSYYC	QHFWSIPPTFGGGTKLEIK	110
SC17.79	DIQMTQSPASLSASVGETVTITC	RASGNIHNY	LAWYQQKQGKSPQLLVY	NAKTLAD	GVPSRFSGSGSGTQYSLRINSLQPEDFGSYYC	QHFWSTPPTFGGGTKVEIK	112
SC17.81	DIVMSQSPSSLTVSVGEKVTLSC	KSSQSLLYSTNQKIY	LAWYQQKPGQSPKLLIY	WASTRES	GVPDRFTGSGSGTDFTLAISNVKAEDLAVYYC	QQYYSYPYTFGGGTKLEIKR	114
SC17.82	QIVLTQSPAIMSASLGEEITLTC	SASSSVSY	MHWYQQKSGTSPKLLIY	STSNLAS	GVPSRFSGSGSGTFYSLTISSVEAEDAADYYC	HQWSSFTFGSGTKLEIK	116
SC17.84	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTC	SASSSISY	MHWYQQKSGTSPKRWIY	DTSKLAS	GVPARFSGSGSGTSYSLTISNMEAEDAATYYC	QQWSSTPPTFGGGTKLEIKR	118
SC17.85	DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISC	RSSKSLLHSNGITY	LYWYLQKPGQSPQLLIY	QMSNLAS	GVPERFSSSGSGSDFTLRISRVEAEDVGVYYC	AQNLEHPTFGGGTKLEIK	120
SC17.87	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISC	RSSQSLVHSNGNTY	LHWYLQKPGQSPKLLIS	KVSNRFS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFC	SQSTHVPPMFGGGTRLEIK	122
SC17.89	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISC	RSSQSIVHSNGNTY	LEWYLQKPGQSPKLLIY	KVSNRFS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYC	FQGSHVPFTFGSGTKLEIK	124
SC17.90	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSC	KSSQSLLYSSNQKNY	LAWYQQKPGQSPKLLIY	WASTRKS	GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVKAEDLAVYYC	HQYYSYPLTFAAGTKLELK	126
SC17.91	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISC	RSSQSLVHSNGNTY	LLWYLQKPGQSPKLLIY	KVSNRFS	GVPDRFSGSGSGTDFALKISRVEAEDLGVYFC	SQSTHVPWTFGGGTKLEIK	128
SC17.93	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMTC	KSSQSLLYSSNQKNY	LAWYQQKPGQSPKLLIY	WASTRES	GVPDRFIGSGSGTDFTLTISSVKAEDLAIYYC	QQYYRYPLTFGAGTKLELK	130
SC17.95	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISC	SASQGINNY	LNWYQQKPDGTVTLLIY	YTSSLHS	GVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEPEDIATYYC	QQYSKLPWTFGGGTKLEIK	132
SC17.97	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISC	RSSQSLVHNNGNTY	LHWYLQKPGQSPNLLIY	KVSNRFS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISIVEAEDLGLYFC	SQSTHVPRTFGGGTKLEIK	134
SC17.99	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMNC	ESSQSLLYSSNQKNY	LAWYQQKPGQSPKLLIY	WASTRDS	GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVRAEDPAVYYC	QQYYSYPLTFGAGTKLELK	136
SC17.102	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTC	SASSSVSY	MHWYQQKSGTSPKRWIY	DTSKLAS	GVPPRFSGRGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYC	QHWSSNPPTFGAGTKLEMK	138

FIG. 10A (tiếp theo)

Trình tự protein của vùng biến đổi chuỗi nặng điều biến SEZ6 của chuột làm ví dụ

mAb	FW1	CDRL1	FW2	CDRL2	FW3	CDRL3	SEQ ID NO.
SC17.114	DVVMTQSPLSLPVSLGDQASISC	RSSQSLVHSNGNTY	LHWYLQKPGQSPKLLIY	KVSSRFS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFC	SQSTHVPFTFGSGTKLEIK	140
SC17.115	DIVMTQSPLSLPVSLGDQASISC	RSSQSLVHSNGNTY	LHWYLQKPGQSPKLLIY	RVSNRFS	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDLGVYFC	SQSTHLPRTFGGGTKLEIK	142
SC17.120	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC	RASESVDSYGNSF	MHWYQQKPGQPPKVLIY	RASNLES	GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEDEDVATYYC	QQSNEDPYTFGGGTKLEIKR	144
SC17.121	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTC	SASSSVSY	MHWYQQKSGTSPKRWIY	DTSKLAS	GVPARFSGSGSGTSYSLTISSMETEDAATYYC	QQWSNTPPTFGSVTKLEIK	146
SC17.122	DIVITQDDLSNPVTSGESVSISC	RSSKSLLYKDGKTY	LNWFLQRPGQSPQLLIY	LMSTRAS	GVSDRFSGSGSGTDFTLEISRVKAEDVGVYYC	QQLVEYPRTFGGGTKLEIK	148
SC17.140	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTC	SASSSVSY	MHWYQQKSGTSPKRWIY	DTSKLAS	GVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYC	QQWSSTPPTFGSGTKLEIK	150
SC17.151	DIVLTQFPASLAVSLGQRATIPC	RASESVDSYGNSF	MHWFQQKPGQPPKLLIY	RASNLES	EIPARFSGSGSGTDFTLTINPVEADDVATYYC	QQSHEDPYTFGGGTKMEIKR	152
SC17.156	DVVMTQSPLSLPVSLGDQASISC	RSSQSIVHSNGNTY	LEWYLQKPGQSPKLLIY	KVSNRFS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYC	FQGSHVPPTFGGGTKLEIK	154
SC17.161	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMNC	ESSQSLLYNSNQKNY	LAWYQQKPGQSPKLLIY	WASTRDS	GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVRADDPAVYYC	QQYFNYPLTFGAGTKLELK	156
SC17.166	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTC	SASSSISY	MHWYQQKSGTSPKRWIY	DTSKLAS	GVPARFSGSGSGTSYSLTISNMEAEDAATYYC	QQWSSTPPTFGGGTKLEIKR	158
SC17.187	DIKMTQSPSSMYASLGERVTLTC	KASQDINSY	LSWFQQKPGKSPETLIY	RANRLID	GVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLEYEDMGIYYC	LQYDEFPPTFGGGTKLEIK	160
SC17.191	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTC	SASSSVSY	MHWYQQKSGTSPKRWIY	DTSKLAS	GVPARFTGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYC	QQWSSSPPTFGAGTKLELK	162
SC17.193	DLVLTQSPASLAVSLGQRATISC	RASESVSTSGYSY	MHWYQQKPGQPPKLLIY	LASNLES	GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDATTYYC	QHSRELPYTFGGGTKLEIKR	164
SC17.199	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC	RASESVDSYGNSF	MHWYQQKPGQPPKPLIY	RASNLES	GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYC	QQSNEDPYTFGGGTKLEIKR	166
SC17.200	DIVLTQSPASLAVSLGQRATIFC	RASQSVDYNGISY	MHWFQQKPGQPPKLLIY	AASNVQS	GIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATFYC	QQSIEDPPTFGGGTKLEIK	168

FIG. 10A (tiếp theo)

Trình tự protein của vùng biến đổi chuỗi nặng điều biến SEZ6 của chuột làm ví dụ

mAb	FW1	CDRL1	FW2	CDRL2	FW3	CDRL3	SEQ ID NO.
hSC17.16	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR	ASANINSN	LVWYQQKPGKAPKLLIY	AATNLAD	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC	QHFWGTPRTFGGGTKLEIK	170
hSC17.17	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC	SASSSVSY	MHWYQQKPGQAPRLLIY	DTSKLPS	GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC	QQWSSTPPTFGQGTKLEIK	172
hSc17.24	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC	KSSQSLLYSSNQKSY	LAWYQQKPGQPPKLLIY	WASTRES	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC	KQSYNLRTFGGGTKVEIKR	174
hSC17.28	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC	RASQSIGTS	IHWYQQKPDQSPKLLIK	YASESIS	GVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYC	QQSNSWPLTFGQGTKLEIK	176
hSC17.34	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	KASQDINSY	LSWFQQKPGKAPKSLIY	RANRLVD	GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC	LQYDEFPPTFGQGTKLEIK	178
hSC17.46	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	KASQSVNND	VAWYQQKPGKAPKLLIY	YASNRYT	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFC	QQDYSSPRTFGQGTKLEIK	180
hSC17.151	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC	RASESVDSYGNSF	MHWYQQKPGQAPRLLIY	RASNLES	GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC	QQSHEDPYTFGQGTKLEIK	182
hSC17.155	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC	KSSQSLLYSSNQKNY	LAWYQQKPGQPPKLLIY	WASTRKS	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC	HQYYSYPLTFGQGTKLEIK	184
hSC17.156	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISC	RSSQSIVHSNGNTY	LEWYLQKPGQSPQLLIY	KVSNRFS	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYY	CFQGSHVPPTFGGGTKLEIK	186
hSC17.161	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC	ESSQSLLYNSNQKNY	LAWYQQKPGQPPKLLIY	WASTRES	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC	QQYFNYPLTFGQGTKLEIKR	188
hSC17.200	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC	RASQSVDYNGISY	MHWYQQKPGQAPRLLIY	AASNVQS	GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC	QQSIEDPPTFGGGTKVEIK	190
hSC17.200vL1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC	RASQSVDYDGISY	MHWYQQKPGQAPRLLIY	AASNVQS	GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC	QQSIEDPPTFGGGTKVEIK	192

FIG. 10A (tiếp theo)

Trình tự protein của vùng biến đổi chuỗi nặng điều biến SEZ6 của chuột làm ví dụ

mAb	FW1	CDRH1	FW2	CDRH2	FW3	CDRH3	SEQ ID NO.
SC17.1	SDVQLQDSGPGLVKPSQSLSVTCTVT	GYSITWGY	YWNWIRQFPGNKLEWMGN	IHNSGGTN	YNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYC	ATTNWDYFDYWGQGTTLTVSS	21
SC17.2	QVQLQQSDAELVKPGASVKISCKVS	GYTFTDHT	IHWMKQRPEQGLEWIGY	IYPRDGST	KYNEEFKGKATLTADKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYFC	ARSYSNYFDYWGQGTTLTVSS	23
SC17.9	QVQLQQPGAEIVRPGASVKLSCKAS	GYTFTDYW	MNWVKQRPGQGLEWIGA	IDPSDSYT	SYNPKFKGKATLTVDTSSSSAYMQLSSLTSEDSAVYFC	ARRGTPGKPLVYWGQGTLVTVSA	25
SC17.16	EVQLQQSGPELMKPGASVKMSCKAS	GYTFTDYN	MYWVKQNQGKSLEWIGE	INPNNGGT	AYNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYC	ARYDKGFDYWGQGTTLTVSS	27
SC17.38	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFS	GFSLNTSGMS	VGWVRQPSGRGLEWLAP	IWWNGDK	YYNPALKSRLTISKDTSNNQVFLKIASVVTADTATYFC	ARIRQYYYAMDYWGQGTSVTVSS	29
SC17.3	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKAS	GYTFPSYW	IHCVKQRPGQGLEWIGV	INPSNGRT	NYNEKFKNKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC	VRGGTGYTMDYWGQGTSVTVSS	31
SC17.4	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKAS	GYTFTDYS	MHWVKQAPGKGLKWLGW	INTETGEP	TYSEDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFC	VKNKGWFAYWGQGTLVTVSA	33
SC17.8	QVHLQQSGTEVMKPGASVKISCKAT	GYTFSSYW	IEWIKQRPGHGLEWIGE	ILPGSGNT	NNNEKFKGKATITADTSSNIAYIQLSSLTSEDSAVYYC	AGGPAAYWGQGTLVTVSA	35
SC17.10	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTAS	GFNIKDTY	MHWVKQRPEQGLEWIGR	IDPANVNT	KYDPKFQGKATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYC	VRGNVYWGQGTLVTVSA	37
SC17.11	EVQLQQSGPELVKPGALVMMSCKAS	GYTFTDYY	MHWVKQSHGQSLEWIGEV	IPYNDET	FYNRKFKDKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAIYYC	ARRHRYDGFRYAIDYWGQGTSVTVSS	39
SC17.14	EVQLQQSGPVLVKPGASVKMSCKAS	GYTITDYN	MNWVKQSHGKSLEWIGV	INPYNGNT	RYNQMFKGKATLTVDKSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYC	TRWGTTVVGANWGQGTTLTVSS	41
SC17.15	DVKLVESGGGLVKLGGSLKLSCAAS	GFTFSSYA	MSWVRQTPEKRLEWVAT	ITSGGGNT	YYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMYYC	ARRDYYGSSYVMFAYWGQGTLVTVSA	43
SC17.17	EVQLQQSGPEVMKPGASVKMSCKAS	GYTFTDYN	MHWVKQNQGKSLEWIGE	INPNIGGT	GYNQKFKGKATLTVHKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYC	ARTYSYYSYEFAYWGQGTLVTVSA	45
SC17.18	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFS	GFSLSTSTMG	VGWIRQPSGKGLEWLAD	IWWDDSK	YYNPSLKSRLTISKDTSSNQVFLKITSVDTADTATYYC	ARKGRTARATRGFAYWGHGTLVTVSA	47
SC17.19	SDVQLQESGPGLVKPSQSLSVTCTVT	GYSITSSYT	WNWIRQFPGNKLEWMGY	IHYSGST	NYNPSLRSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYC	ARSRYYYDAYGFAYWGQGTLVTVSA	49
SC17.22	QIQMMQSGPELKKPGETVKISCKAS	GYSFTNYG	MNWVKQAPGKGLKWMGW	INTYTGEP	TYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDMATYFC	TRGYYGSSYDALDYWGQGTSVTVSS	51
SC17.24	QVQLQQSDAELVKPGASVKISCKVS	GYTFTDHT	IHWMKQRPEQGLEWIGY	IYPRDGST	KYNEEFKGKATLTADKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYFC	ARSYSNYFDYWGQGTTLTVSS	53
SC17.27	QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKAS	GYTFTDYE	MHWVKQTPVHGLEWIGG	IDPETGGTA	YNQKFKGKATLTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFC	TRWFSYWGPGTLVTVSA	55
SC17.28	QVHLPQSRPELVKPGASVKISCKAS	GYGFTRSY	IHWVKQRPGQGLEWIGY	ISSGSGGT	TYNQKFKGKASLTADNPSSTAYMHLSSLTSEDSAIYFC	ARGGVRYFDVWGAGTTVTVSS	57
SC17.29	EVQLQQSGPELMKPGASVKMSCKAS	GYTFTDYN	MHWVKQNQGKSLEWIGE	INPHNGGT	GYNQKFKGKATLTVDKSSSTSYMELRSLTSEDSAVYYC	AGGYPAFDYWGQGTTLTVSS	59
SC17.30	EVKLVESEGGLVQPGSSMKLSCTAS	GFTFSDYY	MAWVRQVPEKGLEWVAN	INYDGSST	YYLDSLKSRFIISRDNAKNILYLQMSSLKSEDTATYYC	ARDDYYGSSPSYWYFDVWGAGTTVTVSS	61

FIG. 10B

Trình tự protein của vùng biến đổi chuỗi nặng điều biến SEZ6 của chuột làm ví dụ

mAb	FW1	CDRH1	FW2	CDRH2	FW3	CDRH3	SEQ ID NO.
SC17.32	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVAS	GFTFSNYW	MSWVRQSPEKGLEWVAE	IRLKSNNYAT	HYAESVKGRFTISRDDSKSSVFLQMNNLRTEDTGIYYC	TRHYYYAMDYWGQGTSVTVSS	63
SC17.34	EVQLQQSGPELVKPGSSVKISCKAS	GYTFTDYN	MDWVKQSHGKRLEWIGY	IYPDNGGA	GYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYC	SRSITTAWFAYWGQGTLVTVSA	65
SC17.35	EVQLQQSGPELVKPGALVKMSCKAS	GYTFTDYY	IHWVKQSHGKSLEWIGE	INPYNGET	FYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYC	ARRGWYLTGYAMDYWGQGTSVTVSS	67
SC17.36	EVQLQESGPSLVKPSQSQSLTCSVT	GDSITSDY	WNWIRKFPGKKVEYMGY	INYSGST	YYNPSLKSRISITRDTSKNQYYLQLNSVTSEDTATYYC	ARTSYYNKFLPFAYWGQGTLVTVSA	69
SC17.39	EVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCAAS	GFTFSSYG	MHWVRQAPEKGLEWVAY	ISSNDGTI	YYADTVRGRFTISRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYC	ARPSNWVFDYWGQGTTLTVSS	71
SC17.40	QVQLQQPGAEIVRPGASVKLSCKAS	GYTFTDYW	MNWVKQRPGQGLEWIGT	IDPSDSYT	RYNQKFKGKATLTVDTSFSSAYMQLSSLTSEDSAVYFC	ASGGRGFGYWGQGTPVTVSV	73
SC17.41	DVKLVESGGGLVKLGGSLKLSCAAS	GFTFSSYA	MSWVRQTPEKRLEWVAT	ISSGGGNT	YYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMYYC	ARRDYYGTSYVMFAYWGQGTLVTVSA	75
SC17.42	DVKLVESGGGLVRPGGSLKLSCAAS	GFTFSRYT	MSWVRQTPEKRLEWAAT	INSGGSNT	YYPDSVKGRFTISRDNAKNTLFLQMSSLKSEDTAMYYC	TNGNHWGQGTTLTVSS	77
SC17.45	QVQLQQPGSVLVRPGDSVKLSCKAS	GYTFTSYW	MHWVKQSPGQGLEWIGE	IHPHSGST	NYNEKFKGKATLTVDTSSSTAYVDLSSLTSEDSAVYYC	VGGHYDYWGQGTTLTVSS	79
SC17.46	QVQLQQPGAELVKPGASMKLSCKAS	GYTFTSYW	INWVKQRPGQGLEWIGN	IFPDTTTT	NYNEKFKSKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSDDSAVYYC	AREYYDGTYDAMDYWGQGTSVTVS	81
SC17.47	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKAS	GYSFTDYY	MRWVKQSPEKSLEWIGE	INPSTGGTT	TYNQNFKAKATLTVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYC	ARGGYFLYYFDYWGQGTTLTVSS	83
SC17.49	QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKAS	GYTFTDYE	MHWVKQTPVHGLEWIGG	IDPETGGT	AYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFC	TRWFSYWGPGTLVTVSA	85
SC17.50	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAAS	GFTFSDYG	MHWVRQAPEKGLEWVAY	ISSGSRTI	YYADTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYC	ARVYYGSTYGYFDVWGTGTTVTVSS	87
SC17.53	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKAS	GYTFTDYN	MHWVKQSHGKRLEWIGY	IHPYNGGS	GYNQKFKRKATLTVDNSSNTTYMELRSLTSEDSAVYYC	ARSYDYDTWFGYWGQGTLVTVRA	89
SC17.54	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVAS	GFTFSNYW	INWVRQSPEKGLEWVAE	IRMKSNNYAT	HYAESVKGRFTISRDDSKSCVYLQMNNLRPEDTGIYYC	TRGGYWGQGTTLTVSS	91
SC17.56	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKAS	GYTFTNYG	MNWVKQAPGKGLKWMAW	INTYTGEP	TYADDFKGRFAFSLETSASTASLQIINLKNEDTATYFC	ARIGDSSPSDYWGQGTTLTVS	93
SC17.57	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKAS	DYTFTDFS	IHWVRQSPGKGLKWMGW	INTETGEPT	VAEDFKGRFAFSLETSASTAFLQIYNLKNEDSATYFC	ARGRYYGHDYAMDYWGQGTSVTVSS	95
SC17.59	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVAS	GFTFSNYW	MNWVRQSPEKGLEWVAE	IRLKSNNYAT	HYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNNLRAEDTGIYYC	TRLWDFAMDYWGQGTSVTVSS	97
SC17.61	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFS	GFSLSTFGMG	VGWIRQPSGKGLEWLAQ	IWWDDYK	YYNPALKSRLTISKDTSKNQVFLKIANVDTADTATYYC	ARIGYYSGSSRCWYFDVWGTGSTVTVSS	99
SC17.63	QVQLQQSDAELVKPGASVKISCKAA	GYTFTDLT	IHWVKQRPEQGLEWIGY	IYPGDSNT	KYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLNSLTSEDSVVYFC	ARMITPYYFDYWGQGTTLTVS	101

FIG. 10B (tiếp theo)

Trình tự protein của vùng biến đổi chuỗi nặng điều biến SEZ6 của chuột làm ví dụ

mAb	FW1	CDRH1	FW2	CDRH2	FW3	CDRH3	SEQ ID NO.
SC17.71	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVAS	GIIFSNYW	MNWVRQSPEKGLEWVAE	IRLKSNNYST	HYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNNLRAEDTGIYYC	TRHYYYAMDYWGQGTSVTVSS	103
SC17.72	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAAS	GFTFSSYG	MSWVRQTPEKRLEWVAA	INSNGGST	YYPDTVKGRLTISRDNGKNTLYLQMSSLRSEDTALYYC	VRDDGYYVFFAYWGQGTLVTVSA	105
SC17.74	QVQLKQSGPGLVAPSQSLSITCTVS	GFSLTSYG	VDWVRQSPGKGLEWLGV	IWGGGST	NYNSALKSRLSITKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAMYYC	ASGDYDGSLWFAYWGQGTLVTVSA	107
SC17.76	EVQLVESGGDLVKPGGSLKLSCVAS	GFTFSSYG	MSWVRQTPDKRLEWVAT	ISSGGTFT	YYPDSVKGRFTVSRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMYYC	SRHGWGWGQGTLVTVSA	109
SC17.77	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVAS	GFTFSNYW	MNWVRQSPEKGLEWVAE	IRLKSNNYAT	HYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNNLRVEDTAIYYC	TRHYDYAMDYWGQGTSVTVSS	111
SC17.79	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVAS	GFTFSDYW	MNWVRQSPEKGLELVAE	IRLISNNYAT	HYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNNLRAEDTGIYYC	TRHYYYALDYWGQGTSVTVSS	113
SC17.81	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTAS	GFNINDTY	YHWLKQRPEQGLEWIGR	IDPANVNT	KYDPKFQGKATLTADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYC	GRGNAYWGQGTLVTVSA	115
SC17.82	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS	GYTFTDSY	MNWVKQSHGKSLEWIGR	VNPNNGGA	SYNHKFKGKATLTVDKSLSTAYMRLNSLTSEDSAVYYC	SRSGDLYYYAMDYWGQGTSVTVSS	117
SC17.84	EVQLQQSGPELMKPGASVKMSCKAS	GYIFTDYN	MHWVKQNQGKSLEWIGE	VNPNTGGI	GYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMDLRSLTSEDSAVYYC	ARDGNYCFDYWGQGTTLTVSS	119
SC17.85	EVQLVESGGDLVKPGGSLKLSCAAS	GFTFSNYG	MSWVRQTPDKRLEWVAT	ISTGGTYT	YYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMYYC	VGQSYSDYVSFAYWGQGTQVTVSA	121
SC17.87	EVQLQQSGAELLKPGASVKLSCTAS	GLNIKDYY	IHWVYQRPEQGLEWIGR	IDPESDNT	LYDPKFQGKASITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYC	TTNTPFAYWGQGTLVTVST	123
SC17.89	QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKTS	GYAFTNYL	IEWVKQRPGQGLEWIGV	INPGSGGT	NYNEKFKVKATLTADKSSSTAYMQLTSLTSDDSAVYFC	TRRDGYFFPWFAYWGQGTLVTVSA	125
SC17.90	QVQLQQPGSVLVRPGASVKLSCKAS	GYTFTSYW	MHWVKQRPGQGLEWIGE	IHPNNGST	NYNEKFKGKATLTVDTSSSTAYVDLSSLTSEDSAVYYC	ARWTLFTYWGQGTLVTVSA	127
SC17.91	EVQLVESGGGLVKPGGSRKLSCAAS	GFTFSDYG	MHWVRQAPEKGLEWVAY	ISRGSSTI	HYADTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYC	ARPFNWYFDVWGAGTTVTVSS	129
SC17.93	QVQLQQPGAELVKPGASVMLSCKAS	GYTFTSYW	VHWVKQRPGQGLEWIGV	INPRNGRN	NYNEKFKTKATLTVDKSSSTAYMQLSSPTSEDSAVYYC	AREDYDGGDYAMDYWGQGTSVTVSS	131
SC17.95	EVELQQSGPELVKPGASVKISCKTS	GNTYTEYT	MQWVKLSHGKSLEWIGG	INPNNGIT	SYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLKSEDSAVYYC	ARAGLGNYVWAMDYWGQGASVTVSS	133
SC17.97	QVQLPQSGAELAKPGASVKISCKAS	GFTFTSYW	MHWVKQRPGQGLEWIGY	INPSTDYT	EYNQKFKDKATLTADKSSSTAYMQLGSLTSEDSAVYYC	ARSSYGSSPFDYWGQGSTLTVSS	135
SC17.99	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAAS	GFTFSDAW	MDWVRQSPEKGLEWVAE	IRSKANNHAT	YYAESVKGRFTISRDDSKSSAYLQMNSLRAEDTGIYYC	VSTGTSYWGQGTLVTVSA	137
SC17.102	EVQLQQSGPELMKPGASVKMSCKAS	GDTFTDYN	IHWVKQNQGKSLEWIGE	VNPNIGGI	GYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYC	AMGRWYFDVWGAGTTVTVSS	139

FIG. 10B (tiếp theo)

Trình tự protein vùng biến đổi chuỗi nặng của chất điều biến SEZ6 của chuột được lấy làm ví dụ

mAb	FW1	CDRH1	FW2	CDRH2	FW3	CDRH3	SEQ ID NO.
SC17.114	EVQLQQSGPEMVKPGASVKISCKA	GYTFTDYY	MHWVKQSHGKSLEWIGR	VNTNNGGT	SYDQKFEGKATLTVDKSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYC	VIPAWFAYWGQGTLVTVSA	141
SC17.115	QVQLQQSGSVLVRPGASVKLSCKAS	GYTFTSY	MHWVKQRPGQGLEWIGE	IHPNSGNT	NYNEKFKGKATLTVDTSSSTAYVDLSSLTSEDSAVYYC	AGGNYDYWGQGTTLTVSS	143
SC17.120	EVQLEQSGTVLARPGASVKMSCKAS	GYTFTSYW	MHWVKQRPGQGLEWIGA	FYPGNSGT	YYNQKFKDKAKLTAVTSASTAYMELSSLTNEDSAVYYC	SRSGSGRFAYWGQGTLVTVSA	145
SC17.121	EVQLQQSGPELMKPGASVKMSCKAS	GYTFTDHN	IHWVKQHQGKSLEWIGE	INPNTGGT	GYNQKFQGKATMTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYC	VRGLYFFDYWGQGTTLTVSS	147
SC17.122	EVHLVESGGDLVKPGGSLKLSCAAS	GFTFSSYG	MSWVRQTPDKRLEWVAT	ISSGGTYT	YYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMYYC	SRHGWGWGQGTLVTVSA	149
SC17.140	EVQLQQSGPELMKPGASVKMSCKAS	GYTFTDYN	MHWVKQNQGKSLEWIGE	INPNTGGT	GYNQKFKGKATLTVDKFSSTAFIELRSLTSEDSAIYYC	TRGGYDHYWYFDVWGAGTTVTVSS	151
SC17.151	EVQLQQSGTVLARPGASVKMSCKA	GYTFTSYW	MHWVKQRPGQGLEWIGA	IYPGKNDT	TYNQKFKGKAKLTAVTSASTLYMELSSLTNEDSAVYYC	TRSGKGYFAYWGQGTLVTVSA	153
SC17.156	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFS	GFSLSTSGMGV	VSWIRKTSGKGLEWLAH	IFWDDDK	WYNPSLKSRLTISKATSSNQVFLILTSVDTADTATYYC	ATFYGLYFAYWGQGTTLTVSS	155
SC17.161	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCAAS	GFTFSDAW	MDWVRQSPEKGLEWVAE	IRSKPNNHAT	YYAESVKGRFTISRDDSKSSAYLQMNSLRAEDTGIYYC	VSTGTSYWGQGTLVTVSA	157
SC17.166	EVQLQQSGPELMKPGASVKMSCKAS	GYIFTDYN	MHWVKQNQGKSLEWIGE	VNPNTGGI	GYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMDLRSLTSEDSAVYYC	ARDGNYCFDYWGQGTTLTVSS	159
SC17.187	EVHLQQSGPELVNPGSSVKISCKAA	GYTFTDYN	MDWVKQSHGKRLEWIGN	IYPNNGGA	GYNQNFKDKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYC	ARSITAAWFAYWGQGTLVTVSA	161
SC17.191	EVQLQQSGPELMKPGASVKMSCKAS	GYTFTDYN	MHWVKQNQGKSLEWIGE	INPNTGGT	GYNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYC	ARIPSLRRYYFDYWGQGTTLTVSS	163
SC17.193	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFS	GFSLITYGIG	VGWIRQPSGKGLEWLAH	IWWNDNK	YYNTALKSRLTISKDTSNNQVFLKIANVDTADTATYYC	ARMVYYDYDGGFAYWGQGTLVTVSA	165
SC17.199	EVQLQQSGTVLARPGASVRMSCKAS	GYTFTSYW	MHWVKQRPGQGLEWIGA	IYPGNSDT	SYNHKFKGKAKLTAVTSASTAYMELSSLTNEDSAVYYC	TRSGTGWFAYWGQGTLVTVSA	167
SC17.200	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKAS	GYAFSSSW	INWVKQRPGQGLEWIGR	IYPGEGDT	NYSGNFEGKATLTADKSSTTAYMQLSSLTSVDSAVYFC	TRGLVMDYWGQGTALTVSS	169

FIG. 10B (tiếp theo)

Trình tự protein vùng biến đổi chuỗi nặng của chất điều biến SEZ6 được làm tương thích với người được lấy làm ví dụ

mAb	FW1	CDRH1	FW2	CDRH2	FW3	CDRH3	SEQ ID NO.
hSC17.16	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	GYTFTDYN	MYWVRQAPGQGLEWMGE	INPNNGGT	AYNQKFRGKVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYC	ARYDKGFDYWGQGTTVTVSS	171
hSC17.17	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	GYTFTDYN	MHWVRQAPGQGLEWMGE	INPNIGGT	GYNQKFKGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYC	ARTYSYYSYEFAYWGQGTLVTVSS	173
hSC17.24	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVS	GYTFTDHT	IHWVRQAPGKGLEWIGY	IYPRDGST	KYNEEFKGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYC	ARSYSNYFDYWGQGTTVTVSS	175
hSC17.28	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	GYTFTRSY	IHWVRQAPGQGLEWMGY	ISSGSGGT	TYNQKFKGRVTSTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYC	ARGGVRYFDVWGQGTTVTVSS	177
hSC17.34	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	GYTFTDYN	MDWVRQAPGQRLEWIGY	IYPDNGGA	GYNQKFKGRVTITVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC	SRSITTAWFAYWGQGTLVTVSS	179
hSC17.46	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	GYTFTSYW	INWVRQAPGQGLEWIGN	IFPDTTTT	NYNEKFKGRVTLTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYC	AREYYDGTYDAMDYWGQGTLVTVSS	181
hSC17.151	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	GYTFTSYW	MHWVRQAPGQGLEWMGA	IYPGKSDT	TYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC	ARSGKGYFAYWGQGTLVTVSS	183
hSC17.155	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	GYTFNSYW	MHWVRQAPGQGLEWMGE	IHPNNGST	NYNEKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC	ARWTLFTYWGQGTLVTVSS	185
hSC17.156	QVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVS	GFSLSTSGMG	VSWIRQPPGKALEWLAH	IFWDDDK	WYNPSLKSRLTISKDTSKSQVVLTMTNMDPVDTATYYC	ATFYGLYFAYWGQGTLVTVSS	187
hSC17.161	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	GFTFSDAW	MDWVRQAPGQRLEWMGE	IRSKPNNHAT	YYAESVKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYC	ARTGTSYWGQGTLVTVSS	189
hSC17.200	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGS	GYSFTSSW	INWVRQMPGKGLEWMGR	IYPGEGDT	NYSGNFEGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYC	TRGLVMDYWGQGTLVTVS	191
hSC17.155vH1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	GYTFDSYW	MHWVRQAPGQGLEWMGE	IHPNNGST	NYNEKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC	ARWTLFTYWGQGTLVTVSS	193
hSC17.155vH2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	GYTFTSYW	MHWVRQAPGQGLEWMGE	IHPNNGST	NYNEKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC	ARWTLFTYWGQGTLVTVSS	194
hSC17.155vH3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	GYTFNYYW	MHWVRQAPGQGLEWMGE	IHPNNGST	NYNEKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC	ARWTLFTYWGQGTLVTVSS	195
hSC17.155vH4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	GYTFNSYW	MHWVRQAPGQGLEWMGE	IHPNDGST	NYNEKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC	ARWTLFTYWGQGTLVTVSS	196
hSC17.155vH5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	GYTFNSYW	MHWVRQAPGQGLEWMGE	IHPNGGST	NYNEKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC	ARWTLFTYWGQGTLVTVSS	197
hSC17.155vH6	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS	GYTFNSYW	MHWVRQAPGQGLEWMGE	IHPNSGST	NYNEKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYC	ARWTLFTYWGQGTLVTVSS	198
hSC17.161vH1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTFSDAW	MDWVRQAPGKGLEWVGE	IRSKPNNHAT	YYAESVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYC	ARTGTSYWGQGTLVTVSS	199

FIG. 10B (tiếp theo)

Đặc điểm của chất điều biến SEZ6

Dòng	Bin	ái lực với người (Kd, nM)	chuột nhắt XR	chuột XR (Kd, nM)	Cyno XR	SEZ6L XR	SEZ6L2 XR
SC17.3	D	N.D.	Không	Không	N.D.	Không	Không
SC17.4	A	N.D.	Không	Không	N.D.	Không	Không
SC17.6	B	<1	Có	Có (<1)	N.D.	Không	Có
SC17.7	A	17..	Có	Không	Không	Có	Có
SC17.17	U	1,8	Không	Có (5,0)	Có	Không	Không
SC17.19	E	5,3	Có	Có	N.D.	Không	Có
SC17.24	C	5,1	Có	Không	Có	Không	Không
SC17.26	F	62,0	Có	Có (17,4)	Có	Không	Có
SC17.28	U	22,1	Không	Có (31)	N.D.	Không	Có
SC17.34	A	15,1	Không	Có (79,5)	Có	Không	Không
SC17.36	A	6,3	Không	Không	Có	Không	Không
SC17.42	A	2,7	Có	Có (3,0)	Không	Không	Không
SC17.45	A	17,4	Không	Không	Có	Không	Không
SC17.46	E	N.D.	Không	Không	Không	Không	Không
SC17.49	U	23,1	Không	Không	N.D.	Không	Không

FIG. 11A

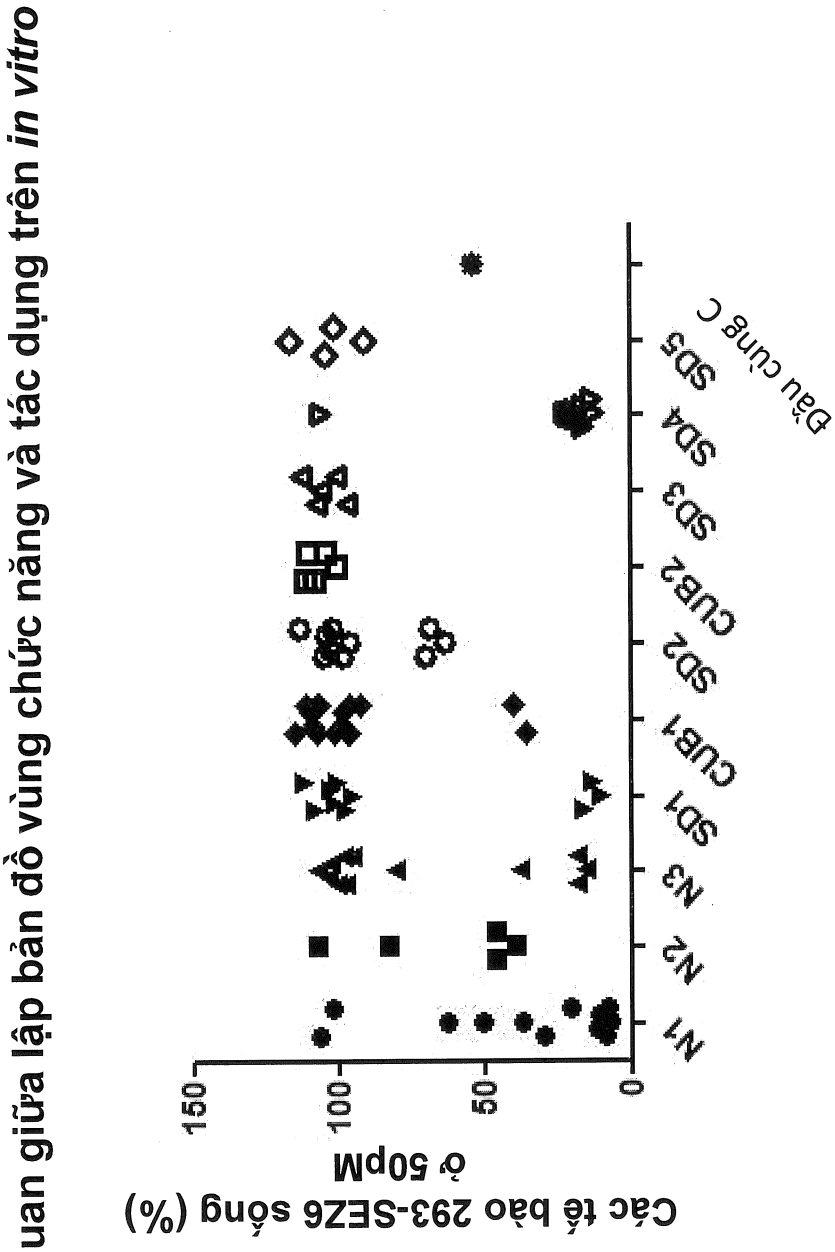

Tương quan giữa lập bản đồ vùng chức năng và tác dụng trên *in vitro*
Các tế bào 293-SEZ6 sống (%)
ở 50pM
150
100
50
0
N1
N2
N3
SD1
CUB1
SD2
CUB2
SD3
SD4
SD5
Đầu cuối C

FIG. 11B

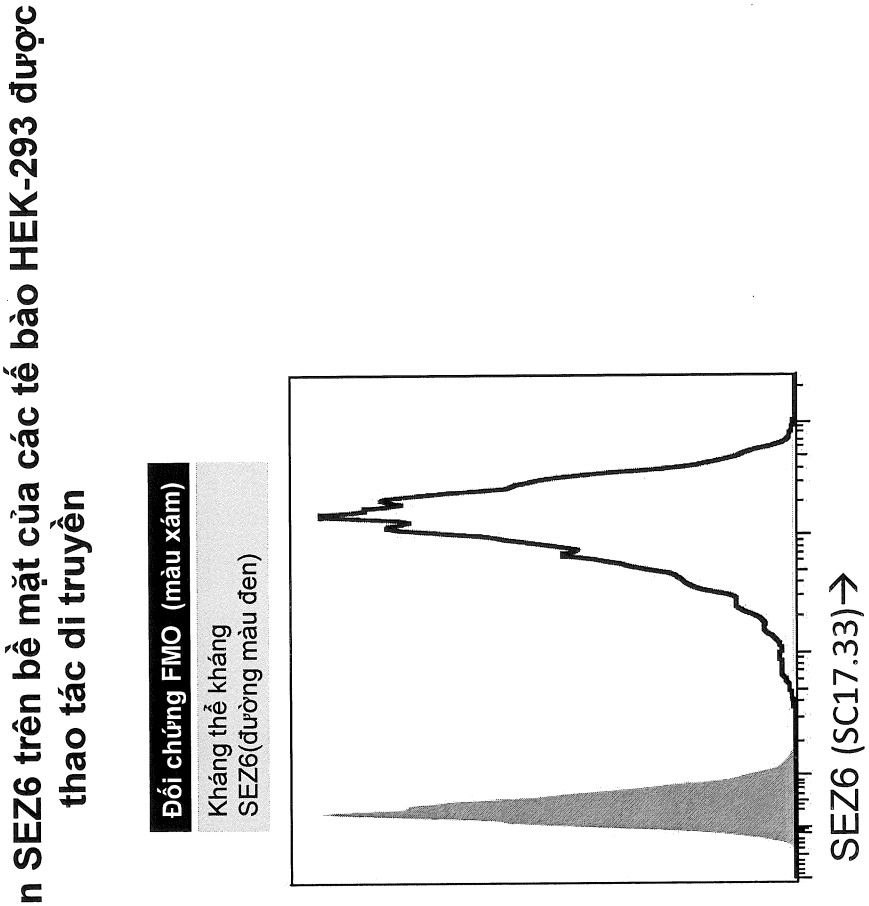

Phát hiện sự biểu hiện SEZ6 trên bề mặt của các tế bào HEK-293 được thao tác di truyền
Đối chứng FMO (màu xám)
Kháng thể kháng SEZ6(đường màu đen)
SEZ6 (SC17.33)→

FIG. 12A

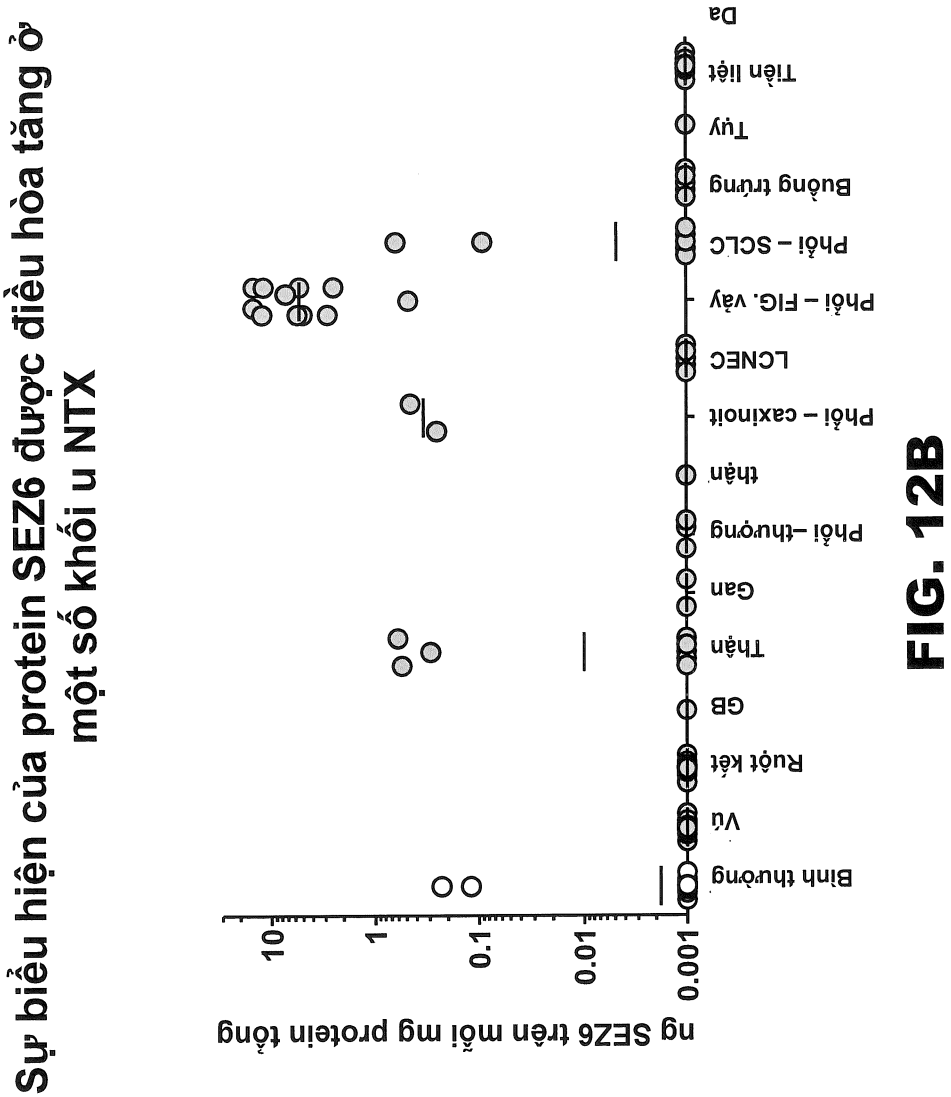

Sự biểu hiện của protein SEZ6 được điều hòa tăng ở một số khối u NTX
ng SEZ6 trên mỗi mg protein tổng
10
1
0.1
0.01
0.001
Bình thường
Vú
Ruột kết
GB
Thận
Gan
Phổi –thượng thận
Phổi – caxinoit
LCNEC
Phổi – FIG. vảy
Phổi – SCLC
Buồng trứng
Tụy
Tiền liệt
Da

FIG. 12B

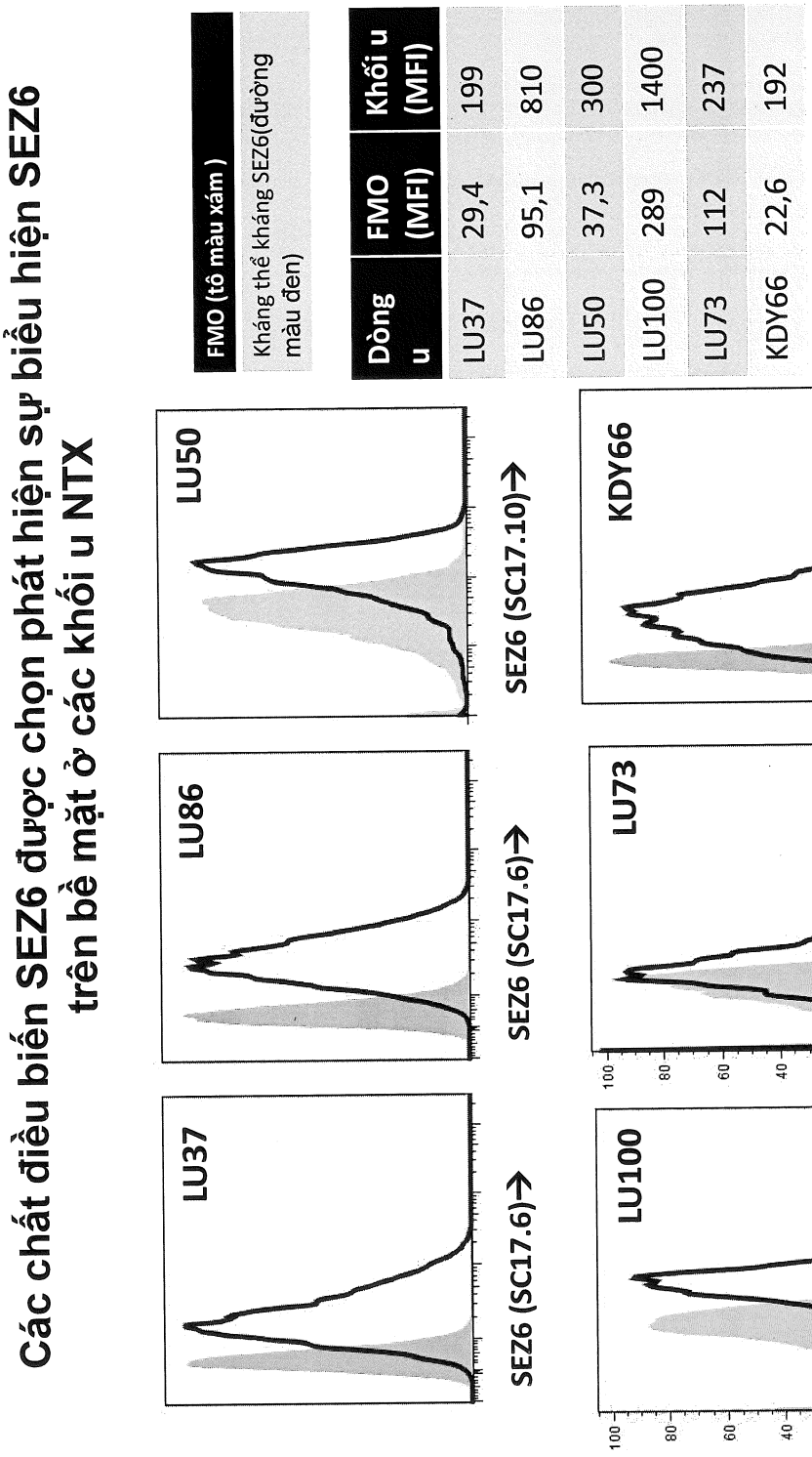

Các chất điều biến SEZ6 được chọn phát hiện sự biểu hiện SEZ6 trên bề mặt ở các khối u NTX
FMO (tô màu xám)
Kháng thể kháng SEZ6(đường màu đen)
Dòng u
FMO (MFI)
Khối u (MFI)
LU37 29,4 199
LU86 95,1 810
LU50 37,3 300
LU100 289 1400
LU73 112 237
KDY66 22,6 192
LU37
LU86
LU50
LU100
LU73
KDY66
SEZ6 (SC17.6)→
SEZ6 (SC17.6)→
SEZ6 (SC17.10)→
SEZ6 (SC17.42)→
SEZ6 (SC17.28)→
SEZ6 (SC17.6)→

FIG. 13A

Protein SEZ6 là dấu chuẩn sinh học của các CSC như được xác định bằng FACS

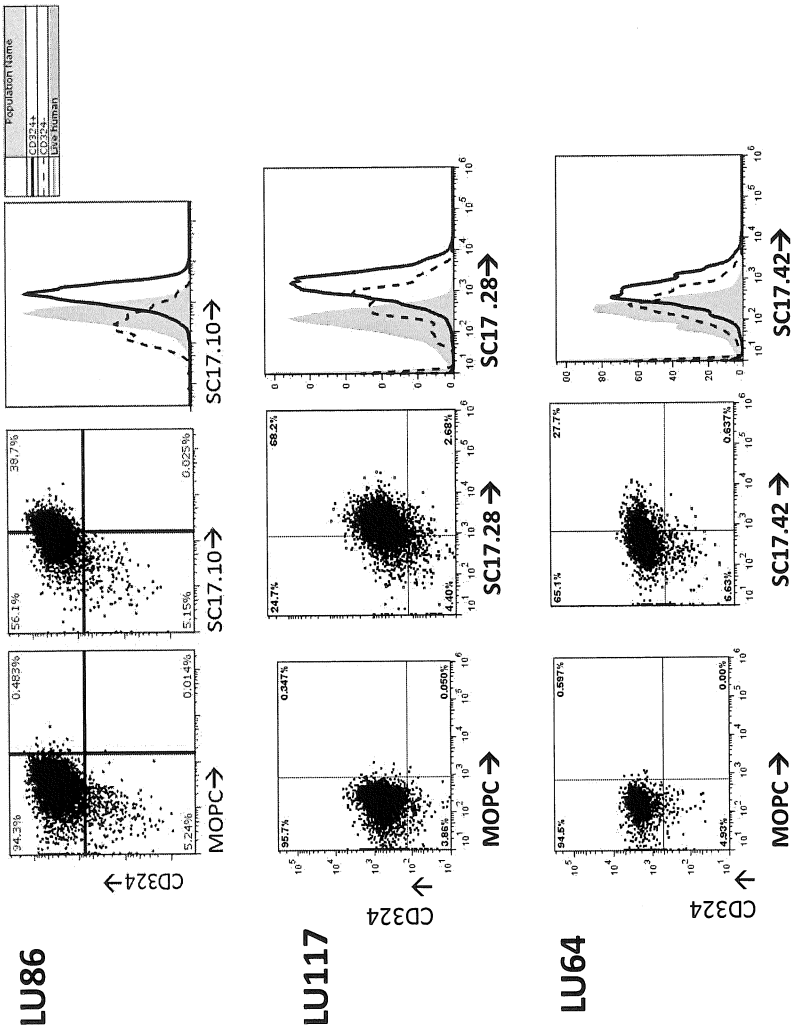


FIG. 13B

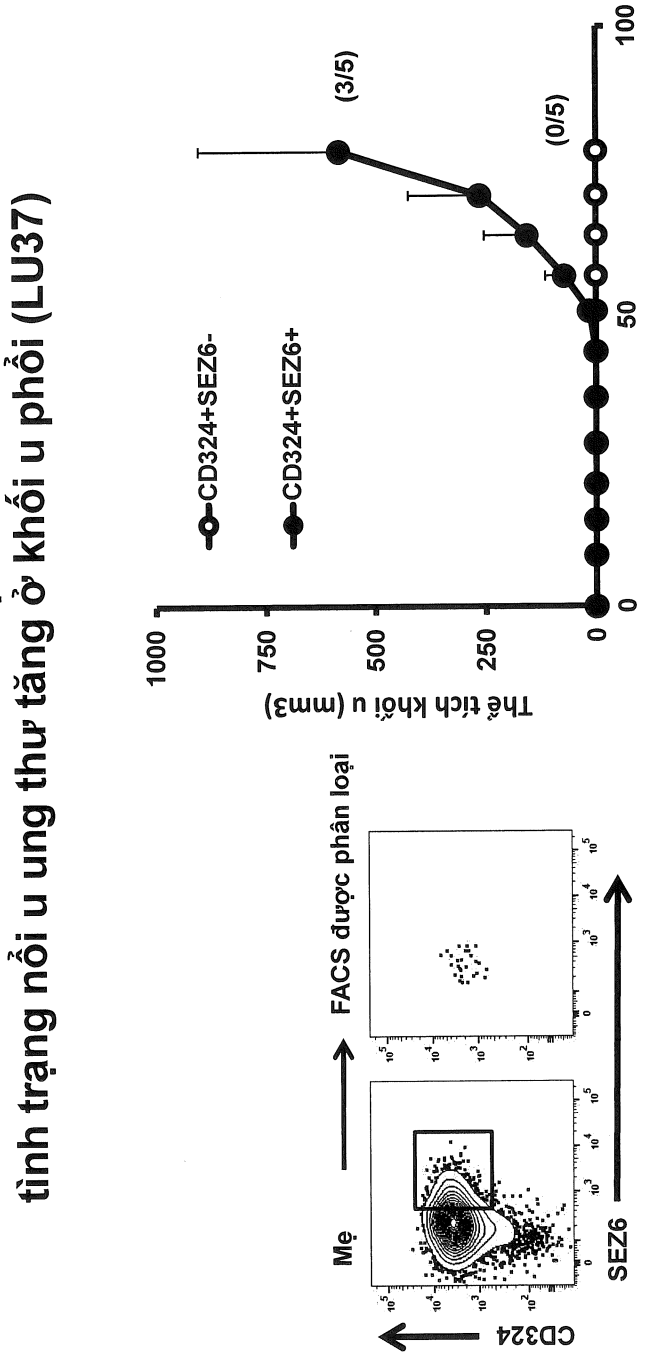


FIG. 14A

FIG. 14B

Các chất điều biến SEZ6 tạo thuận lợi cho sự phân phối chất gây độc tế bào đến các tế bào HEK-293T biểu hiện SEZ6

Dòng	100pM	50pM	10pM
IgG1	103,1	ND	94,3
IgG2a	97,3	100.4	94,7
IgG2b	102,3	ND	96,9
SC17.1	26,3	ND	70,1
SC17.3	16,9	ND	38,5
SC17.4	18,7	ND	34,7
SC17.6	8,8	ND	14,3
SC17.7	23,9	ND	49,4
SC17.8	15,2	ND	22,8
SC17.9	13,8	ND	24,4
SC17.10	56,6	ND	92,2
SC17.11	23,8	ND	64,5
SC17.12	112,4	ND	111,7
SC17.13	107,0	ND	103,4
SC17.14	34,9	ND	71,8
SC17.15	95,1	ND	110,6
SC17.17	11,3	12.8	21,4
SC17.18	59,3	ND	88,6
SC17.19	9,2	ND	14,4
SC17.21	36,4	ND	62,7
SC17.22	46,9	ND	68,9
SC17.23	13,3	ND	38,0
SC17.24	49,5	ND	77,5
SC17.25	58,7	ND	88,8
SC17.26	13,4	ND	15,6
SC17.27	21,7	ND	33,6
SC17.28	12,8	ND	17,9

Dòng	100pM	50pM	10pM
SC17.29	112,4	ND	103,3
SC17.30	22,6	ND	50,0
SC17.31	47,0	ND	87,4
SC17.32	104,7	ND	122,9
SC17.33	10,4	ND	17,6
SC17.34	8,8	ND	16,7
SC17.35	15,9	ND	41,8
SC17.36	9,8	ND	12,9
SC17.37	78,4	ND	92,2
SC17.38	104,9	ND	104,8
SC17.39	121,7	ND	121,8
SC17.40	9,6	ND	11,1
SC17.41	60,3	ND	98,1
SC17.42	58,5	ND	91,7
SC17.43	21,5	ND	36,8
SC17.44	47,3	ND	86,3
SC17.45	11,1	ND	12,6
SC17.46	12,7	16.3	23,6
SC17.47	15,0	ND	39,2
SC17.49	21,3	ND	39,3
SC17.50	102,7	ND	109,9
SC17.51	105,4	ND	102,1
SC17.52	8,2	ND	8,6
SC17.53	111,6	ND	99,9
SC17.54	77,0	ND	99,6
SC17.55	11,0	ND	28,9
SC17.56	12,4	ND	16,5

Dòng	100pM	50pM	10pM
SC17.57	111,7	ND	103,0
SC17.58	102,3	ND	95,1
SC17.59	111,4	ND	114,5
SC17.60	110,8	ND	101,2
SC17.61	114,0	ND	113,7
SC17.72	ND	101.3	ND
SC17.73	ND	96.4	ND
SC17.74	ND	105.1	ND
SC17.75	ND	108.3	ND
SC17.76	ND	99.6	ND
SC17.81	ND	62.8	ND
SC17.82	ND	97.7	ND
SC17.83	ND	95.4	ND
SC17.84	ND	107.8	ND
SC17.86	ND	111.7	ND
SC17.87	ND	100.9	ND
SC17.88	ND	97.8	ND
SC17.89	ND	17.0	ND
SC17.90	ND	105.4	ND
SC17.91	ND	104.0	ND
SC17.92	ND	107.4	ND
SC17.93	ND	106.3	ND
SC17.95	ND	115.0	ND
SC17.96	ND	53.5	ND
SC17.97	ND	111.9	ND
SC17.99	ND	18.8	ND
SC17.100	ND	97.6	ND

FIG. 15A

Các chất điều biến SEZ6 tạo thuận lợi cho sự phân phối chất gây độc tế bào đến các tế bào HEK-293T biểu hiện SEZ6

Dòng	100pM	50pM	10pM
SC17.101	ND	30,7	ND
SC17.102	ND	13,6	ND
SC17.103	ND	111,4	ND
SC17.104	ND	39,4	ND
SC17.105	ND	115,2	ND
SC17.106	ND	116,6	ND
SC17.107	ND	36,0	ND
SC17.108	ND	104,7	ND
SC17.109	ND	108,3	ND
SC17.112	ND	102,7	ND
SC17.114	ND	11,4	ND
SC17.115	ND	10,7	ND
SC17.116	ND	95,4	ND
SC17.117	ND	107,4	ND
SC17.119	ND	111,8	ND
SC17.120	ND	9,1	ND
SC17.121	ND	16,2	ND
SC17.122	ND	107,1	ND
SC17.124	ND	109,9	ND
SC17.125	ND	98,7	ND
SC17.129	ND	102,9	ND
SC17.130	ND	80,4	ND
SC17.133	ND	108,2	ND
SC17.134	ND	37,5	ND
SC17.135	ND	99,0	ND

Dòng	100pM	50pM	10pM
SC17.136	ND	92,9	ND
SC17.137	ND	15,3	ND
SC17.138	ND	107,7	ND
SC17.140	ND	22,5	ND
SC17.142	ND	101,4	ND
SC17.143	ND	97,8	ND
SC17.145	ND	100,8	ND
SC17.146	ND	96,7	ND
SC17.147	ND	108,9	ND
SC17.149	ND	45,9	ND
SC17.151	ND	8,1	ND
SC17.154	ND	102,0	ND
SC17.155	ND	15,3	ND
SC17.156	ND	19,5	ND
SC17.161	ND	18,3	ND
SC17.162	ND	30,1	ND
SC17.163	ND	106,5	ND
SC17.166	ND	19,2	ND
SC17.167	ND	103,4	ND
SC17.168	ND	46,9	ND
SC17.169	ND	109,7	ND
SC17.170	ND	108,9	ND
SC17.173	ND	68,9	ND
SC17.175	ND	15,9	ND
SC17.176	ND	82,8	ND

Dòng	100pM	50pM	10pM
SC17.177	ND	102,5	ND
SC17.178	ND	102,1	ND
SC17.179	ND	70,2	ND
SC17.180	ND	21,7	ND
SC17.181	ND	101,2	ND
SC17.182	ND	10,9	ND
SC17.184	ND	63,2	ND
SC17.186	ND	105,1	ND
SC17.187	ND	13,5	ND
SC17.188	ND	21,2	ND
SC17.189	ND	98,8	ND
SC17.190	ND	91,3	ND
SC17.191	ND	17,3	ND
SC17.192	ND	103,6	ND
SC17.195	ND	21,1	ND
SC17.195	ND	38,0	ND
SC17.196	ND	106,8	ND
SC17.197	ND	7,0	ND
SC17.198	ND	108,0	ND
SC17.199	ND	23,0	ND
SC17.200	ND	9,9	ND
SC17.201	ND	40,1	ND
SC17.203	ND	96,2	ND
SC17.204	ND	114,1	ND

FIG. 15A (tiếp theo)

Các chất điều biến SEZ6 được chọn gây ra sự tiêu diệt các tế bào khối u NSCLC NTX

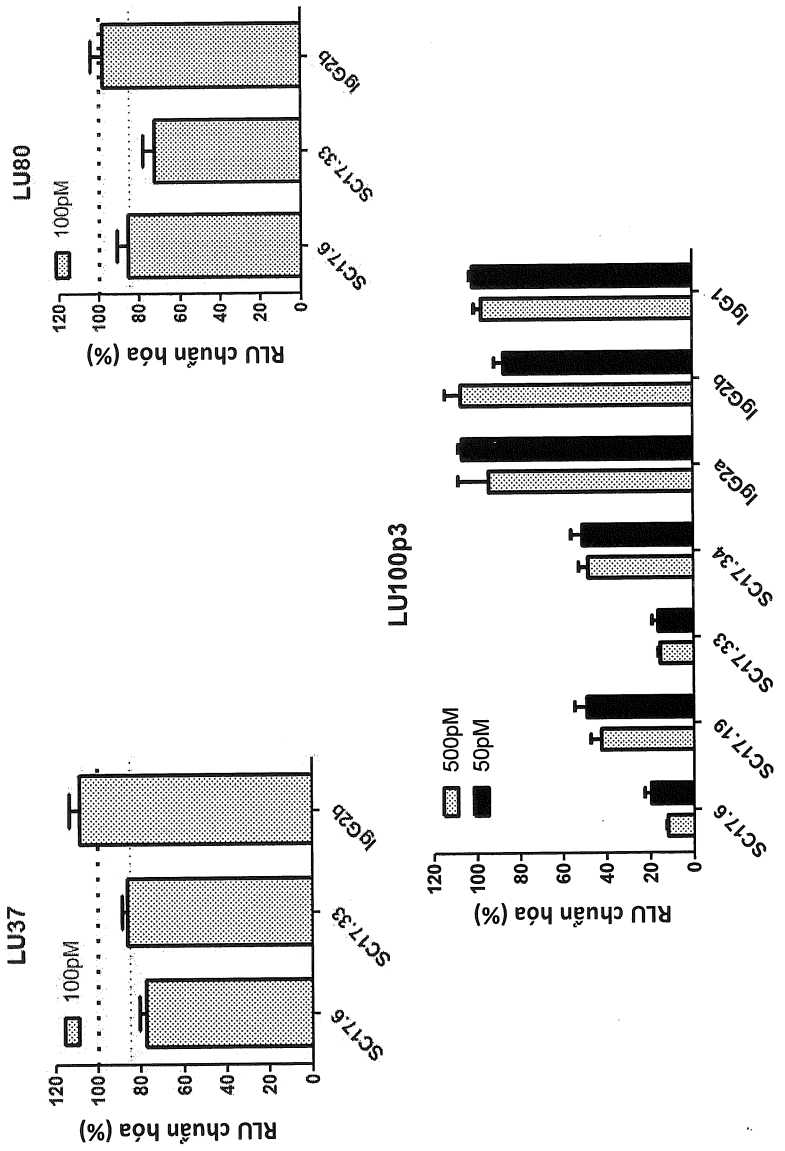


FIG. 15B

Các trị số IHC của sự biểu hiện SEZ6 ở các khối u khác nhau

Vị trí	Giới tính	Tuổi	Cơ quan	Bệnh	Giai đoạn	Dòng 140
A1	M	50	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	I	0
A2	F	51	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	I	1
A3	M	75	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	I	0
A4	F	65	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	I	0
A5	M	56	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	I	1
A6	M	53	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	1
A7	M	61	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	I	0
A8	M	43	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	I	1
A9	M	56	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	I	1
B1	F	62	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	I	0
B2	M	55	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	I	0
B3	M	61	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	I	0
B4	M	54	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	1
B5	F	66	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	1
B6	M	52	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	I	2
B7	M	54	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	1
B8	M	62	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	1
B9	F	40	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	1
C1	M	62	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	0
C2	M	58	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	1
C3	F	60	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	1
C4	M	58	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	1

Vị trí	Giới tính	Tuổi	Cơ quan	Bệnh	Giai đoạn	Dòng 140
C5	F	67	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	0
C6	M	35	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	1
C7	M	39	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	1
C8	F	55	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	0
C9	F	52	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	1
D1	M	59	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	0
D2	M	59	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	3
D3	F	53	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	1
D4	M	61	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	IIIa	1
D5	M	70	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	IIIa	0
D6	M	60	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	1
D7	M	28	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	0
D8	M	34	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	II	2
D9	M	44	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	IIIa	0
E1	F	49	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	IIIa	3
E2	F	52	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	IIIa	0
E3	M	44	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	IIIb	3
E4	F	55	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	IIIa	1
E5	-		Trống	Trống	-	xxxx
E6	M	41	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	IIIb	1
E7	M	73	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	IIIa	1
E8	M	51	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	IIIb	0
E9	M	16	Phổi	U biểu mô tế bào nhỏ	IIIb	1

Loại mô	0	1	2	3	Số lượng ca
SCLC sơ cấp	36%	52%	5%	7%	N = 44

FIG. 16

Các chất điều biến SEZ6 ADC của chuột kìm hãm sự sinh trưởng của khối u NTX SCLC và NSCLC *In Vitro*

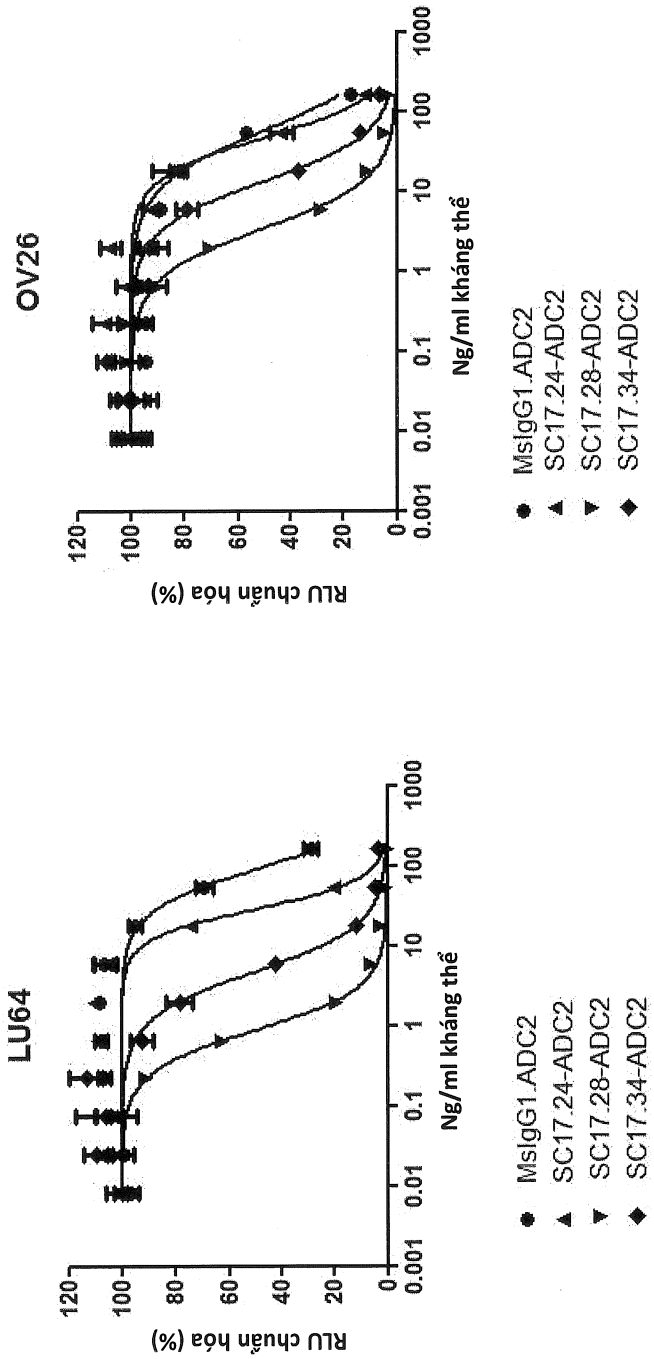


FIG. 17A

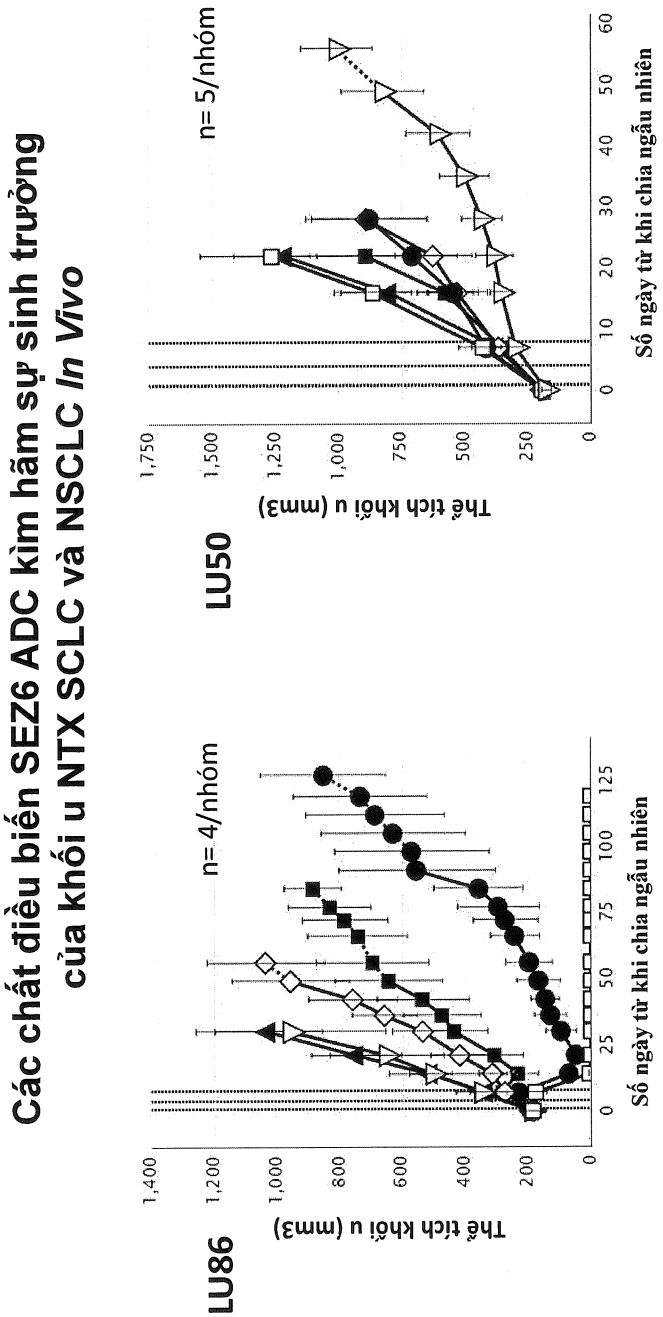

Các chất điều biến SEZ6 ADC kìm hãm sự sinh trưởng của khối u NTX SCLC và NSCLC *In Vivo*
LU86
n= 4/nhóm
Thể tích khối u (mm3)
Số ngày từ khi chia ngẫu nhiên
LU50
n= 5/nhóm
Thể tích khối u (mm3)
Số ngày từ khi chia ngẫu nhiên
MslgG1-ADC1
SC17.3-ADC1
SC17.24-ADC1
SC17.26-ADC1
SC17.28-ADC1
SC17.34-ADC1
MslgG1-ADC1
SC17.3-ADC1
SC17.17-ADC1
SC17.24-ADC1
SC17.34-ADC1
SC17.46-ADC1

FIG. 17B

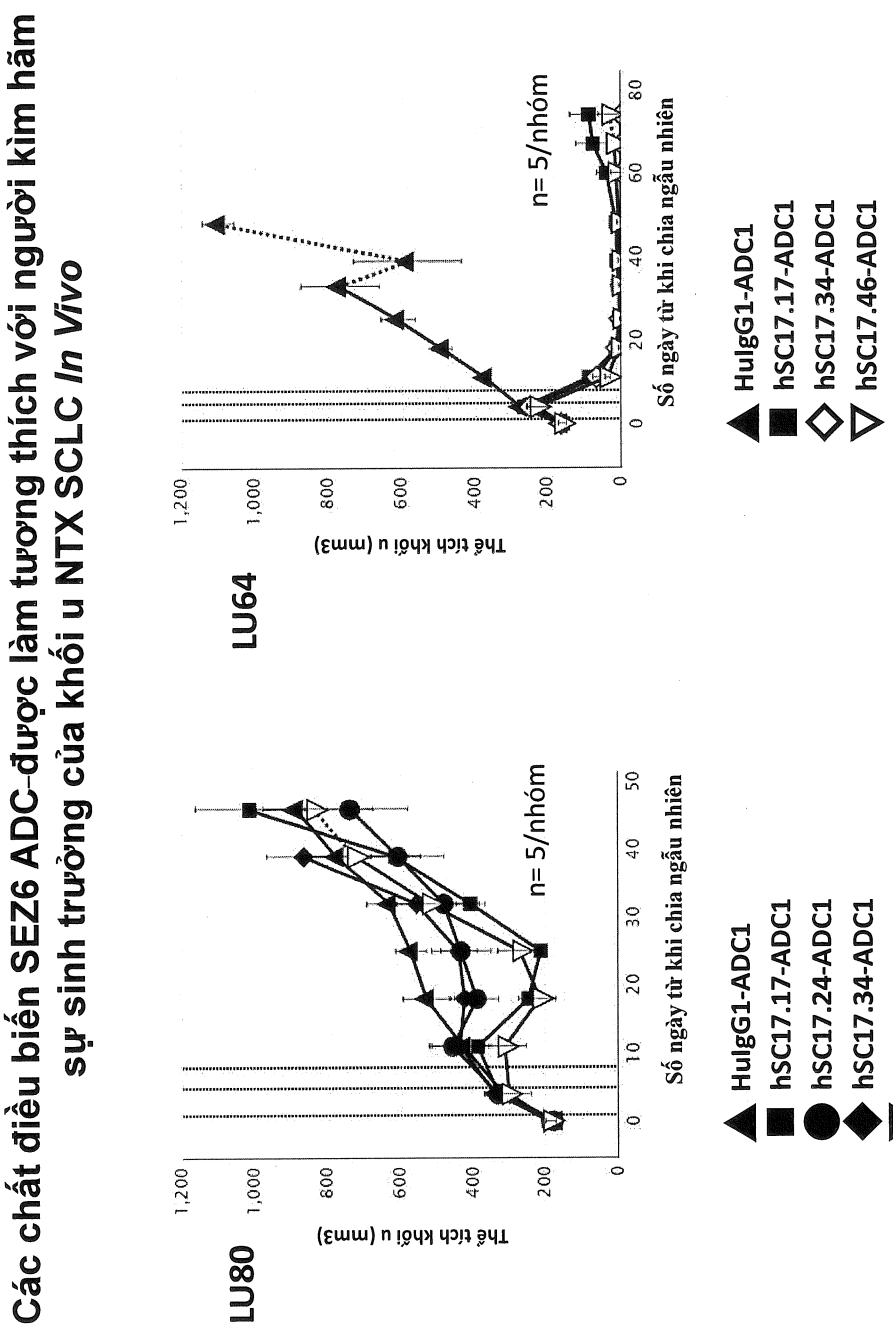

Các chất điều biến SEZ6 ADC-được làm tương thích với người kìm hãm sự sinh trưởng của khối u NTX SCLC *In Vivo*
LU80
LU64
Thể tích khối u (mm3)
Số ngày từ khi chia ngẫu nhiên
n= 5/nhóm
HulgG1-ADC1
hSC17.17-ADC1
hSC17.24-ADC1
hSC17.34-ADC1
hSC17.46-ADC1

FIG. 18A

Các chất điều biến ADC SEZ6 được làm tương thích với người thể hiện tác dụng biệt hóa trên sự sinh trưởng khối u SCLC NTX *In Vivo*

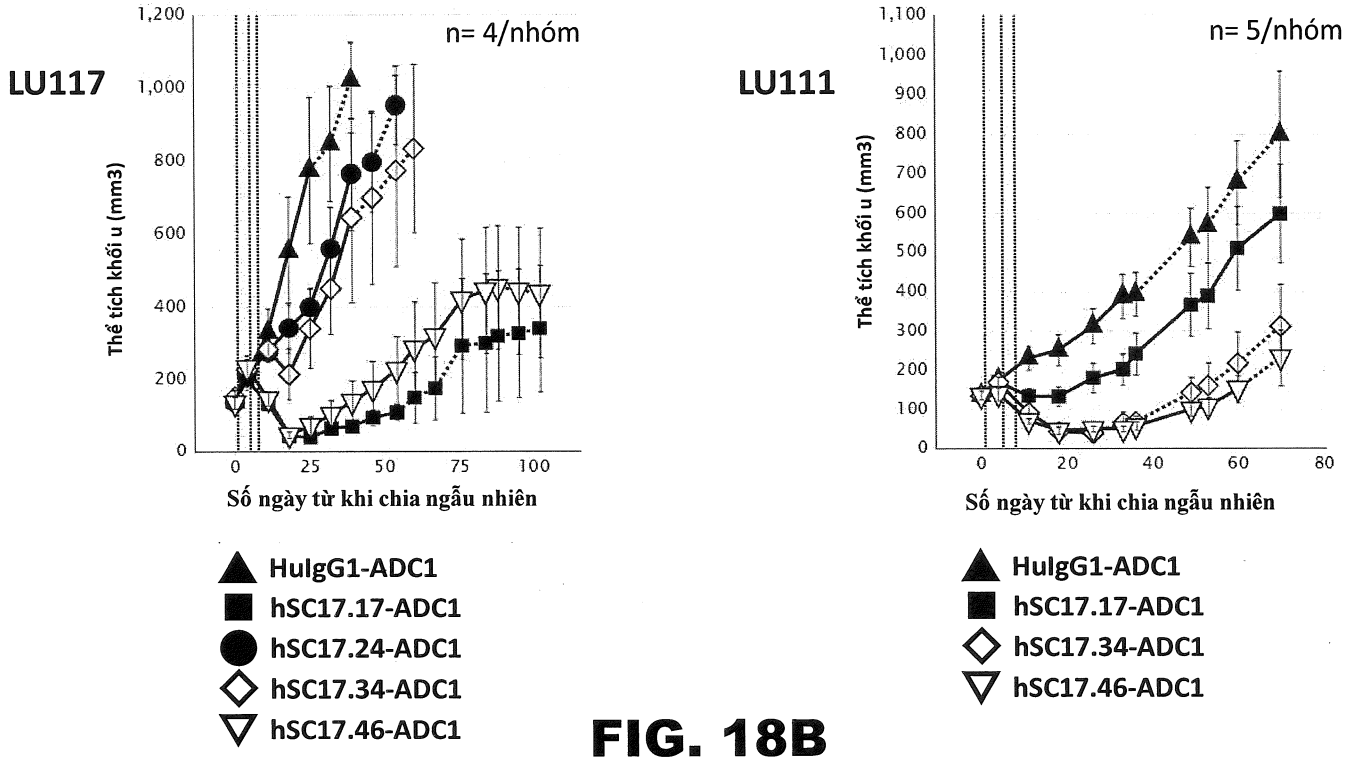


FIG. 18B

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> STEM CENTRX, INC.

<120> KHÁNG THỂ ĐƠN DÒNG LIÊN KẾT ĐẶC HIỆU VỚI PROTEIN TƯƠNG ĐỒNG 6 LIÊN QUAN ĐẾN CHỨNG CO GIẬT (SEZ6) VÀ THỂ LIÊN HỢP CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

<130> S69697 1120WO / 69697.0107.1

<140> PCT/US2013/027476
<141> 2013-02-22

<150> 61/603,203
<151> 2012-02-24

<160> 403

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 4249
<212> ADN
<213> Người hiện đại

<400> 1
gatccccggc gccgtcgcca ggcgctggcc gtggtgctga ttctgtcagg cgctggcggc 60

ggcagcggcg gtgacggctg cggccccgct ccctctaccc ggccggaccc ggctctgccc 120

ccgcgcccaa gccccaccaa gccccccgcc ctcccgccgc ggtcccagcc cagggcgcgg 180

ccgcaaccag caccatgcgc ccggtagccc tgctgctcct gccctcgctg ctggcgctcc 240

tggctcacgg actctcttta gaggccccaa ccgtggggaa aggacaagcc ccaggcatcg 300

aggagacaga tggcgagctg acagcagccc ccacacctga gcagccagaa cgaggcgtcc 360

actttgtcac aacagccccc accttgaagc tgctcaacca ccacccgctg cttgaggaat 420

tcctacaaga ggggctggaa aagggagatg aggagctgag gccagcactg cccttccagc 480

ctgacccacc tgcacccttc accccaagtc cccttccccg cctggccaac caggacagcc 540

gccctgtctt taccagcccc actccagcca tggctgcggt acccactcag ccccagtcca 600

aggagggacc ctggagtccg gagtcagagt cccctatgct tcgaatcaca gctcccctac 660

ctccagggcc cagcatggca gtgcccaccc taggcccagg ggagatagcc agcactacac 720

cccccagcag agcctggaca ccaacccaag agggtcctgg agacatggga aggccgtggg 780

ttgcagaggt tgtgtcccag ggcgcaggga tcgggatcca ggggaccatc acctcctcca 840

cagcttcagg agatgatgag gagaccacca ctaccaccac catcatcacc accaccatca 900

ccacagtcca gacaccaggc ccttgtagct ggaatttctc aggcccagag ggctctctgg 960

actcccctac agacctcagc tcccccactg atgttggcct ggactgcttc ttctacatct 1020

ctgtctaccc tggctatggc gtggaaatca aggtccagaa tatcagcctc cgggaagggg 1080

agacagtgac tgtggaaggc ctgggggggc ctgacccact gcccctggcc aaccagtctt 1140

tcctgctgcg gggccaagtc atccgcagcc ccacccacca agcggccctg aggttccaga 1200

gcctcccgcc accggctggc cctggcacct tccatttcca ttaccaagcc tatctcctga 1260

gctgccactt tccccgtcgt ccagcttatg gagatgtgac tgtcaccagc ctccacccag 1320

ggggtagtgc ccgcttccat tgtgccactg gctaccagct gaagggcgcc aggcatctca 1380

cctgtctcaa tgccacccag cccttctggg attcaaagga gcccgtctgc atcgctgctt 1440

gcggcggagt gatccgcaat gccaccaccg gccgcatcgt ctctccaggc ttcccgggca 1500

actacagcaa caacctcacc tgtcactggc tgcttgaggc tcctgagggc cagcggctac 1560

acctgcactt tgagaaggtt tccctggcag aggatgatga caggctcatc attcgcaatg 1620

gggacaacgt ggaggcccca ccagtgtatg attcctatga ggtggaatac ctgcccattg 1680

agggcctgct cagctctggc aaacacttct ttgttgagct cagtactgac agcagcgggg 1740

cagctgcagg catggccctg cgctatgagg ccttccagca gggccattgc tatgagccct 1800

ttgtcaaata cggtaacttc agcagcagca cacccaccta ccctgtgggt accactgtgg 1860

agttcagctg cgaccctggc tacaccctgg agcagggctc catcatcatc gagtgtgttg 1920

acccccacga cccccagtgg aatgagacag agccagcctg ccgagccgtg tgcagcgggg 1980

agatcacaga ctcggctggc gtggtactct ctcccaactg gccagagccc tacggtcgtg 2040

ggcaggattg tatctggggt gtgcatgtgg aagaggacaa gcgcatcatg ctggacatcc 2100

gagtgctgcg cataggccct ggtgatgtgc ttaccttcta tgatggggat gacctgacgg 2160

cccgggttct gggccagtac tcagggcccc gtagccactt caagctcttt acctccatgg 2220

ctgatgtcac cattcagttc cagtcggacc ccgggacctc agtgctgggc taccagcagg 2280

gcttcgtcat ccacttcttt gaggtgcccc gcaatgacac atgtccggag ctgcctgaga 2340

tccccaatgg ctggaagagc ccatcgcagc ctgagctagt gcacggcacc gtggtcactt 2400

accagtgcta ccctggctac caggtagtgg gatccagtgt cctcatgtgc cagtgggacc 2460

taacttggag tgaggacctg ccctcatgcc agagggtgac ttcctgccac gatcctggag 2520

atgtggagca cagccgacgc ctcatatcca gccccaagtt tcccgtgggg gccaccgtgc 2580

aatatatctg tgaccagggt tttgtgctga tgggcagctc catcctcacc tgccatgatc 2640

gccaggctgg cagccccaag tggagtgacc gggcccctaa atgtctcctg gaacagctca 2700

agccatgcca tggtctcagt gcccctgaga atggtgcccg aagtcctgag aagcagctac 2760

acccagcagg ggccaccatc cacttctcgt gtgcccctgg ctatgtgctg aagggccagg 2820

ccagcatcaa gtgtgtgcct gggcacccct cgcattggag tgacccccca cccatctgta 2880

gggctgcctc tctggatggg ttctacaaca gtcgcagcct ggatgttgcc aaggcacctg 2940

ctgcctccag caccctggat gctgcccaca ttgcagctgc catcttcttg ccactggtgg 3000

cgatggtgtt gttggtagga ggtgtatact tctacttctc caggctccag ggaaaaagct 3060

ccctgcagct gccccgcccc cgcccccgcc cctacaaccg cattaccata gagtcagcgt 3120

ttgacaatcc aacttacgag actggatctc tttcctttgc aggagacgag agaatatgaa 3180

gtctccatct aggtgggggc agtctaggga agtcaactca gacttgcacc acagtccagc 3240

agcaaggctc cttgcttcct gctgtccctc cacctcctgt atataccacc taggaggaga 3300

tgccaccaag ccctcaagaa gttgtgccct tccccgcctg cgatgcccac catggcctat 3360

tttcttggtg tcattgccca cttggggccc ttcattgggc ccatgtcagg gggcatctac 3420

ctgtgggaag aacatagctg gagcacaagc atcaacagcc agcatcctga gcctcctcat 3480

gccctggacc agcctggaac acactagcag agcaggagta cctttctcca catgaccacc 3540

atcccgccct ggcatggcaa cctgcagcag gattaacttg accatggtgg gaactgcacc 3600

agggtactcc tcacagcgca tcaccaatgg ccaaaactcc tctcaacggt gacctctggg 3660

tagtcctggc atgccaacat cagcctcttg ggaggtctct agttctctaa agttctggac 3720

agttctgcct cctgccctgt cccagtggag gcagtaattc taggagatcc taaggggttc 3780

aggggggaccc tacccccacc tcaggttggg cttccctggg cactcatgct ccacaccaaa 3840

gcaggacacg ccatttttcca ctgaccaccc tataccctga ggaaagggag actttcctcc 3900

gatgtttatt tagctgttgc aaacatcttc accctaatag tccctcctcc aattccagcc 3960

acttgtcagg ctctcctctt gaccactgtg ttatgggata aggggagggg gtgggcatat 4020

tctggagagg agcagaggtc caaggaccca ggaatttggc atggaacagg tggtaggaga 4080

gccccaggga gacgcccagg agctggctga aagccacttt gtacatgtaa tgtattatat 4140

ggggtctggg ctccagccag agaacaatct tttatttctg ttgtttcctt attaaaatgg 4200

tgtttttgga aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaa 4249

<210> 2
<211> 4234
<212> ADN
<213> Người hiện đại

<400> 2
gatccccggc gccgtcgcca ggcgctggcc gtggtgctga ttctgtcagg cgctggcggc 60

ggcagcggcg gtgacggctg cggccccgct ccctctaccc ggccggaccc ggctctgccc 120

ccgcgcccaa gccccaccaa gccccccgcc ctcccgccgc ggtcccagcc cagggcgcgg 180

ccgcaaccag caccatgcgc ccggtagccc tgctgctcct gccctcgctg ctggcgctcc 240

tggctcacgg actctcttta gaggccccaa ccgtggggaa aggacaagcc ccaggcatcg 300

aggagacaga tggcgagctg acagcagccc ccacacctga gcagccagaa cgaggcgtcc 360

actttgtcac aacagccccc accttgaagc tgctcaacca ccacccgctg cttgaggaat 420

tcctacaaga ggggctggaa aagggagatg aggagctgag gccagcactg cccttccagc 480

ctgacccacc tgcacccttc accccaagtc cccttccccg cctggccaac caggacagcc 540

gccctgtctt taccagcccc actccagcca tggctgcggt acccactcag ccccagtcca 600

aggagggacc ctggagtccg gagtcagagt cccctatgct tcgaatcaca gctcccctac 660

ctccagggcc cagcatggca gtgcccaccc taggcccagg ggagatagcc agcactacac 720

cccccagcag agcctggaca ccaacccaag agggtcctgg agacatggga aggccgtggg 780

ttgcagaggt tgtgtcccag ggcgcaggga tcgggatcca ggggaccatc acctcctcca 840

cagcttcagg agatgatgag gagaccacca ctaccaccac catcatcacc accaccatca 900

ccacagtcca gacaccaggc ccttgtagct ggaatttctc aggcccagag ggctctctgg 960

actcccctac agacctcagc tcccccactg atgttggcct ggactgcttc ttctacatct 1020

ctgtctaccc tggctatggc gtggaaatca aggtccagaa tatcagcctc cgggaagggg 1080

agacagtgac tgtggaaggc ctgggggggc ctgacccact gcccctggcc aaccagtctt 1140

tcctgctgcg gggccaagtc atccgcagcc ccacccacca agcggccctg aggttccaga 1200

gcctcccgcc accggctggc cctggcacct tccatttcca ttaccaagcc tatctcctga 1260

gctgccactt tccccgtcgt ccagcttatg gagatgtgac tgtcaccagc ctccacccag 1320

ggggtagtgc ccgcttccat tgtgccactg gctaccagct gaagggcgcc aggcatctca 1380

cctgtctcaa tgccacccag cccttctggg attcaaagga gcccgtctgc atcgctgctt 1440

gcggcggagt gatccgcaat gccaccaccg gccgcatcgt ctctccaggc ttcccgggca 1500

actacagcaa caacctcacc tgtcactggc tgcttgaggc tcctgagggc cagcggctac 1560

acctgcactt tgagaaggtt tccctggcag aggatgatga caggctcatc attcgcaatg 1620

gggacaacgt ggaggcccca ccagtgtatg attcctatga ggtggaatac ctgcccattg 1680

agggcctgct cagctctggc aaacacttct ttgttgagct cagtactgac agcagcgggg 1740

cagctgcagg catggccctg cgctatgagg ccttccagca gggccattgc tatgagccct 1800

ttgtcaaata cggtaacttc agcagcagca cacccaccta ccctgtgggt accactgtgg 1860

agttcagctg cgaccctggc tacaccctgg agcagggctc catcatcatc gagtgtgttg 1920

acccccacga cccccagtgg aatgagacag agccagcctg ccgagccgtg tgcagcgggg 1980

agatcacaga ctcggctggc gtggtactct ctcccaactg gccagagccc tacggtcgtg 2040

ggcaggattg tatctggggt gtgcatgtgg aagaggacaa gcgcatcatg ctggacatcc 2100

gagtgctgcg cataggccct ggtgatgtgc ttaccttcta tgatggggat gacctgacgg 2160

cccgggttct gggccagtac tcagggcccc gtagccactt caagctcttt acctccatgg 2220

ctgatgtcac cattcagttc cagtcggacc ccgggacctc agtgctgggc taccagcagg 2280

gcttcgtcat ccacttcttt gaggtgcccc gcaatgacac atgtccggag ctgcctgaga 2340

tccccaatgg ctggaagagc ccatcgcagc ctgagctagt gcacggcacc gtggtcactt 2400

accagtgcta ccctggctac caggtagtgg gatccagtgt cctcatgtgc cagtgggacc 2460

taacttggag tgaggacctg ccctcatgcc agagggtgac ttcctgccac gatcctggag 2520

atgtggagca cagccgacgc ctcatatcca gccccaagtt tcccgtgggg gccaccgtgc 2580

aatatatctg tgaccagggt tttgtgctga tgggcagctc catcctcacc tgccatgatc 2640

gccaggctgg cagccccaag tggagtgacc gggcccctaa atgtctcctg gaacagctca 2700

agccatgcca tggtctcagt gcccctgaga atggtgcccg aagtcctgag aagcagctac 2760

acccagcagg ggccaccatc cacttctcgt gtgcccctgg ctatgtgctg aagggccagg 2820

ccagcatcaa gtgtgtgcct gggcaccccc cgcattggag tgacccccca cccatctgta 2880

gggctgcctc tctggatggg ttctacaaca gtcgcagcct ggatgttgcc aaggcacctg 2940

ctgcctccag caccctggat gctgcccaca ttgcagctgc catcttcttg ccactggtgg 3000

cgatggtgtt gttggtagga ggtgtatact tctacttctc caggctccag ggaaaaagct 3060

ccctgcagct gccccgcccc cgcccccgcc cctacaaccg cattaccata gagtcagcgt 3120

ttgacaatcc aacttacgag actggagaga cgagagaata tgaagtctcc atctaggtgg 3180

gggcagtcta gggaagtcaa ctcagacttg caccacagtc cagcagcaag gctccttgct 3240

tcctgctgtc cctccacctc ctgtatatac cacctaggag gagatgccac caagccctca 3300

agaagttgtg cccttccccg cctgcgatgc ccaccatggc ctattttctt ggtgtcattg 3360

cccacttggg gcccttcatt gggcccatgt caggggggcat ctacctgtgg gaagaacata 3420

gctggagcac aagcatcaac agccagcatc ctgagcctcc tcatgccctg gaccagcctg 3480

gaacacacta gcagagcagg agtacctttc tccacatgac caccatcccg ccctggcatg 3540

gcaacctgca gcaggattaa cttgaccatg gtgggaactg caccagggta ctcctcacag 3600

cgccatcacc aatggccaaa actcctctca acggtgacct ctgggtagtc ctggcatgcc 3660

aacatcagcc tcttgggagg tctctagttc tctaaagttc tggacagttc tgcctcctgc 3720

cctgtcccag tggaggcagt aattctagga gatcctaagg ggttcagggg gaccctaccc 3780

ccacctcagg ttgggcttcc ctgggcactc atgctccaca ccaaagcagg acacgccatt 3840

ttccactgac caccctatac cctgaggaaa gggagacttt cctccgatgt ttatttagct 3900

gttgcaaaca tcttcaccct aatagtccct cctccaattc cagccacttg tcaggctctc 3960

ctcttgacca ctgtgttatg ggataagggg agggggtggg catattctgg agaggagcag 4020

aggtccaagg acccaggaat ttggcatgga acaggtggta ggagagcccc agggagacgc 4080

ccaggagctg gctgaaagcc actttgtaca tgtaatgtat tatatggggt ctgggctcca 4140

gccagagaac aatcttttat ttctgttgtt tccttattaa aatggtgttt ttggaaaaaa 4200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa 4234

<210> 3
<211> 994
<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 3

Met Arg Pro Val Ala Leu Leu Leu Leu Pro Ser Leu Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15

Ala His Gly Leu Ser Leu Glu Ala Pro Thr Val Gly Lys Gly Gln Ala
20 25 30

Pro Gly Ile Glu Glu Thr Asp Gly Glu Leu Thr Ala Ala Pro Thr Pro
35 40 45

Glu Gln Pro Glu Arg Gly Val His Phe Val Thr Thr Ala Pro Thr Leu
50 55 60

Lys Leu Leu Asn His His Pro Leu Leu Glu Glu Phe Leu Gln Glu Gly
65 70 75 80

Leu Glu Lys Gly Asp Glu Glu Leu Arg Pro Ala Leu Pro Phe Gln Pro
85 90 95

Asp Pro Pro Ala Pro Phe Thr Pro Ser Pro Leu Pro Arg Leu Ala Asn
100 105 110

Gln Asp Ser Arg Pro Val Phe Thr Ser Pro Thr Pro Ala Met Ala Ala
115 120 125

Val Pro Thr Gln Pro Gln Ser Lys Glu Gly Pro Trp Ser Pro Glu Ser
130 135 140

Glu Ser Pro Met Leu Arg Ile Thr Ala Pro Leu Pro Pro Gly Pro Ser
145 150 155 160

Met Ala Val Pro Thr Leu Gly Pro Gly Glu Ile Ala Ser Thr Thr Pro
165 170 175

Pro Ser Arg Ala Trp Thr Pro Thr Gln Glu Gly Pro Gly Asp Met Gly
180 185 190

Arg Pro Trp Val Ala Glu Val Val Ser Gln Gly Ala Gly Ile Gly Ile
195 200 205

Gln Gly Thr Ile Thr Ser Ser Thr Ala Ser Gly Asp Asp Glu Glu Thr
210 215 220

Thr Thr Thr Thr Thr Ile Ile Thr Thr Thr Ile Thr Thr Val Gln Thr
225 230 235 240

Pro Gly Pro Cys Ser Trp Asn Phe Ser Gly Pro Glu Gly Ser Leu Asp

245 250 255

Ser Pro Thr Asp Leu Ser Ser Pro Thr Asp Val Gly Leu Asp Cys Phe
260 265 270

Phe Tyr Ile Ser Val Tyr Pro Gly Tyr Gly Val Glu Ile Lys Val Gln
275 280 285

Asn Ile Ser Leu Arg Glu Gly Glu Thr Val Thr Val Glu Gly Leu Gly
290 295 300

Gly Pro Asp Pro Leu Pro Leu Ala Asn Gln Ser Phe Leu Leu Arg Gly
305 310 315 320

Gln Val Ile Arg Ser Pro Thr His Gln Ala Ala Leu Arg Phe Gln Ser
325 330 335

Leu Pro Pro Pro Ala Gly Pro Gly Thr Phe His Phe His Tyr Gln Ala
340 345 350

Tyr Leu Leu Ser Cys His Phe Pro Arg Arg Pro Ala Tyr Gly Asp Val
355 360 365

Thr Val Thr Ser Leu His Pro Gly Gly Ser Ala Arg Phe His Cys Ala
370 375 380

Thr Gly Tyr Gln Leu Lys Gly Ala Arg His Leu Thr Cys Leu Asn Ala
385 390 395 400

Thr Gln Pro Phe Trp Asp Ser Lys Glu Pro Val Cys Ile Ala Ala Cys
405 410 415

Gly Gly Val Ile Arg Asn Ala Thr Thr Gly Arg Ile Val Ser Pro Gly
420 425 430

Phe Pro Gly Asn Tyr Ser Asn Asn Leu Thr Cys His Trp Leu Leu Glu
435 440 445

Ala Pro Glu Gly Gln Arg Leu His Leu His Phe Glu Lys Val Ser Leu
450 455 460

Ala Glu Asp Asp Asp Arg Leu Ile Ile Arg Asn Gly Asp Asn Val Glu
465 470 475 480

Ala Pro Pro Val Tyr Asp Ser Tyr Glu Val Glu Tyr Leu Pro Ile Glu
485 490 495

Gly Leu Leu Ser Ser Gly Lys His Phe Phe Val Glu Leu Ser Thr Asp

500 505 510

Ser Ser Gly Ala Ala Ala Gly Met Ala Leu Arg Tyr Glu Ala Phe Gln
515 520 525

Gln Gly His Cys Tyr Glu Pro Phe Val Lys Tyr Gly Asn Phe Ser Ser
530 535 540

Ser Thr Pro Thr Tyr Pro Val Gly Thr Thr Val Glu Phe Ser Cys Asp
545 550 555 560

Pro Gly Tyr Thr Leu Glu Gln Gly Ser Ile Ile Ile Glu Cys Val Asp
565 570 575

Pro His Asp Pro Gln Trp Asn Glu Thr Glu Pro Ala Cys Arg Ala Val
580 585 590

Cys Ser Gly Glu Ile Thr Asp Ser Ala Gly Val Val Leu Ser Pro Asn
595 600 605

Trp Pro Glu Pro Tyr Gly Arg Gly Gln Asp Cys Ile Trp Gly Val His
610 615 620

Val Glu Glu Asp Lys Arg Ile Met Leu Asp Ile Arg Val Leu Arg Ile
625 630 635 640

Gly Pro Gly Asp Val Leu Thr Phe Tyr Asp Gly Asp Asp Leu Thr Ala
645 650 655

Arg Val Leu Gly Gln Tyr Ser Gly Pro Arg Ser His Phe Lys Leu Phe
660 665 670

Thr Ser Met Ala Asp Val Thr Ile Gln Phe Gln Ser Asp Pro Gly Thr
675 680 685

Ser Val Leu Gly Tyr Gln Gln Gly Phe Val Ile His Phe Phe Glu Val
690 695 700

Pro Arg Asn Asp Thr Cys Pro Glu Leu Pro Glu Ile Pro Asn Gly Trp
705 710 715 720

Lys Ser Pro Ser Gln Pro Glu Leu Val His Gly Thr Val Val Thr Tyr
725 730 735

Gln Cys Tyr Pro Gly Tyr Gln Val Val Gly Ser Ser Val Leu Met Cys
740 745 750

Gln Trp Asp Leu Thr Trp Ser Glu Asp Leu Pro Ser Cys Gln Arg Val

755 760 765

Thr Ser Cys His Asp Pro Gly Asp Val Glu His Ser Arg Arg Leu Ile
770 775 780

Ser Ser Pro Lys Phe Pro Val Gly Ala Thr Val Gln Tyr Ile Cys Asp
785 790 795 800

Gln Gly Phe Val Leu Met Gly Ser Ser Ile Leu Thr Cys His Asp Arg
805 810 815

Gln Ala Gly Ser Pro Lys Trp Ser Asp Arg Ala Pro Lys Cys Leu Leu
820 825 830

Glu Gln Leu Lys Pro Cys His Gly Leu Ser Ala Pro Glu Asn Gly Ala
835 840 845

Arg Ser Pro Glu Lys Gln Leu His Pro Ala Gly Ala Thr Ile His Phe
850 855 860

Ser Cys Ala Pro Gly Tyr Val Leu Lys Gly Gln Ala Ser Ile Lys Cys
865 870 875 880

Val Pro Gly His Pro Ser His Trp Ser Asp Pro Pro Pro Ile Cys Arg
885 890 895

Ala Ala Ser Leu Asp Gly Phe Tyr Asn Ser Arg Ser Leu Asp Val Ala
900 905 910

Lys Ala Pro Ala Ala Ser Ser Thr Leu Asp Ala Ala His Ile Ala Ala
915 920 925

Ala Ile Phe Leu Pro Leu Val Ala Met Val Leu Leu Val Gly Gly Val
930 935 940

Tyr Phe Tyr Phe Ser Arg Leu Gln Gly Lys Ser Ser Leu Gln Leu Pro
945 950 955 960

Arg Pro Arg Pro Arg Pro Tyr Asn Arg Ile Thr Ile Glu Ser Ala Phe
965 970 975

Asp Asn Pro Thr Tyr Glu Thr Gly Ser Leu Ser Phe Ala Gly Asp Glu
980 985 990

Arg Ile

<210> 4

<211> 993
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 4

```
Met Arg Pro Val Ala Leu Leu Leu Leu Pro Ser Leu Leu Ala Leu Leu
1               5                  10                  15

Ala His Gly Leu Ser Leu Glu Ala Pro Thr Val Gly Lys Gly Gln Ala
            20                  25                  30

Pro Gly Ile Glu Glu Thr Asp Gly Glu Leu Thr Ala Ala Pro Thr Pro
        35                  40                  45

Glu Gln Pro Glu Arg Gly Val His Phe Val Thr Thr Ala Pro Thr Leu
    50                  55                  60

Lys Leu Leu Asn His His Pro Leu Leu Glu Glu Phe Leu Gln Glu Gly
65                  70                  75                  80

Leu Glu Lys Gly Asp Glu Glu Leu Arg Pro Ala Leu Pro Phe Gln Pro
                85                  90                  95

Asp Pro Pro Ala Pro Phe Thr Pro Ser Pro Leu Pro Arg Leu Ala Asn
            100                 105                 110

Gln Asp Ser Arg Pro Val Phe Thr Ser Pro Thr Pro Ala Met Ala Ala
        115                 120                 125

Val Pro Thr Gln Pro Gln Ser Lys Glu Gly Pro Trp Ser Pro Glu Ser
    130                 135                 140

Glu Ser Pro Met Leu Arg Ile Thr Ala Pro Leu Pro Pro Gly Pro Ser
145                 150                 155                 160

Met Ala Val Pro Thr Leu Gly Pro Gly Glu Ile Ala Ser Thr Thr Pro
                165                 170                 175

Pro Ser Arg Ala Trp Thr Pro Thr Gln Glu Gly Pro Gly Asp Met Gly
            180                 185                 190

Arg Pro Trp Val Ala Glu Val Val Ser Gln Gly Ala Gly Ile Gly Ile
        195                 200                 205

Gln Gly Thr Ile Thr Ser Ser Thr Ala Ser Gly Asp Asp Glu Glu Thr
    210                 215                 220

Thr Thr Thr Thr Thr Ile Ile Thr Thr Thr Ile Thr Thr Val Gln Thr
225                 230                 235                 240
```

Pro Gly Pro Cys Ser Trp Asn Phe Ser Gly Pro Glu Gly Ser Leu Asp
245 250 255

Ser Pro Thr Asp Leu Ser Ser Pro Thr Asp Val Gly Leu Asp Cys Phe
260 265 270

Phe Tyr Ile Ser Val Tyr Pro Gly Tyr Gly Val Glu Ile Lys Val Gln
275 280 285

Asn Ile Ser Leu Arg Glu Gly Glu Thr Val Thr Val Glu Gly Leu Gly
290 295 300

Gly Pro Asp Pro Leu Pro Leu Ala Asn Gln Ser Phe Leu Leu Arg Gly
305 310 315 320

Gln Val Ile Arg Ser Pro Thr His Gln Ala Ala Leu Arg Phe Gln Ser
325 330 335

Leu Pro Pro Pro Ala Gly Pro Gly Thr Phe His Phe His Tyr Gln Ala
340 345 350

Tyr Leu Leu Ser Cys His Phe Pro Arg Arg Pro Ala Tyr Gly Asp Val
355 360 365

Thr Val Thr Ser Leu His Pro Gly Gly Ser Ala Arg Phe His Cys Ala
370 375 380

Thr Gly Tyr Gln Leu Lys Gly Ala Arg His Leu Thr Cys Leu Asn Ala
385 390 395 400

Thr Gln Pro Phe Trp Asp Ser Lys Glu Pro Val Cys Ile Ala Ala Cys
405 410 415

Gly Gly Val Ile Arg Asn Ala Thr Thr Gly Arg Ile Val Ser Pro Gly
420 425 430

Phe Pro Gly Asn Tyr Ser Asn Asn Leu Thr Cys His Trp Leu Leu Glu
435 440 445

Ala Pro Glu Gly Gln Arg Leu His Leu His Phe Glu Lys Val Ser Leu
450 455 460

Ala Glu Asp Asp Asp Arg Leu Ile Ile Arg Asn Gly Asp Asn Val Glu
465 470 475 480

Ala Pro Pro Val Tyr Asp Ser Tyr Glu Val Glu Tyr Leu Pro Ile Glu
485 490 495

Gly Leu Leu Ser Ser Gly Lys His Phe Phe Val Glu Leu Ser Thr Asp
500 505 510

Ser Ser Gly Ala Ala Ala Gly Met Ala Leu Arg Tyr Glu Ala Phe Gln
515 520 525

Gln Gly His Cys Tyr Glu Pro Phe Val Lys Tyr Gly Asn Phe Ser Ser
530 535 540

Ser Thr Pro Thr Tyr Pro Val Gly Thr Thr Val Glu Phe Ser Cys Asp
545 550 555 560

Pro Gly Tyr Thr Leu Glu Gln Gly Ser Ile Ile Ile Glu Cys Val Asp
565 570 575

Pro His Asp Pro Gln Trp Asn Glu Thr Glu Pro Ala Cys Arg Ala Val
580 585 590

Cys Ser Gly Glu Ile Thr Asp Ser Ala Gly Val Val Leu Ser Pro Asn
595 600 605

Trp Pro Glu Pro Tyr Gly Arg Gly Gln Asp Cys Ile Trp Gly Val His
610 615 620

Val Glu Glu Asp Lys Arg Ile Met Leu Asp Ile Arg Val Leu Arg Ile
625 630 635 640

Gly Pro Gly Asp Val Leu Thr Phe Tyr Asp Gly Asp Asp Leu Thr Ala
645 650 655

Arg Val Leu Gly Gln Tyr Ser Gly Pro Arg Ser His Phe Lys Leu Phe
660 665 670

Thr Ser Met Ala Asp Val Thr Ile Gln Phe Gln Ser Asp Pro Gly Thr
675 680 685

Ser Val Leu Gly Tyr Gln Gln Gly Phe Val Ile His Phe Phe Glu Val
690 695 700

Pro Arg Asn Asp Thr Cys Pro Glu Leu Pro Glu Ile Pro Asn Gly Trp
705 710 715 720

Lys Ser Pro Ser Gln Pro Glu Leu Val His Gly Thr Val Val Thr Tyr
725 730 735

Gln Cys Tyr Pro Gly Tyr Gln Val Val Gly Ser Ser Val Leu Met Cys
740 745 750

Gln Trp Asp Leu Thr Trp Ser Glu Asp Leu Pro Ser Cys Gln Arg Val
755 760 765

Thr Ser Cys His Asp Pro Gly Asp Val Glu His Ser Arg Arg Leu Ile
770 775 780

Ser Ser Pro Lys Phe Pro Val Gly Ala Thr Val Gln Tyr Ile Cys Asp
785 790 795 800

Gln Gly Phe Val Leu Met Gly Ser Ser Ile Leu Thr Cys His Asp Arg
805 810 815

Gln Ala Gly Ser Pro Lys Trp Ser Asp Arg Ala Pro Lys Cys Leu Leu
820 825 830

Glu Gln Leu Lys Pro Cys His Gly Leu Ser Ala Pro Glu Asn Gly Ala
835 840 845

Arg Ser Pro Glu Lys Gln Leu His Pro Ala Gly Ala Thr Ile His Phe
850 855 860

Ser Cys Ala Pro Gly Tyr Val Leu Lys Gly Gln Ala Ser Ile Lys Cys
865 870 875 880

Val Pro Gly His Pro Ser His Trp Ser Asp Pro Pro Pro Ile Cys Arg
885 890 895

Ala Ala Ser Leu Asp Gly Phe Tyr Asn Ser Arg Ser Leu Asp Val Ala
900 905 910

Lys Ala Pro Ala Ala Ser Ser Thr Leu Asp Ala Ala His Ile Ala Ala
915 920 925

Ala Ile Phe Leu Pro Leu Val Ala Met Val Leu Leu Val Gly Gly Val
930 935 940

Tyr Phe Tyr Phe Ser Arg Leu Gln Gly Lys Ser Ser Leu Gln Leu Pro
945 950 955 960

Arg Pro Arg Pro Arg Pro Tyr Asn Arg Ile Thr Ile Glu Ser Ala Phe
965 970 975

Asp Asn Pro Thr Tyr Glu Thr Gly Glu Thr Arg Glu Tyr Glu Val Ser
980 985 990

Ile

<210> 5
<211> 2925
<212> ADN
<213> Người hiện đại

<400> 5
ctgagcctgg aggccccaac cgtggggaaa ggacaagccc caggcatcga ggagacagat 60

ggcgagctga cagcagcccc cacacctgag cagccagaac gaggcgtcca ctttgtcaca 120

acagccccca ccttgaagct gctcaaccac cacccgctgc ttgaggaatt cctacaagag 180

gggctggaaa agggagatga ggagttgagg ccagcactgc ccttccagcc tgacccacct 240

gcacccttca ccccaagtcc ccttccccgc ctggccaacc aggacagccg ccctgtcttt 300

accagcccca ctccagccat ggctgcggta cccactcagc cccagtccaa ggagggaccc 360

tggagtccgg agtcagagtc ccctatgctt cgaatcacag ctcccctacc tccagggccc 420

agcatggcag tgcccaccct aggcccaggg gagatagcca gcactacacc ccccagcaga 480

gcctggacac caacccaaga gggtcctgga gacatgggaa ggccgtgggt tgcagaggtt 540

gtgtcccagg gcgcggggat cgggatccag gggaccatca cctcctccac agcttcagga 600

gatgatgagg agaccaccac taccaccacc atcatcacca ccaccatcac cacagtccag 660

acaccaggcc cttgtagctg gaatttctca ggcccagagg gctctctgga ctcccctaca 720

gacctcagct cccccactga tgttggcctg gactgcttct tctacatctc tgtctaccct 780

ggctatggcg tggaaatcaa ggtccagaat atcagcctcc gggaagggga gacagtgact 840

gtggaaggcc tgggggggcc cgacccactg cccctggcca accagtcttt cctgctgcgg 900

ggccaagtca tccgcagccc cacccaccaa gcggccctga ggttccagag cctcccgcca 960

ccggctggcc ctggcacctt ccatttccat taccaagcct atctcctgag ctgccacttt 1020

ccccgtcgtc cagcttatgg agatgtgact gtcaccagcc tccacccagg gggtagtgcc 1080

cgcttccatt gtgccactgg ctaccagctg aagggcgcca ggcatctcac ctgtctcaat 1140

gccacccagc ccttctggga ttcaaaggag cccgtctgca tcgctgcttg cggcggagtg 1200

atccgcaatg ccaccaccgg ccgcatcgtc tctccaggct tcccgggcaa ctacagcaac 1260

aacctcacct gtcactggct gcttgaggct cctgagggcc agcggctaca cctgcacttt 1320

gagaaggttt ccctggcaga ggatgatgac aggctcatca ttcgcaatgg ggacaacgtg 1380

gaggccccac cagtgtatga ttcctatgag gtggaatacc tgcccattga gggcctgctc 1440

agctctggca aacacttctt tgttgagctc agtactgaca gcagcggggc agctgcaggc 1500

atggccctgc gctatgaggc cttccagcag ggccattgct atgagccctt tgtcaaatac 1560

ggtaacttca gcagcagcac acccacctac cctgtgggta ccactgtgga gttcagctgc 1620

gaccctggct acaccctgga gcagggctcc atcatcatcg agtgtgttga cccccacgac 1680

ccccagtgga atgagacaga gccagcctgc cgagccgtgt gcagcgggga gatcacagac 1740

tcggctggcg tggtactctc tcccaactgg ccagagccct acggtcgtgg gcaggattgt 1800

atctggggtg tgcatgtgga agaggacaag cgcatcatgc tggacatccg agtgctgcgc 1860

ataggccctg gtgatgtgct taccttctat gatggggatg acctgacggc ccgggttctg 1920

ggccagtact cagggccccg tagccacttc aagctcttta cctccatggc tgatgtcacc 1980

attcagttcc agtcggaccc cgggacctca gtgctgggct accagcaggg cttcgtcatc 2040

cacttctttg aggtgccccg caatgacaca tgtccggagc tgcctgagat ccccaatggc 2100

tggaagagcc catcgcagcc tgagctagtg cacggcaccg tggtcactta ccagtgctac 2160

cctggctacc aggtagtggg atccagtgtc ctcatgtgcc agtgggacct aacttggagt 2220

gaggacctgc cctcatgcca gagggtgact tcctgccacg atcctggaga tgtggagcac 2280

agccgacgcc tcatatccag ccccaagttt cccgtggggg ccaccgtgca atatatctgt 2340

gaccagggtt ttgtgctgat gggcagctcc atcctcacct gccatgatcg ccaggctggc 2400

agccccaagt ggagtgaccg ggcccctaaa tgtctcctgg aacagctcaa gccatgccat 2460

ggtctcagtg cccctgagaa tggtgcccga agtcctgaga agcagctaca cccagcaggg 2520

gccaccatcc acttctcgtg tgcccctggc tatgtgctga agggccaggc cagcatcaag 2580

tgtgtgcctg ggcacccctc gcattggagt gacccccac ccatctgtag ggctgcctct 2640

ctggatgggt tctacaacag tcgcagcctg gatgttgcca aggcacctgc tgcctccagc 2700

accctggatg ctgcccacat tgcagctgcc atcttcttgc cactggtggc gatggtgttg 2760

ttggtaggag gtgtatactt ctacttctcc aggctccagg gaaaaagctc cctgcagctg 2820

ccccgccccc gcccccgccc ctacaaccgc attaccatag agtcagcgtt tgacaatcca 2880

acttacgaga ctggatctct ttcctttgca ggagacgaga gaata 2925

<210> 6
<211> 975
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 6

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

Glu	Glu	Thr	Asp	Gly	Glu	Leu	Thr	Ala	Ala	Pro	Thr	Pro	Glu	Gln	Pro
			20					25					30		

Glu	Arg	Gly	Val	His	Phe	Val	Thr	Thr	Ala	Pro	Thr	Leu	Lys	Leu	Leu
		35					40					45			

Asn	His	His	Pro	Leu	Leu	Glu	Glu	Phe	Leu	Gln	Glu	Gly	Leu	Glu	Lys
	50					55					60				

Gly Asp Glu Glu Leu Arg Pro Ala Leu Pro Phe Gln Pro Asp Pro Pro
65 70 75 80

Ala Pro Phe Thr Pro Ser Pro Leu Pro Arg Leu Ala Asn Gln Asp Ser
85 90 95

Arg Pro Val Phe Thr Ser Pro Thr Pro Ala Met Ala Ala Val Pro Thr
100 105 110

Gln Pro Gln Ser Lys Glu Gly Pro Trp Ser Pro Glu Ser Glu Ser Pro
115 120 125

Met Leu Arg Ile Thr Ala Pro Leu Pro Pro Gly Pro Ser Met Ala Val
130 135 140

Pro Thr Leu Gly Pro Gly Glu Ile Ala Ser Thr Thr Pro Pro Ser Arg
145 150 155 160

Ala Trp Thr Pro Thr Gln Glu Gly Pro Gly Asp Met Gly Arg Pro Trp
165 170 175

Val Ala Glu Val Val Ser Gln Gly Ala Gly Ile Gly Ile Gln Gly Thr
180 185 190

Ile Thr Ser Ser Thr Ala Ser Gly Asp Asp Glu Glu Thr Thr Thr Thr
195 200 205

Thr Thr Ile Ile Thr Thr Thr Ile Thr Thr Val Gln Thr Pro Gly Pro
210 215 220

Cys Ser Trp Asn Phe Ser Gly Pro Glu Gly Ser Leu Asp Ser Pro Thr
225 230 235 240

Asp Leu Ser Ser Pro Thr Asp Val Gly Leu Asp Cys Phe Phe Tyr Ile
245 250 255

Ser Val Tyr Pro Gly Tyr Gly Val Glu Ile Lys Val Gln Asn Ile Ser
260 265 270

Leu Arg Glu Gly Glu Thr Val Thr Val Glu Gly Leu Gly Gly Pro Asp
275 280 285

Pro Leu Pro Leu Ala Asn Gln Ser Phe Leu Leu Arg Gly Gln Val Ile
290 295 300

Arg Ser Pro Thr His Gln Ala Ala Leu Arg Phe Gln Ser Leu Pro Pro
305 310 315 320

Pro Ala Gly Pro Gly Thr Phe His Phe His Tyr Gln Ala Tyr Leu Leu
325 330 335

Ser Cys His Phe Pro Arg Arg Pro Ala Tyr Gly Asp Val Thr Val Thr
340 345 350

Ser Leu His Pro Gly Gly Ser Ala Arg Phe His Cys Ala Thr Gly Tyr
355 360 365

Gln Leu Lys Gly Ala Arg His Leu Thr Cys Leu Asn Ala Thr Gln Pro
370 375 380

Phe Trp Asp Ser Lys Glu Pro Val Cys Ile Ala Ala Cys Gly Gly Val
385 390 395 400

Ile Arg Asn Ala Thr Thr Gly Arg Ile Val Ser Pro Gly Phe Pro Gly
405 410 415

Asn Tyr Ser Asn Asn Leu Thr Cys His Trp Leu Leu Glu Ala Pro Glu
420 425 430

Gly Gln Arg Leu His Leu His Phe Glu Lys Val Ser Leu Ala Glu Asp
435 440 445

Asp Asp Arg Leu Ile Ile Arg Asn Gly Asp Asn Val Glu Ala Pro Pro
450 455 460

Val Tyr Asp Ser Tyr Glu Val Glu Tyr Leu Pro Ile Glu Gly Leu Leu
465 470 475 480

Ser Ser Gly Lys His Phe Phe Val Glu Leu Ser Thr Asp Ser Ser Gly
485 490 495

Ala Ala Ala Gly Met Ala Leu Arg Tyr Glu Ala Phe Gln Gln Gly His
500 505 510

Cys Tyr Glu Pro Phe Val Lys Tyr Gly Asn Phe Ser Ser Ser Thr Pro
515 520 525

Thr Tyr Pro Val Gly Thr Thr Val Glu Phe Ser Cys Asp Pro Gly Tyr
530 535 540

Thr Leu Glu Gln Gly Ser Ile Ile Ile Glu Cys Val Asp Pro His Asp
545 550 555 560

Pro Gln Trp Asn Glu Thr Glu Pro Ala Cys Arg Ala Val Cys Ser Gly
565 570 575

Glu Ile Thr Asp Ser Ala Gly Val Val Leu Ser Pro Asn Trp Pro Glu
580 585 590

Pro Tyr Gly Arg Gly Gln Asp Cys Ile Trp Gly Val His Val Glu Glu
595 600 605

Asp Lys Arg Ile Met Leu Asp Ile Arg Val Leu Arg Ile Gly Pro Gly
610 615 620

Asp Val Leu Thr Phe Tyr Asp Gly Asp Asp Leu Thr Ala Arg Val Leu
625 630 635 640

Gly Gln Tyr Ser Gly Pro Arg Ser His Phe Lys Leu Phe Thr Ser Met
645 650 655

Ala Asp Val Thr Ile Gln Phe Gln Ser Asp Pro Gly Thr Ser Val Leu
660 665 670

Gly Tyr Gln Gln Gly Phe Val Ile His Phe Phe Glu Val Pro Arg Asn
675 680 685

Asp Thr Cys Pro Glu Leu Pro Glu Ile Pro Asn Gly Trp Lys Ser Pro
690 695 700

Ser Gln Pro Glu Leu Val His Gly Thr Val Val Thr Tyr Gln Cys Tyr
705 710 715 720

Pro Gly Tyr Gln Val Val Gly Ser Ser Val Leu Met Cys Gln Trp Asp
725 730 735

Leu Thr Trp Ser Glu Asp Leu Pro Ser Cys Gln Arg Val Thr Ser Cys
740 745 750

His Asp Pro Gly Asp Val Glu His Ser Arg Arg Leu Ile Ser Ser Pro
755 760 765

Lys Phe Pro Val Gly Ala Thr Val Gln Tyr Ile Cys Asp Gln Gly Phe
770 775 780

Val Leu Met Gly Ser Ser Ile Leu Thr Cys His Asp Arg Gln Ala Gly
785 790 795 800

Ser Pro Lys Trp Ser Asp Arg Ala Pro Lys Cys Leu Leu Glu Gln Leu
805 810 815

Lys Pro Cys His Gly Leu Ser Ala Pro Glu Asn Gly Ala Arg Ser Pro
820 825 830

Glu Lys Gln Leu His Pro Ala Gly Ala Thr Ile His Phe Ser Cys Ala
835 840 845

Pro Gly Tyr Val Leu Lys Gly Gln Ala Ser Ile Lys Cys Val Pro Gly
850 855 860

His Pro Ser His Trp Ser Asp Pro Pro Pro Ile Cys Arg Ala Ala Ser
865 870 875 880

Leu Asp Gly Phe Tyr Asn Ser Arg Ser Leu Asp Val Ala Lys Ala Pro
885 890 895

Ala Ala Ser Ser Thr Leu Asp Ala Ala His Ile Ala Ala Ala Ile Phe
900 905 910

Leu Pro Leu Val Ala Met Val Leu Leu Val Gly Gly Val Tyr Phe Tyr
915 920 925

Phe Ser Arg Leu Gln Gly Lys Ser Ser Leu Gln Leu Pro Arg Pro Arg
930 935 940

Pro Arg Pro Tyr Asn Arg Ile Thr Ile Glu Ser Ala Phe Asp Asn Pro
945 950 955 960

Thr Tyr Glu Thr Gly Ser Leu Ser Phe Ala Gly Asp Glu Arg Ile
965 970 975

<210> 7
<211> 994
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 7
Met Arg Pro Val Ala Leu Leu Leu Leu Pro Ser Leu Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15

Ala His Gly Leu Ser Leu Glu Ala Pro Thr Val Gly Lys Gly Gln Ala
20 25 30

Pro Gly Ile Glu Glu Thr Asp Gly Glu Leu Thr Ala Ala Pro Thr Pro
35 40 45

Glu Gln Pro Glu Arg Gly Val His Phe Val Thr Thr Ala Pro Thr Leu
50 55 60

Lys Leu Leu Asn His His Pro Leu Leu Glu Glu Phe Leu Gln Glu Gly
65 70 75 80

Leu Glu Lys Gly Asp Glu Glu Leu Arg Pro Ala Leu Pro Phe Gln Pro
85 90 95

Asp Pro Pro Ala Pro Phe Thr Pro Ser Pro Leu Pro Arg Leu Ala Asn
100 105 110

Gln Asp Ser Arg Pro Val Phe Thr Ser Pro Thr Pro Ala Met Ala Ala
115 120 125

Val Pro Thr Gln Pro Gln Ser Lys Glu Gly Pro Trp Ser Pro Glu Ser
130 135 140

Glu Ser Pro Met Leu Arg Ile Thr Ala Pro Leu Pro Pro Gly Pro Ser
145 150 155 160

Met Ala Val Pro Thr Leu Gly Pro Gly Glu Ile Ala Ser Thr Thr Pro
165 170 175

Pro Ser Arg Ala Trp Thr Pro Thr Gln Glu Gly Pro Gly Asp Met Gly
180 185 190

Arg Pro Trp Val Ala Glu Val Val Ser Gln Gly Ala Gly Ile Gly Ile
195 200 205

Gln Gly Thr Ile Thr Ser Ser Thr Ala Ser Gly Asp Asp Glu Glu Thr
210 215 220

Thr Thr Thr Thr Thr Ile Ile Thr Thr Thr Ile Thr Thr Val Gln Thr
225 230 235 240

Pro Gly Pro Cys Ser Trp Asn Phe Ser Gly Pro Glu Gly Ser Leu Asp
245 250 255

Ser Pro Thr Asp Leu Ser Ser Pro Thr Asp Val Gly Leu Asp Cys Phe
260 265 270

Phe Tyr Ile Ser Val Tyr Pro Gly Tyr Gly Val Glu Ile Lys Val Gln
275 280 285

Asn Ile Ser Leu Arg Glu Gly Glu Thr Val Thr Val Glu Gly Leu Gly
290 295 300

Gly Pro Asp Pro Leu Pro Leu Ala Asn Gln Ser Phe Leu Leu Arg Gly
305 310 315 320

Gln Val Ile Arg Ser Pro Thr His Gln Ala Ala Leu Arg Phe Gln Ser
325 330 335

Leu Pro Pro Pro Ala Gly Pro Gly Thr Phe His Phe His Tyr Gln Ala
340 345 350

Tyr Leu Leu Ser Cys His Phe Pro Arg Arg Pro Ala Tyr Gly Asp Val
355 360 365

Thr Val Thr Ser Leu His Pro Gly Gly Ser Ala Arg Phe His Cys Ala
370 375 380

Thr Gly Tyr Gln Leu Lys Gly Ala Arg His Leu Thr Cys Leu Asn Ala
385 390 395 400

Thr Gln Pro Phe Trp Asp Ser Lys Glu Pro Val Cys Ile Gly Glu Cys
405 410 415

Pro Gly Val Ile Arg Asn Ala Thr Thr Gly Arg Ile Val Ser Pro Gly
420 425 430

Phe Pro Gly Asn Tyr Ser Asn Asn Leu Thr Cys His Trp Leu Leu Glu
435 440 445

Ala Pro Glu Gly Gln Arg Leu His Leu His Phe Glu Lys Val Ser Leu
450 455 460

Ala Glu Asp Asp Asp Arg Leu Ile Ile Arg Asn Gly Asp Asn Val Glu
465 470 475 480

Ala Pro Pro Val Tyr Asp Ser Tyr Glu Val Glu Tyr Leu Pro Ile Glu
485 490 495

Gly Leu Leu Ser Ser Gly Lys His Phe Phe Val Glu Leu Ser Thr Asp
500 505 510

Ser Ser Gly Ala Ala Ala Gly Met Ala Leu Arg Tyr Glu Ala Phe Gln
515 520 525

Gln Gly His Cys Tyr Glu Pro Phe Val Lys Tyr Gly Asn Phe Ser Ser
530 535 540

Ser Thr Pro Thr Tyr Pro Val Gly Thr Thr Val Glu Phe Ser Cys Asp
545 550 555 560

Pro Gly Tyr Thr Leu Glu Gln Gly Ser Ile Ile Ile Glu Cys Val Asp
565 570 575

Pro His Asp Pro Gln Trp Asn Glu Thr Glu Pro Ala Cys Arg Ala Val
580 585 590

Cys Ser Gly Glu Ile Thr Asp Ser Ala Gly Val Val Leu Ser Pro Asn
595 600 605

Trp Pro Glu Pro Tyr Gly Arg Gly Gln Asp Cys Ile Trp Gly Val His
610 615 620

Val Glu Glu Asp Lys Arg Ile Met Leu Asp Ile Arg Val Leu Arg Ile
625 630 635 640

Gly Pro Gly Asp Val Leu Thr Phe Tyr Asp Gly Asp Asp Leu Thr Ala
645 650 655

Arg Val Leu Gly Gln Tyr Ser Gly Pro Arg Ser His Phe Lys Leu Phe
660 665 670

Thr Ser Met Ala Asp Val Thr Ile Gln Phe Gln Ser Asp Pro Gly Thr
675 680 685

Ser Val Leu Gly Tyr Gln Gln Gly Phe Val Ile His Phe Phe Glu Val
690 695 700

Pro Arg Asn Asp Thr Cys Pro Glu Leu Pro Glu Ile Pro Asn Gly Trp
705 710 715 720

Lys Ser Pro Ser Gln Pro Glu Leu Val His Gly Thr Val Val Thr Tyr
725 730 735

Gln Cys Tyr Pro Gly Tyr Gln Val Val Gly Ser Ser Val Leu Met Cys
740 745 750

Gln Trp Asp Leu Thr Trp Ser Glu Asp Leu Pro Ser Cys Gln Arg Val
755 760 765

Thr Ser Cys His Asp Pro Gly Asp Val Glu His Ser Arg Arg Leu Ile
770 775 780

Ser Ser Pro Lys Phe Pro Val Gly Ala Thr Val Gln Tyr Ile Cys Asp
785 790 795 800

Gln Gly Phe Val Leu Met Gly Ser Ser Ile Leu Thr Cys His Asp Arg
805 810 815

Gln Ala Gly Ser Pro Lys Trp Ser Asp Arg Ala Pro Lys Cys Leu Leu
820 825 830

Glu Gln Leu Lys Pro Cys His Gly Leu Ser Ala Pro Glu Asn Gly Ala
835 840 845

Arg Ser Pro Glu Lys Gln Leu His Pro Ala Gly Ala Thr Ile His Phe
850 855 860

Ser Cys Ala Pro Gly Tyr Val Leu Lys Gly Gln Ala Ser Ile Lys Cys
865 870 875 880

Val Pro Gly His Pro Ser His Trp Ser Asp Pro Pro Pro Ile Cys Arg
885 890 895

Ala Ala Ser Leu Asp Gly Phe Tyr Asn Ser Arg Ser Leu Asp Val Ala
900 905 910

Lys Ala Pro Ala Ala Ser Ser Thr Leu Asp Ala Ala His Ile Ala Ala
915 920 925

Ala Ile Phe Leu Pro Leu Val Ala Met Val Leu Leu Val Gly Gly Val
930 935 940

Tyr Phe Tyr Phe Ser Arg Leu Gln Gly Lys Ser Ser Leu Gln Leu Pro
945 950 955 960

Arg Pro Arg Pro Arg Pro Tyr Asn Arg Ile Thr Ile Glu Ser Ala Phe
965 970 975

Asp Asn Pro Thr Tyr Glu Thr Gly Ser Leu Ser Phe Ala Gly Asp Glu
980 985 990

Arg Ile

<210> 8
<211> 3483
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 8
atggagacag acacactcct gctatgggta ctgctgctct gggttcccgg gtccactggt 60

gacggcgcgc ctggatccct gagcctggag gccccaaccg tggggaaagg acaagcccca 120

ggcatcgagg agacagatgg cgagctgaca gcagccccca cacctgagca gccagaacga 180

ggcgtccact ttgtcacaac agcccccacc ttgaagctgc tcaaccacca cccgctgctt 240

gaggaattcc tacaagaggg gctggaaaag ggagatgagg agttgaggcc agcactgccc 300

ttccagcctg acccacctgc acccttcacc ccaagtcccc ttccccgcct ggccaaccag 360

gacagccgcc ctgtctttac cagccccact ccagccatgg ctgcggtacc cactcagccc 420

cagtccaagg agggaccctg gagtccggag tcagagtccc ctatgcttcg aatcacagct 480

cccctacctc cagggcccag catggcagtg cccaccctag gcccagggga gatagccagc 540

actacacccc ccagcagagc ctggacacca acccaagagg gtcctggaga catgggaagg 600

ccgtgggttg cagaggttgt gtcccagggc gcggggatcg ggatccaggg gaccatcacc 660

tcctccacag cttcaggaga tgatgaggag accaccacta ccaccaccat catcaccacc 720

accatcacca cagtccagac accaggccct tgtagctgga atttctcagg cccagagggc 780

tctctggact cccctacaga cctcagctcc cccactgatg ttggcctgga ctgcttcttc 840

tacatctctg tctaccctgg ctatggcgtg gaaatcaagg tccagaatat cagcctccgg 900

gaaggggaga cagtgactgt ggaaggcctg gggggggcccg acccactgcc cctggccaac 960

cagtctttcc tgctgcgggg ccaagtcatc cgcagcccca cccaccaagc ggccctgagg 1020

ttccagagcc tcccgccacc ggctggccct ggcaccttcc atttccatta ccaagcctat 1080

ctcctgagct gccactttcc ccgtcgtcca gcttatggag atgtgactgt caccagcctc 1140

cacccagggg gtagtgcccg cttccattgt gccactggct accagctgaa gggcgccagg 1200

catctcacct gtctcaatgc cacccagccc ttctgggatt caaaggagcc cgtctgcatc 1260

gctgcttgcg gcggagtgat ccgcaatgcc accaccggcc gcatcgtctc tccaggcttc 1320

ccgggcaact acagcaacaa cctcacctgt cactggctgc ttgaggctcc tgagggccag 1380

cggctacacc tgcactttga gaaggtttcc ctggcagagg atgatgacag gctcatcatt 1440

cgcaatgggg acaacgtgga ggccccacca gtgtatgatt cctatgaggt ggaatacctg 1500

cccattgagg gcctgctcag ctctggcaaa cacttctttg ttgagctcag tactgacagc 1560

agcggggcag ctgcaggcat ggccctgcgc tatgaggcct tccagcaggg ccattgctat 1620

gagccctttg tcaaatacgg taacttcagc agcagcacac ccacctaccc tgtgggtacc 1680

actgtggagt tcagctgcga ccctggctac accctggagc agggctccat catcatcgag 1740

tgtgttgacc cccacgaccc ccagtggaat gagacagagc cagcctgccg agccgtgtgc 1800

agcggggaga tcacagactc ggctggcgtg gtactctctc ccaactggcc agagccctac 1860

ggtcgtgggc aggattgtat ctggggtgtg catgtggaag aggacaagcg catcatgctg 1920

gacatccgag tgctgcgcat aggccctggt gatgtgctta ccttctatga tggggatgac 1980

ctgacggccc gggttctggg ccagtactca gggccccgta gccacttcaa gctctttacc 2040

tccatggctg atgtcaccat tcagttccag tcggaccccg ggacctcagt gctgggctac 2100

cagcagggct tcgtcatcca cttctttgag gtgccccgca atgacacatg tccggagctg 2160

cctgagatcc ccaatggctg gaagagccca tcgcagcctg agctagtgca cggcaccgtg 2220

gtcacttacc agtgctaccc tggctaccag gtagtgggat ccagtgtcct catgtgccag 2280

tgggacctaa cttggagtga ggacctgccc tcatgccaga gggtgacttc ctgccacgat 2340

cctggagatg tggagcacag ccgacgcctc atatccagcc ccaagtttcc cgtgggggcc 2400

accgtgcaat atatctgtga ccagggtttt gtgctgatgg gcagctccat cctcacctgc 2460

catgatcgcc aggctggcag ccccaagtgg agtgaccggg cccctaaatg tctcctggaa 2520

cagctcaagc catgccatgg tctcagtgcc cctgagaatg gtgcccgaag tcctgagaag 2580

cagctacacc cagcaggggc caccatccac ttctcgtgtg cccctggcta tgtgctgaag 2640

ggccaggcca gcatcaagtg tgtgcctggg caccccctcgc attggagtga ccccccaccc 2700

atctgtaggg ctgcctctct ggatgggttc tacaacagtc gcagcctgga tgttgccaag 2760

gcacctgctg cctccagcac cctggatgct gcccacctgg ccggccacag atctgtcgag 2820

tgcccaccgt gcccagcacc acctgtggca ggaccgtcag tcttcctctt cccccaaaa 2880

cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc cctgaggtca cgtgcgtggt ggtggacgtg 2940

agccacgaag accccgaggt ccagttcaac tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat 3000

gccaagacaa agccacggga ggagcagttc aacagcacgt tccgtgtggt cagcgtcctc 3060

accgttgtgc accaggactg gctgaacggc aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa 3120

ggcctcccag cccccatcga gaaaaccatc tccaaaacca aagggcagcc ccgagaacca 3180

caggtgtaca ccctgccccc atccagggag gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc 3240

tgcctggtca aaggcttcta ccccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag 3300

ccggagaaca actacaagac cacgcctccc atgctggact ccgacggctc cttcttcctc 3360

tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc 3420

gtgatgcatg aggctctgca caaccactac acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt 3480

tga 3483

<210> 9
<211> 1160
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 9
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Gly Ala Pro Gly Ser Leu Ser Leu Glu Ala Pro
20 25 30

Thr Val Gly Lys Gly Gln Ala Pro Gly Ile Glu Glu Thr Asp Gly Glu
35 40 45

Leu Thr Ala Ala Pro Thr Pro Glu Gln Pro Glu Arg Gly Val His Phe
50 55 60

Val Thr Thr Ala Pro Thr Leu Lys Leu Leu Asn His His Pro Leu Leu
65 70 75 80

Glu Glu Phe Leu Gln Glu Gly Leu Glu Lys Gly Asp Glu Glu Leu Arg
85 90 95

Pro Ala Leu Pro Phe Gln Pro Asp Pro Pro Ala Pro Phe Thr Pro Ser
100 105 110

Pro Leu Pro Arg Leu Ala Asn Gln Asp Ser Arg Pro Val Phe Thr Ser
115 120 125

Pro Thr Pro Ala Met Ala Ala Val Pro Thr Gln Pro Gln Ser Lys Glu
130 135 140

Gly Pro Trp Ser Pro Glu Ser Glu Ser Pro Met Leu Arg Ile Thr Ala
145 150 155 160

Pro Leu Pro Pro Gly Pro Ser Met Ala Val Pro Thr Leu Gly Pro Gly
165 170 175

Glu Ile Ala Ser Thr Thr Pro Pro Ser Arg Ala Trp Thr Pro Thr Gln
180 185 190

Glu Gly Pro Gly Asp Met Gly Arg Pro Trp Val Ala Glu Val Val Ser
195 200 205

Gln Gly Ala Gly Ile Gly Ile Gln Gly Thr Ile Thr Ser Ser Thr Ala
210 215 220

Ser Gly Asp Asp Glu Glu Thr Thr Thr Thr Thr Thr Ile Ile Thr Thr
225 230 235 240

Thr Ile Thr Thr Val Gln Thr Pro Gly Pro Cys Ser Trp Asn Phe Ser
245 250 255

Gly Pro Glu Gly Ser Leu Asp Ser Pro Thr Asp Leu Ser Ser Pro Thr
260 265 270

Asp Val Gly Leu Asp Cys Phe Phe Tyr Ile Ser Val Tyr Pro Gly Tyr
275 280 285

Gly Val Glu Ile Lys Val Gln Asn Ile Ser Leu Arg Glu Gly Glu Thr
290 295 300

Val Thr Val Glu Gly Leu Gly Gly Pro Asp Pro Leu Pro Leu Ala Asn
305 310 315 320

Gln Ser Phe Leu Leu Arg Gly Gln Val Ile Arg Ser Pro Thr His Gln
325 330 335

Ala Ala Leu Arg Phe Gln Ser Leu Pro Pro Pro Ala Gly Pro Gly Thr
340 345 350

Phe His Phe His Tyr Gln Ala Tyr Leu Leu Ser Cys His Phe Pro Arg
355 360 365

Arg Pro Ala Tyr Gly Asp Val Thr Val Thr Ser Leu His Pro Gly Gly
370 375 380

Ser Ala Arg Phe His Cys Ala Thr Gly Tyr Gln Leu Lys Gly Ala Arg
385 390 395 400

His Leu Thr Cys Leu Asn Ala Thr Gln Pro Phe Trp Asp Ser Lys Glu
405 410 415

Pro Val Cys Ile Ala Ala Cys Gly Gly Val Ile Arg Asn Ala Thr Thr
420 425 430

Gly Arg Ile Val Ser Pro Gly Phe Pro Gly Asn Tyr Ser Asn Asn Leu
435 440 445

Thr Cys His Trp Leu Leu Glu Ala Pro Glu Gly Gln Arg Leu His Leu
450 455 460

His Phe Glu Lys Val Ser Leu Ala Glu Asp Asp Asp Arg Leu Ile Ile
465 470 475 480

Arg Asn Gly Asp Asn Val Glu Ala Pro Pro Val Tyr Asp Ser Tyr Glu
485 490 495

Val Glu Tyr Leu Pro Ile Glu Gly Leu Leu Ser Ser Gly Lys His Phe
500 505 510

Phe Val Glu Leu Ser Thr Asp Ser Ser Gly Ala Ala Ala Gly Met Ala
515 520 525

Leu Arg Tyr Glu Ala Phe Gln Gln Gly His Cys Tyr Glu Pro Phe Val
530 535 540

Lys Tyr Gly Asn Phe Ser Ser Ser Thr Pro Thr Tyr Pro Val Gly Thr
545 550 555 560

Thr Val Glu Phe Ser Cys Asp Pro Gly Tyr Thr Leu Glu Gln Gly Ser
565 570 575

Ile Ile Ile Glu Cys Val Asp Pro His Asp Pro Gln Trp Asn Glu Thr
580 585 590

Glu Pro Ala Cys Arg Ala Val Cys Ser Gly Glu Ile Thr Asp Ser Ala
595 600 605

Gly Val Val Leu Ser Pro Asn Trp Pro Glu Pro Tyr Gly Arg Gly Gln
610 615 620

Asp Cys Ile Trp Gly Val His Val Glu Glu Asp Lys Arg Ile Met Leu
625 630 635 640

Asp Ile Arg Val Leu Arg Ile Gly Pro Gly Asp Val Leu Thr Phe Tyr
645 650 655

Asp Gly Asp Asp Leu Thr Ala Arg Val Leu Gly Gln Tyr Ser Gly Pro
660 665 670

Arg Ser His Phe Lys Leu Phe Thr Ser Met Ala Asp Val Thr Ile Gln
675 680 685

Phe Gln Ser Asp Pro Gly Thr Ser Val Leu Gly Tyr Gln Gln Gly Phe
690 695 700

Val Ile His Phe Phe Glu Val Pro Arg Asn Asp Thr Cys Pro Glu Leu
705 710 715 720

Pro Glu Ile Pro Asn Gly Trp Lys Ser Pro Ser Gln Pro Glu Leu Val
725 730 735

His Gly Thr Val Val Thr Tyr Gln Cys Tyr Pro Gly Tyr Gln Val Val
740 745 750

Gly Ser Ser Val Leu Met Cys Gln Trp Asp Leu Thr Trp Ser Glu Asp
755 760 765

Leu Pro Ser Cys Gln Arg Val Thr Ser Cys His Asp Pro Gly Asp Val
770 775 780

Glu His Ser Arg Arg Leu Ile Ser Ser Pro Lys Phe Pro Val Gly Ala
785 790 795 800

Thr Val Gln Tyr Ile Cys Asp Gln Gly Phe Val Leu Met Gly Ser Ser
805 810 815

Ile Leu Thr Cys His Asp Arg Gln Ala Gly Ser Pro Lys Trp Ser Asp
820 825 830

Arg Ala Pro Lys Cys Leu Leu Glu Gln Leu Lys Pro Cys His Gly Leu
835 840 845

Ser Ala Pro Glu Asn Gly Ala Arg Ser Pro Glu Lys Gln Leu His Pro
850 855 860

Ala Gly Ala Thr Ile His Phe Ser Cys Ala Pro Gly Tyr Val Leu Lys
865 870 875 880

Gly Gln Ala Ser Ile Lys Cys Val Pro Gly His Pro Ser His Trp Ser
885 890 895

Asp Pro Pro Pro Ile Cys Arg Ala Ala Ser Leu Asp Gly Phe Tyr Asn
900 905 910

Ser Arg Ser Leu Asp Val Ala Lys Ala Pro Ala Ala Ser Ser Thr Leu
915 920 925

Asp Ala Ala His Leu Ala Gly His Arg Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys
930 935 940

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
945 950 955 960

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
965 970 975

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
980 985 990

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
995 1000 1005

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val
1010 1015 1020

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
1025 1030 1035

Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr
1040 1045 1050

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
1055 1060 1065

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
1070 1075 1080

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
1085 1090 1095

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
1100 1105 1110

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
1115 1120 1125

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
1130 1135 1140

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
1145 1150 1155

Pro Gly
1160

<210> 10
<211> 2919
<212> ADN
<213> Loài chuột

<400> 10
ctctcctcag aggctccgat cacgggggaa ggtcatgcca cgggcatcag ggagacggat 60

ggggagctga ccgcagcccc tacacctgag cagtcagacc gaggcgtcca cttcgtcacc 120

acagccccta ccctcaagct gctcaaccac cacccacttc tggaagaatt tcttcaagag 180

gggctagaaa gagaggaagc gccgcagcct gcactgccct tccagccgga ctcacctaca 240

cactttactc caagcccccc cccccgcctc accaaccagg acaaccgccc cgtctttacc 300

agtccgactc cagccgtggc tgcagcaccc acccagcccc actccaggga gaaaccttgg 360

aacctagaat ccaaaccccc tgagctttct atcacatcgt cccttcctcc agggccgagt 420

atggcagtgc ccacactgct cccagaggac agacccagta ctacaccccc tagccaagca 480

tggactccaa ctcaggaggg tcctggagac atggacagac cttgggttcc agaggtcatg 540

tctaagacca cagggcttgg tgtcgaggga accattgcca cctccacagc ttcaggggat 600

gacgaagaga ccactaccac catcattacc actactgtca ccacagttca gccaccaggc 660

ccctgtagct ggaatttctc aggcccagag ggctctctgg attcccccac ggcccccagc 720

tcaccctctg atgttggcct ggactgtttc tactatatct ctgtctaccc tggatatgga 780

gtagagatca aggtggagaa catcagcctt caggaagggg agaccatcac cgtggagggc 840

ctgggggggcc ccgatccact gcccttggct aaccagtcgt tcctgctgag gggccaggtc 900

atccgcagcc ccacccacca agcagccctg aggttccaga gcctcccgct acccgctggg 960

cctggcactt tccatttccg ctaccaagcc tatctcctga gctgccactt tccccgacgt 1020

ccagcgtatg gagatgtgac tgtcaccagt ctccacccag gaggcagcgc ccacttccat 1080

tgtgccactg gctaccagct caagggtgcc aggttcctca cctgtctcaa tgccacccag 1140

ccctttttggg attcccaaga gcctgtttgc attgctgctt gtggtggagt gattcggaat 1200

gccaccactg gccgcattgt ctctcctggc ttcccgggga actacagcaa caacctcacc 1260

tgccactggt tgctagaggc tccagagagc cagcggctgc acctgcactt tgaaaaggtc 1320

tccctggcag aagacgacga caggctcatc atccgcaatg gaaataacgt ggaggccccg 1380

ccggtgtacg actcctatga ggtggaatac ctgcccattg agggcctgct cagctctggc 1440

agacacttct tcgtggagtt cagtactgac agcagtgggg cagctgcagg catggccctg 1500

cgctatgagg ccttccagca aggacattgc tatgagccct ttgtcaaata cggcaacttc 1560

agcagcagtg caccgtccta ccctgtgggt acaactgtgg agttcagctg tgaccctggc 1620

tacaccctgg agcagggctc catcatcatc gaatgcgtcg acctccacga cccccagtgg 1680

aatgagacag agccagcctg ccgagccgtg tgcagcgggg agatcacaga ctctgcaggc 1740

gtggtgctct ctccaaactg gccggagcct tatggccgag ggcaggactg catctggggt 1800

gtgcatgtgg aggaggacaa gcgcatcatg ctggacatcc gagtgctgcg cataggctct 1860

ggggatgtac tgaccttcta cgatggggat gacctcacag cccgggtcct gggccaatac 1920

tcagggcccc gtggccactt caagctcttt acctccatgg ccgatgtcac catccagttc 1980

cagtcagacc ctgggacctc ggcgctgggt taccagcaag gatttgtcat ccacttcttt 2040

gaggttcccc gcaacgacac atgtccagag ctacccgaga tccccaacgg ctggaagaac 2100

ccatcacagc ctgagctggt gcacggcacg gtggtcacct atcagtgcta ccctggttac 2160

caggtggtgg gatccagtat tctcatgtgc cagtgggacc taagctggag tgaggacctg 2220

ccttcatgcc agagagtgac atcttgccat gacccagggg atgtggagca cagccgacgc 2280

ctcatatcca gccccaagtt tcccgtggga gcaactgtgc aatatgtctg tgaccagggt 2340

tttgtgctga cggggagtgc cattctcacc tgccatgatc ggcaagcagg cagtcccaag 2400

tggagtgaca gggcccccaa gtgtctcttg gaacaattca agccgtgcca tggcctcagc 2460

gccccggaga atggtgcccg cagccctgag aagcggcttc acccagcagg ggccaccatc 2520

cacttctcct gtgcccctgg ttatgtgctg aagggccagg ccagcatcaa atgcgtgcct 2580

ggacacccct cgcattggag tgacccacca cccatctgta gggctgcctc tctggatggg 2640

ttctacaacg gccgtagcct ggatgttgcc aaggcacctg ccgcctccag tgccctggac 2700

gctgctcacc tggctgctgc catcttccta ccattggtgg ccatggtgtt gctggtggga 2760

ggagtgtacc tctatttttc cagattccag gggaaaagtc ccctgcaact tccccgaact 2820

catcctcgcc cctataaccg catcacggta gagtcagcat ttgacaatcc aacttatgag 2880

actggatctc tttcctttgc aggagacgag agaatatga 2919

<210> 11
<211> 972
<212> PRT
<213> Loài chuột

<400> 11

```
Leu Ser Ser Glu Ala Pro Ile Thr Gly Glu Gly His Ala Thr Gly Ile
1               5                  10                  15

Arg Glu Thr Asp Gly Glu Leu Thr Ala Ala Pro Thr Pro Glu Gln Ser
            20                  25                  30

Asp Arg Gly Val His Phe Val Thr Thr Ala Pro Thr Leu Lys Leu Leu
        35                  40                  45

Asn His His Pro Leu Leu Glu Glu Phe Leu Gln Glu Gly Leu Glu Arg
    50                  55                  60

Glu Glu Ala Pro Gln Pro Ala Leu Pro Phe Gln Pro Asp Ser Pro Thr
65                  70                  75                  80

His Phe Thr Pro Ser Pro Leu Pro Arg Leu Thr Asn Gln Asp Asn Arg
                85                  90                  95

Pro Val Phe Thr Ser Pro Thr Pro Ala Val Ala Ala Ala Pro Thr Gln
            100                 105                 110

Pro His Ser Arg Glu Lys Pro Trp Asn Leu Glu Ser Lys Pro Pro Glu
        115                 120                 125

Leu Ser Ile Thr Ser Ser Leu Pro Pro Gly Pro Ser Met Ala Val Pro
    130                 135                 140

Thr Leu Leu Pro Glu Asp Arg Pro Ser Thr Thr Pro Pro Ser Gln Ala
145                 150                 155                 160

Trp Thr Pro Thr Gln Glu Gly Pro Gly Asp Met Asp Arg Pro Trp Val
                165                 170                 175

Pro Glu Val Met Ser Lys Thr Thr Gly Leu Gly Val Glu Gly Thr Ile
            180                 185                 190

Ala Thr Ser Thr Ala Ser Gly Asp Asp Glu Glu Thr Thr Thr Thr Ile
        195                 200                 205
```

Ile Thr Thr Thr Val Thr Thr Val Gln Pro Pro Gly Pro Cys Ser Trp
210 215 220

Asn Phe Ser Gly Pro Glu Gly Ser Leu Asp Ser Pro Thr Ala Pro Ser
225 230 235 240

Ser Pro Ser Asp Val Gly Leu Asp Cys Phe Tyr Tyr Ile Ser Val Tyr
245 250 255

Pro Gly Tyr Gly Val Glu Ile Lys Val Glu Asn Ile Ser Leu Gln Glu
260 265 270

Gly Glu Thr Ile Thr Val Glu Gly Leu Gly Gly Pro Asp Pro Leu Pro
275 280 285

Leu Ala Asn Gln Ser Phe Leu Leu Arg Gly Gln Val Ile Arg Ser Pro
290 295 300

Thr His Gln Ala Ala Leu Arg Phe Gln Ser Leu Pro Leu Pro Ala Gly
305 310 315 320

Pro Gly Thr Phe His Phe Arg Tyr Gln Ala Tyr Leu Leu Ser Cys His
325 330 335

Phe Pro Arg Arg Pro Ala Tyr Gly Asp Val Thr Val Thr Ser Leu His
340 345 350

Pro Gly Gly Ser Ala His Phe His Cys Ala Thr Gly Tyr Gln Leu Lys
355 360 365

Gly Ala Arg Phe Leu Thr Cys Leu Asn Ala Thr Gln Pro Phe Trp Asp
370 375 380

Ser Gln Glu Pro Val Cys Ile Ala Ala Cys Gly Gly Val Ile Arg Asn
385 390 395 400

Ala Thr Thr Gly Arg Ile Val Ser Pro Gly Phe Pro Gly Asn Tyr Ser
405 410 415

Asn Asn Leu Thr Cys His Trp Leu Leu Glu Ala Pro Glu Ser Gln Arg
420 425 430

Leu His Leu His Phe Glu Lys Val Ser Leu Ala Glu Asp Asp Asp Arg
435 440 445

Leu Ile Ile Arg Asn Gly Asn Asn Val Glu Ala Pro Pro Val Tyr Asp
450 455 460

Ser Tyr Glu Val Glu Tyr Leu Pro Ile Glu Gly Leu Leu Ser Ser Gly
465 470 475 480

Arg His Phe Phe Val Glu Phe Ser Thr Asp Ser Ser Gly Ala Ala Ala
485 490 495

Gly Met Ala Leu Arg Tyr Glu Ala Phe Gln Gln Gly His Cys Tyr Glu
500 505 510

Pro Phe Val Lys Tyr Gly Asn Phe Ser Ser Ser Ala Pro Ser Tyr Pro
515 520 525

Val Gly Thr Thr Val Glu Phe Ser Cys Asp Pro Gly Tyr Thr Leu Glu
530 535 540

Gln Gly Ser Ile Ile Ile Glu Cys Val Asp Leu His Asp Pro Gln Trp
545 550 555 560

Asn Glu Thr Glu Pro Ala Cys Arg Ala Val Cys Ser Gly Glu Ile Thr
565 570 575

Asp Ser Ala Gly Val Val Leu Ser Pro Asn Trp Pro Glu Pro Tyr Gly
580 585 590

Arg Gly Gln Asp Cys Ile Trp Gly Val His Val Glu Glu Asp Lys Arg
595 600 605

Ile Met Leu Asp Ile Arg Val Leu Arg Ile Gly Ser Gly Asp Val Leu
610 615 620

Thr Phe Tyr Asp Gly Asp Asp Leu Thr Ala Arg Val Leu Gly Gln Tyr
625 630 635 640

Ser Gly Pro Arg Gly His Phe Lys Leu Phe Thr Ser Met Ala Asp Val
645 650 655

Thr Ile Gln Phe Gln Ser Asp Pro Gly Thr Ser Ala Leu Gly Tyr Gln
660 665 670

Gln Gly Phe Val Ile His Phe Phe Glu Val Pro Arg Asn Asp Thr Cys
675 680 685

Pro Glu Leu Pro Glu Ile Pro Asn Gly Trp Lys Asn Pro Ser Gln Pro
690 695 700

Glu Leu Val His Gly Thr Val Val Thr Tyr Gln Cys Tyr Pro Gly Tyr
705 710 715 720

Gln Val Val Gly Ser Ser Ile Leu Met Cys Gln Trp Asp Leu Ser Trp
725 730 735

Ser Glu Asp Leu Pro Ser Cys Gln Arg Val Thr Ser Cys His Asp Pro
740 745 750

Gly Asp Val Glu His Ser Arg Arg Leu Ile Ser Ser Pro Lys Phe Pro
755 760 765

Val Gly Ala Thr Val Gln Tyr Val Cys Asp Gln Gly Phe Val Leu Thr
770 775 780

Gly Ser Ala Ile Leu Thr Cys His Asp Arg Gln Ala Gly Ser Pro Lys
785 790 795 800

Trp Ser Asp Arg Ala Pro Lys Cys Leu Leu Glu Gln Phe Lys Pro Cys
805 810 815

His Gly Leu Ser Ala Pro Glu Asn Gly Ala Arg Ser Pro Glu Lys Arg
820 825 830

Leu His Pro Ala Gly Ala Thr Ile His Phe Ser Cys Ala Pro Gly Tyr
835 840 845

Val Leu Lys Gly Gln Ala Ser Ile Lys Cys Val Pro Gly His Pro Ser
850 855 860

His Trp Ser Asp Pro Pro Pro Ile Cys Arg Ala Ala Ser Leu Asp Gly
865 870 875 880

Phe Tyr Asn Gly Arg Ser Leu Asp Val Ala Lys Ala Pro Ala Ala Ser
885 890 895

Ser Ala Leu Asp Ala Ala His Leu Ala Ala Ala Ile Phe Leu Pro Leu
900 905 910

Val Ala Met Val Leu Leu Val Gly Gly Val Tyr Leu Tyr Phe Ser Arg
915 920 925

Phe Gln Gly Lys Ser Pro Leu Gln Leu Pro Arg Thr His Pro Arg Pro
930 935 940

Tyr Asn Arg Ile Thr Val Glu Ser Ala Phe Asp Asn Pro Thr Tyr Glu
945 950 955 960

Thr Gly Ser Leu Ser Phe Ala Gly Asp Glu Arg Ile
965 970

<210> 12
<211> 2919
<212> ADN
<213> Loài chuột đen

<400> 12
ctctcctcag aggctccaat cacgggggaa ggtcaagcca cgggcatcag ggagatggat 60

ggggagctga ccgcagcccc tacacctgag cagtcagacc gaggcgtcca cttcgtcacc 120

acagccccta ccctcaagct actcaaccac cacccacttc tggaggaatt tcttcaagag 180

gggctagaag ggagagagga agctccgagg ccggcactgc ccttccagcc agactcacct 240

acacccttta ctccaagccc ccttccccgc ctcaccaacc aggacaaccg ccctgtcttt 300

accagtccga cgccagctgt agctgcggca cccacgcagc cccactccag aaagaaaccc 360

tggaacccag agtcagagcc cccggagctt tacatcacat ctcccctccc tccagggccg 420

agtatggcag tgcccacact gcacccagag gacagaccca gcactacacc ccccagccaa 480

gcatggactc caacccagga gggtcctgga gacatgggca gaccttgggt tccagagatc 540

atgtctaaga ccacagggct tggtatcgag gggaccattg ccacctccac agcttcaggg 600

gatgacgaag agaccaccac caccaccatc attaccaccg tcaccacaat tcagccacca 660

ggcccctgta gctggaattt ctcaggcccg gagggctctc tggattcccc tgcggtcccc 720

agcgtccccc ctgatgttgg cctggactgt ctctactaca tctctgtcta ccctggatat 780

ggagtcgaga tcaaggtgaa gaacatcagc cttcaggaag gagagaccat aaccgtggag 840

ggcctggggg ggcctgaccc actgcccttg gctaaccagt ctttcctgct gaggggccag 900

gtcatccgca gccccaccca ccaggcagcc gtgaggttcc aaagccttcc acttcccgct 960

ggacctggta ctttccattt ccactaccaa gcctatctcc tgagctgcca ctttcctcgg 1020

cgtccagctt atggagatgt gactgtcacc agcctccacc caggaggcag cgcccgcttc 1080

cactgtgcca ctggctacca gctaaagggt gccaggttcc tcacctgtct caatgccacc 1140

cagccctttt gggattccca agagcctgtc tgcattgctg cttgtggagg agtgattcgg 1200

aatgccacca ctggccgcat tgtctctcct ggctttcccg ggaactacag caacaacctc 1260

acctgccact ggctgctaga agcccccgag agccagcggc tgcacctgca ctttgaaaag 1320

gtctccctgg cagaagatga cgacaggctc atcatccgta acgggaataa cgtggaggcc 1380

ccgccagtgt atgactccta tgaggtggag tacctgccca ttgagggcct gctcagttct 1440

ggcagacact tcttcgtgga gttcagtact gacagcagcg gggcagccgc aggcatggca 1500

ctgcgctatg aggccttcca gcaaggacat tgctatgagc cctttgtcaa atacggtaac 1560

ttcagcagca gcgcaccgtc ctaccctgtg ggtacgactg tggagttcag ctgtgaccct 1620

ggctacaccc tggagcaggg ttccatcatc atcgaatgcg tcgacctccg tgaccccag 1680

tggaatgaga cagaaccagc ctgccgagcc gtgtgcagcg gggagatcac agactctgca 1740

ggcgtggtgc tctctccaaa ctggccggag ccttatggcc gagggcagga ctgcatctgg 1800

ggtgtgcatg tggaggagga caagcgcatc atgctggaca tccgagtgct gcgcataggc 1860

tctggggatg tactgacctt ctacgatggg gatgacctga cagcccgggt cctgggccaa 1920

tactcagggc cccgtggcca cttcaagctc tttacctcca tggctgatgt caccattcag 1980

ttccagtcag accctgggac gtcggcgctg ggttaccagc aaggatttgt catccacttc 2040

tttgaggtgc cccgcaatga cacatgtcca gagcttcccg agatccccaa cggctggaag 2100

aacccatcac agcctgagct ggtgcatggc acggtggtca cctatcagtg ctaccccggt 2160

taccaggtgg tgggatccag tattctcatg tgccagtggg acctgagctg gagtgaggac 2220

ctgccctcat gccagagagt gacatcctgc catgacccag gggatgtgga gcacagccga 2280

cgcctcatat ccagcctcaa gtttcctgtg ggagcaactg tgcagtatat ctgtgaccag 2340

ggttttgtgc tcacgggtag cgccatcctt acttgccatg atcgtcaagc gggcagtccc 2400

aagtggagtg acagggcccc caagtgtctc ttggaacagt tcaaaccatg tcatggcctc 2460

agtgcccctg agaatggtgc ccgcagccct gagaagaggc tccacccagc aggggccacc 2520

attcacttct cctgtgcccc tggttatgtg ctgaagggcc aggccagcat caaatgcgtg 2580

cctggacacc cctcacattg gagtgatcct ccacccatct gtagggctgc ttctctggat 2640

gggttctaca acggccgtag cctggatgtt gccaaggcac ctgccacctc cagtgccctg 2700

gatgctgccc acatggcagc tgccatcttt ctaccattgg tggccatggt gttgctggtg 2760

ggaggagtgt acctctattt ctccagactc cagggaaaaa gtcctctgca gcttcccgga 2820

actcatcctc gcccctataa ccgtatcacg gtagagtcag catttgacaa tccaacttat 2880

gagaccggat ctctttcctt tgcaggagac gagagaata 2919

<210> 13
<211> 973
<212> PRT
<213> Loài chuột đen

<400> 13

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

Arg Glu Met Asp Gly Glu Leu Thr Ala Ala Pro Thr Pro Glu Gln Ser
20 25 30

Asp Arg Gly Val His Phe Val Thr Thr Ala Pro Thr Leu Lys Leu Leu
35 40 45

Asn His His Pro Leu Leu Glu Glu Phe Leu Gln Glu Gly Leu Glu Gly
50 55 60

Arg Glu Glu Ala Pro Arg Pro Ala Leu Pro Phe Gln Pro Asp Ser Pro

65 70 75 80

Thr Pro Phe Thr Pro Ser Pro Leu Pro Arg Leu Thr Asn Gln Asp Asn
85 90 95

Arg Pro Val Phe Thr Ser Pro Thr Pro Ala Val Ala Ala Pro Thr
100 105 110

Gln Pro His Ser Arg Lys Lys Pro Trp Asn Pro Glu Ser Glu Pro Pro
115 120 125

Glu Leu Tyr Ile Thr Ser Pro Leu Pro Pro Gly Pro Ser Met Ala Val
130 135 140

Pro Thr Leu His Pro Glu Asp Arg Pro Ser Thr Thr Pro Pro Ser Gln
145 150 155 160

Ala Trp Thr Pro Thr Gln Glu Gly Pro Gly Asp Met Gly Arg Pro Trp
165 170 175

Val Pro Glu Ile Met Ser Lys Thr Thr Gly Leu Gly Ile Glu Gly Thr
180 185 190

Ile Ala Thr Ser Thr Ala Ser Gly Asp Asp Glu Glu Thr Thr Thr Thr
195 200 205

Thr Ile Ile Thr Thr Val Thr Thr Ile Gln Pro Pro Gly Pro Cys Ser
210 215 220

Trp Asn Phe Ser Gly Pro Glu Gly Ser Leu Asp Ser Pro Ala Val Pro
225 230 235 240

Ser Val Pro Ser Asp Val Gly Leu Asp Cys Leu Tyr Tyr Ile Ser Val
245 250 255

Tyr Pro Gly Tyr Gly Val Glu Ile Lys Val Lys Asn Ile Ser Leu Gln
260 265 270

Glu Gly Glu Thr Ile Thr Val Glu Gly Leu Gly Gly Pro Asp Pro Leu
275 280 285

Pro Leu Ala Asn Gln Ser Phe Leu Leu Arg Gly Gln Val Ile Arg Ser
290 295 300

Pro Thr His Gln Ala Ala Val Arg Phe Gln Ser Leu Pro Leu Pro Ala
305 310 315 320

Gly Pro Gly Thr Phe His Phe His Tyr Gln Ala Tyr Leu Leu Ser Cys

325 330 335

His Phe Pro Arg Arg Pro Ala Tyr Gly Asp Val Thr Val Thr Ser Leu
340 345 350

His Pro Gly Gly Ser Ala Arg Phe His Cys Ala Thr Gly Tyr Gln Leu
355 360 365

Lys Gly Ala Arg Phe Leu Thr Cys Leu Asn Ala Thr Gln Pro Phe Trp
370 375 380

Asp Ser Gln Glu Pro Val Cys Ile Ala Ala Cys Gly Gly Val Ile Arg
385 390 395 400

Asn Ala Thr Thr Gly Arg Ile Val Ser Pro Gly Phe Pro Gly Asn Tyr
405 410 415

Ser Asn Asn Leu Thr Cys His Trp Leu Leu Glu Ala Pro Glu Ser Gln
420 425 430

Arg Leu His Leu His Phe Glu Lys Val Ser Leu Ala Glu Asp Asp Asp
435 440 445

Arg Leu Ile Ile Arg Asn Gly Asn Asn Val Glu Ala Pro Pro Val Tyr
450 455 460

Asp Ser Tyr Glu Val Glu Tyr Leu Pro Ile Glu Gly Leu Leu Ser Ser
465 470 475 480

Gly Arg His Phe Phe Val Glu Phe Ser Thr Asp Ser Ser Gly Ala Ala
485 490 495

Ala Gly Met Ala Leu Arg Tyr Glu Ala Phe Gln Gln Gly His Cys Tyr
500 505 510

Glu Pro Phe Val Lys Tyr Gly Asn Phe Ser Ser Ser Ala Pro Ser Tyr
515 520 525

Pro Val Gly Thr Thr Val Glu Phe Ser Cys Asp Pro Gly Tyr Thr Leu
530 535 540

Glu Gln Gly Ser Ile Ile Ile Glu Cys Val Asp Leu Arg Asp Pro Gln
545 550 555 560

Trp Asn Glu Thr Glu Pro Ala Cys Arg Ala Val Cys Ser Gly Glu Ile
565 570 575

Thr Asp Ser Ala Gly Val Val Leu Ser Pro Asn Trp Pro Glu Pro Tyr

580 585 590

Gly Arg Gly Gln Asp Cys Ile Trp Gly Val His Val Glu Glu Asp Lys
595 600 605

Arg Ile Met Leu Asp Ile Arg Val Leu Arg Ile Gly Ser Gly Asp Val
610 615 620

Leu Thr Phe Tyr Asp Gly Asp Asp Leu Thr Ala Arg Val Leu Gly Gln
625 630 635 640

Tyr Ser Gly Pro Arg Gly His Phe Lys Leu Phe Thr Ser Met Ala Asp
645 650 655

Val Thr Ile Gln Phe Gln Ser Asp Pro Gly Thr Ser Ala Leu Gly Tyr
660 665 670

Gln Gln Gly Phe Val Ile His Phe Phe Glu Val Pro Arg Asn Asp Thr
675 680 685

Cys Pro Glu Leu Pro Glu Ile Pro Asn Gly Trp Lys Asn Pro Ser Gln
690 695 700

Pro Glu Leu Val His Gly Thr Val Val Thr Tyr Gln Cys Tyr Pro Gly
705 710 715 720

Tyr Gln Val Val Gly Ser Ser Ile Leu Met Cys Gln Trp Asp Leu Ser
725 730 735

Trp Ser Glu Asp Leu Pro Ser Cys Gln Arg Val Thr Ser Cys His Asp
740 745 750

Pro Gly Asp Val Glu His Ser Arg Arg Leu Ile Ser Ser Leu Lys Phe
755 760 765

Pro Val Gly Ala Thr Val Gln Tyr Ile Cys Asp Gln Gly Phe Val Leu
770 775 780

Thr Gly Ser Ala Ile Leu Thr Cys His Asp Arg Gln Ala Gly Ser Pro
785 790 795 800

Lys Trp Ser Asp Arg Ala Pro Lys Cys Leu Leu Glu Gln Phe Lys Pro
805 810 815

Cys His Gly Leu Ser Ala Pro Glu Asn Gly Ala Arg Ser Pro Glu Lys
820 825 830

Arg Leu His Pro Ala Gly Ala Thr Ile His Phe Ser Cys Ala Pro Gly

835 840 845

Tyr Val Leu Lys Gly Gln Ala Ser Ile Lys Cys Val Pro Gly His Pro
850 855 860

Ser His Trp Ser Asp Pro Pro Pro Ile Cys Arg Ala Ala Ser Leu Asp
865 870 875 880

Gly Phe Tyr Asn Gly Arg Ser Leu Asp Val Ala Lys Ala Pro Ala Thr
885 890 895

Ser Ser Ala Leu Asp Ala Ala His Met Ala Ala Ala Ile Phe Leu Pro
900 905 910

Leu Val Ala Met Val Leu Leu Val Gly Gly Val Tyr Leu Tyr Phe Ser
915 920 925

Arg Leu Gln Gly Lys Ser Pro Leu Gln Leu Pro Gly Thr His Pro Arg
930 935 940

Pro Tyr Asn Arg Ile Thr Val Glu Ser Ala Phe Asp Asn Pro Thr Tyr
945 950 955 960

Glu Thr Gly Ser Leu Ser Phe Ala Gly Asp Glu Arg Ile
965 970

<210> 14
<211> 2997
<212> ADN
<213> Macaca fascicularis

<400> 14
atggagacag acacactcct gctatgggta ctgctgctct gggttccagg ttccactggt 60

gacggcgcgc cactcagcag cgaagctccc acaatgggca agggacaggc ccccggaatt 120

gaagaaaccg atggcgaact caccgctgcc cctacccctg agcaacccga aaggggagtg 180

cactttgtga ccaccgctcc caccctgaag ctgctcaatc accacccccct cctggaggag 240

tttctgcagg aaggcctgga aaaaggcgac gaggaactca gacctgccct gcccttccaa 300

cccgaccctc ctacccccctt tacacctagc cctctcccta gactggccaa ccaagactcc 360

agacctgtgt tcaccagccc tacacctgct acagctgccg tccctaccca acctcaatcc 420

aaggagggac cttggagcct cgagagcgag cctcccgtgc tgagaatcac agctcctctc 480

cctcctggcc cttccatggc tgtccccaca ctcggacctg gcgaaaggcc cagcacaaca 540

ccccccctcca gagcctggac ccctacacaa gaaggccctg gcgacatggg aaggccttgg 600

gtccctgaag tcgtgagcca aggcgccggc atcggaatcc agggaaccat cgccagctcc 660

acagccagcg gagacgatga ggaaacaacc accacaacca ccatcatcac caccacaatc 720

acaacagtcc agacccccgg cccttgcagc tggaattttt ccggccctga gggatccctg 780

gattccccca cagatctgtc ctcccctcct gacgtgggcc tcgactgttt cttctatatc 840

tccgtgtatc ctggctacgg cgtcgaaatc aaagtccaga acatctccct gagggagggc 900

gaaacagtca ccgtggaagg actgggcgga cccgctcctc tgcctctcgc caaccaatcc 960

ttcctcctca ggggccaagt gattagatcc cccacacatc aagctgctct caggttccaa 1020

agcctccctc cccccgctgg acccggaacc tttcacttcc actaccaagc ctatctcctc 1080

agctgccatt tcccccacag gcccgcttat ggagatgtca cagtcacctc cctgcatcct 1140

ggcggctccg ctagattcca ctgcgctacc ggataccaac tcaagggcgc caggcatctg 1200

acatgtctca atgctaccca gcccttctgg gacagcaagg agcccgtctg cattgccgct 1260

tgcggaggcg tcatcagaaa tgccaccacc ggcagaatcg tgagccccgg cttccctggc 1320

aactactcca acaacctgac atgccactgg ctgctggaag ctcctgaggg ccagagactg 1380

catctgcact tcgagaaggt cagcctggcc gaagatgacg acagactcat catcaggaac 1440

ggcgacaacg tggaggctcc ccccgtctat gattcctacg aggtcgagta cctccccatc 1500

gagggactgc tgtcctccgg caagcatttt ttcgtggagc tgtccacaga ttccagcgga 1560

gctgccgccg gaatggctct caggtacgag gctttccaac agggccactg ttacgagccc 1620

tttgtgaagt acggcaactt ctccagctcc gctcctacct accccgtcgg cacaaccgtc 1680

gaatttagct gcgaccctgg atacacactc gagcaaggct ccatcatcat cgagtgtgtc 1740

gacccccacg acccccaatg gaacgagaca gagcccgcct gtagggccgt gtgtagcgga 1800

gagattaccg actccgccgg agtggtgctc tcccctaatt ggcctgaacc ctacggcaga 1860

ggacaagatt gtatttgggg cgtccatgtc gaggaggaca agaggattat gctcgacgtg 1920

agggtgctga ggattggacc tggcgacgtg ctcacattct atgacggcga cgatctcacc 1980

gccagagtcc tgggacaata ctccggccct cacagccact tcaagctgtt caccagcatg 2040

gctgacgtga ccatccagtt ccagtccgat cctggaacat ccgtgctggg ataccagcag 2100

ggcttcgtca tccacttctt cgaggtcccc aggaacgaca cctgccccga actgcccgag 2160

attcccaacg gctggaaatc cccctcccaa cctgatctcg tgcacggcac cgtcgtcacc 2220

taccaatgct accctggata ccaagtcgtc ggcagcagcg tgctgatgtg ccaatgggac 2280

ctcacctgga gcgaggatct gccctcctgc cagagagtca cctcctgcca cgatcccggc 2340

gatgtggaac actccaggag gctgattagc tcccccaagt tccctgtcgg agccaccgtg 2400

caatacatct gcgaccaggg ctttgtgctg accggaacca gcatcctcac atgccacgac 2460

aggcaagctg gatcccccaa gtggtccgat agggccccca aatgcctcct ggaacagctg 2520

aagccttgtc atggcctcag cgctcctgaa aacggcgcta ggagccccga aaagaggctc 2580

caccctgccg gagccaccat ccacttttcc tgtgcccccg gatacgtgct gaagggccag 2640

gcctccatta agtgcgtgcc cggacatcct tcccactggt ccgacccccc tcccatctgt 2700

aaagccgcct ccctggacgg attctataac agcagaagcc tggacgtcgc taaggcccct 2760

gctgcttcct ccaccctgga tgctgctcac atcgctgctg ccatctttct gcccctcgtc 2820

gccatggtgc tgctggtggg aggcgtctac ttctacttct ccaggctgca gggaaagagc 2880

tccctgcaac tgcctaggac aagacccagg ccctacaata ggatcacagt cgagagcgcc 2940

ttcgacaacc ccacatacga gacaggatcc ctgagctttg ccggagacga gagaatt 2997

<210> 15
<211> 999
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 15

```
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1               5                  10                  15

Gly Ser Thr Gly Asp Gly Ala Pro Leu Ser Ser Glu Ala Pro Thr Met
            20                  25                  30

Gly Lys Gly Gln Ala Pro Gly Ile Glu Glu Thr Asp Gly Glu Leu Thr
        35                  40                  45

Ala Ala Pro Thr Pro Glu Gln Pro Glu Arg Gly Val His Phe Val Thr
    50                  55                  60

Thr Ala Pro Thr Leu Lys Leu Leu Asn His His Pro Leu Leu Glu Glu
65                  70                  75                  80

Phe Leu Gln Glu Gly Leu Glu Lys Gly Asp Glu Glu Leu Arg Pro Ala
                85                  90                  95

Leu Pro Phe Gln Pro Asp Pro Pro Thr Pro Phe Thr Pro Ser Pro Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Ala Asn Gln Asp Ser Arg Pro Val Phe Thr Ser Pro Thr
        115                 120                 125

Pro Ala Thr Ala Ala Val Pro Thr Gln Pro Gln Ser Lys Glu Gly Pro
    130                 135                 140

Trp Ser Leu Glu Ser Glu Pro Pro Val Leu Arg Ile Thr Ala Pro Leu
145                 150                 155                 160

Pro Pro Gly Pro Ser Met Ala Val Pro Thr Leu Gly Pro Gly Glu Arg
                165                 170                 175
```

Pro Ser Thr Thr Pro Pro Ser Arg Ala Trp Thr Pro Thr Gln Glu Gly
180 185 190

Pro Gly Asp Met Gly Arg Pro Trp Val Pro Glu Val Val Ser Gln Gly
195 200 205

Ala Gly Ile Gly Ile Gln Gly Thr Ile Ala Ser Ser Thr Ala Ser Gly
210 215 220

Asp Asp Glu Glu Thr Thr Thr Thr Thr Thr Ile Ile Thr Thr Thr Ile
225 230 235 240

Thr Thr Val Gln Thr Pro Gly Pro Cys Ser Trp Asn Phe Ser Gly Pro
245 250 255

Glu Gly Ser Leu Asp Ser Pro Thr Asp Leu Ser Ser Pro Pro Asp Val
260 265 270

Gly Leu Asp Cys Phe Phe Tyr Ile Ser Val Tyr Pro Gly Tyr Gly Val
275 280 285

Glu Ile Lys Val Gln Asn Ile Ser Leu Arg Glu Gly Glu Thr Val Thr
290 295 300

Val Glu Gly Leu Gly Gly Pro Ala Pro Leu Pro Leu Ala Asn Gln Ser
305 310 315 320

Phe Leu Leu Arg Gly Gln Val Ile Arg Ser Pro Thr His Gln Ala Ala
325 330 335

Leu Arg Phe Gln Ser Leu Pro Pro Pro Ala Gly Pro Gly Thr Phe His
340 345 350

Phe His Tyr Gln Ala Tyr Leu Leu Ser Cys His Phe Pro His Arg Pro
355 360 365

Ala Tyr Gly Asp Val Thr Val Thr Ser Leu His Pro Gly Gly Ser Ala
370 375 380

Arg Phe His Cys Ala Thr Gly Tyr Gln Leu Lys Gly Ala Arg His Leu
385 390 395 400

Thr Cys Leu Asn Ala Thr Gln Pro Phe Trp Asp Ser Lys Glu Pro Val
405 410 415

Cys Ile Ala Ala Cys Gly Gly Val Ile Arg Asn Ala Thr Thr Gly Arg
420 425 430

Ile Val Ser Pro Gly Phe Pro Gly Asn Tyr Ser Asn Asn Leu Thr Cys
435 440 445

His Trp Leu Leu Glu Ala Pro Glu Gly Gln Arg Leu His Leu His Phe
450 455 460

Glu Lys Val Ser Leu Ala Glu Asp Asp Asp Arg Leu Ile Ile Arg Asn
465 470 475 480

Gly Asp Asn Val Glu Ala Pro Pro Val Tyr Asp Ser Tyr Glu Val Glu
485 490 495

Tyr Leu Pro Ile Glu Gly Leu Leu Ser Ser Gly Lys His Phe Phe Val
500 505 510

Glu Leu Ser Thr Asp Ser Ser Gly Ala Ala Ala Gly Met Ala Leu Arg
515 520 525

Tyr Glu Ala Phe Gln Gln Gly His Cys Tyr Glu Pro Phe Val Lys Tyr
530 535 540

Gly Asn Phe Ser Ser Ser Ala Pro Thr Tyr Pro Val Gly Thr Thr Val
545 550 555 560

Glu Phe Ser Cys Asp Pro Gly Tyr Thr Leu Glu Gln Gly Ser Ile Ile
565 570 575

Ile Glu Cys Val Asp Pro His Asp Pro Gln Trp Asn Glu Thr Glu Pro
580 585 590

Ala Cys Arg Ala Val Cys Ser Gly Glu Ile Thr Asp Ser Ala Gly Val
595 600 605

Val Leu Ser Pro Asn Trp Pro Glu Pro Tyr Gly Arg Gly Gln Asp Cys
610 615 620

Ile Trp Gly Val His Val Glu Glu Asp Lys Arg Ile Met Leu Asp Val
625 630 635 640

Arg Val Leu Arg Ile Gly Pro Gly Asp Val Leu Thr Phe Tyr Asp Gly
645 650 655

Asp Asp Leu Thr Ala Arg Val Leu Gly Gln Tyr Ser Gly Pro His Ser
660 665 670

His Phe Lys Leu Phe Thr Ser Met Ala Asp Val Thr Ile Gln Phe Gln
675 680 685

Ser Asp Pro Gly Thr Ser Val Leu Gly Tyr Gln Gln Gly Phe Val Ile
690 695 700

His Phe Phe Glu Val Pro Arg Asn Asp Thr Cys Pro Glu Leu Pro Glu
705 710 715 720

Ile Pro Asn Gly Trp Lys Ser Pro Ser Gln Pro Asp Leu Val His Gly
725 730 735

Thr Val Val Thr Tyr Gln Cys Tyr Pro Gly Tyr Gln Val Val Gly Ser
740 745 750

Ser Val Leu Met Cys Gln Trp Asp Leu Thr Trp Ser Glu Asp Leu Pro
755 760 765

Ser Cys Gln Arg Val Thr Ser Cys His Asp Pro Gly Asp Val Glu His
770 775 780

Ser Arg Arg Leu Ile Ser Ser Pro Lys Phe Pro Val Gly Ala Thr Val
785 790 795 800

Gln Tyr Ile Cys Asp Gln Gly Phe Val Leu Thr Gly Thr Ser Ile Leu
805 810 815

Thr Cys His Asp Arg Gln Ala Gly Ser Pro Lys Trp Ser Asp Arg Ala
820 825 830

Pro Lys Cys Leu Leu Glu Gln Leu Lys Pro Cys His Gly Leu Ser Ala
835 840 845

Pro Glu Asn Gly Ala Arg Ser Pro Glu Lys Arg Leu His Pro Ala Gly
850 855 860

Ala Thr Ile His Phe Ser Cys Ala Pro Gly Tyr Val Leu Lys Gly Gln
865 870 875 880

Ala Ser Ile Lys Cys Val Pro Gly His Pro Ser His Trp Ser Asp Pro
885 890 895

Pro Pro Ile Cys Lys Ala Ala Ser Leu Asp Gly Phe Tyr Asn Ser Arg
900 905 910

Ser Leu Asp Val Ala Lys Ala Pro Ala Ala Ser Ser Thr Leu Asp Ala
915 920 925

Ala His Ile Ala Ala Ala Ile Phe Leu Pro Leu Val Ala Met Val Leu
930 935 940

Leu Val Gly Gly Val Tyr Phe Tyr Phe Ser Arg Leu Gln Gly Lys Ser
945 950 955 960

Ser Leu Gln Leu Pro Arg Thr Arg Pro Arg Pro Tyr Asn Arg Ile Thr
965 970 975

Val Glu Ser Ala Phe Asp Asn Pro Thr Tyr Glu Thr Gly Ser Leu Ser
980 985 990

Phe Ala Gly Asp Glu Arg Ile
995

<210> 16
<211> 2781
<212> ADN
<213> Người hiện đại

<400> 16
ctcgagaggg atgctctgcc tgagggagat gcttcccctc tcggacctta tctgctgccc 60

agcggagctc ctgagagggg atcccccgga aaggagcatc ccgaagaaag agtggtcaca 120

gctcccccta gctccagcca gagcgctgag gtgctgggag aactggtcct cgacggaaca 180

gcccccttccg cccatcacga tattcctgcc ctcagccctc tcctccccga ggaagctagg 240

cctaaacacg ccctcccccc taaaaagaag ctgccttccc tcaagcaggt caattccgcc 300

aggaagcagc tcagacccaa ggccacctcc gctgctacag tccaaagagc tggatcccag 360

cctgccagcc agggactcga tctgctcagc agctccacag aaaaacctgg acctcctggc 420

gatcctgacc ctattgtggc cagcgaagaa gctagcgaag tccctctgtg gctggacagg 480

aaggagtccg ctgtccccac cacacccgct cctctccaga tcagcccctt cacctcccag 540

ccttatgtcg ctcatacact gcctcagagg cctgagcctg gcgaacctgg acctgacatg 600

gctcaggagg ctcctcagga ggacaccagc cctatggccc tgatggataa gggcgagaat 660

gaactgaccg gaagcgccag cgaggaaagc caggagacca ccaccagcac aatcatcacc 720

accaccgtca tcaccaccga acaggccccc gctctgtgtt ccgtgtcctt ttccaacccc 780

gagggctaca ttgacagcag cgattacccc ctgctccctc tcaacaactt cctcgagtgc 840

acctacaatg tgaccgtgta caccggctac ggagtcgaac tccaggtgaa gtccgtgaac 900

ctctccgatg gcgaactgct ctccattagg ggcgtcgatg gccctacact caccgtcctg 960

gctaaccaaa ccctgctcgt cgaaggccag gtgattaggt cccccaccaa caccatctcc 1020

gtctacttca ggacctttca agacgacgga ctgggaacct tccaactgca ttaccaggcc 1080

ttcatgctgt cctgtaattt ccccaggaga cccgactccg gagacgtcac cgtcatggat 1140

ctgcactccg gaggcgtggc ccactttcat tgtcacctcg gctacgagct ccagggcgcc 1200

aagatgctga catgcatcaa cgccagcaaa cctcactggt ccagccagga gcctatctgt 1260

agcgctcctt gcggcggagc cgtgcacaat gctacaattg gcagagtgct cagcccttcc 1320

taccctgaaa acaccaacgg ctcccagttc tgcatctgga caatcgaggc ccccgaaggc 1380

caaaagctgc acctgcactt tgagaggctc ctgctccacg acaaagacag gatgaccgtg 1440

cactccggcc agaccaataa gtccgccctc ctgtatgaca gcctgcagac agagtccgtc 1500

ccttttgaag gcctgctgtc cgagggcaat accatcagga ttgagttcac atccgaccaa 1560

gccagggctg ctagcacctt caacattagg tttgaggctt tcgaaaaggg acactgctac 1620

gagccctata ttcagaatgg caatttcaca acctccgacc ccacctacaa tatcggcaca 1680

attgtggagt ttacctgcga ccctggacac agcctggagc agggacctgc catcatcgaa 1740

tgcatcaacg tcagggaccc ctactggaac gacacagaac ctctgtgtag ggctatgtgc 1800

ggaggcgaac tgagcgctgt ggctggagtc gtgctctccc ctaactggcc cgaaccctat 1860

gtggagggcg aagattgcat ctggaagatc cacgtcggcg aggaaaaaag gatctttctg 1920

gacatccagt tcctgaatct ctccaacagc gacatcctga ccatctacga cggagatgag 1980

gtcatgcccc acattctggg ccagtatctc ggaaactccg gcccccaaaa gctctactcc 2040

tccacccccg acctcacaat ccaattccac agcgatcctg ctggcctcat ctttggaaag 2100

ggacaaggct ttatcatgaa ttacatcgag gtcagcagaa acgacagctg ctccgacctg 2160

cctgagatcc agaacggatg gaagaccacc tcccacaccg agctcgtcag gggagctagg 2220

atcacatacc agtgcgaccc cggatacgac atcgtcggct ccgataccct gacatgccag 2280

tgggatctga gctggagctc cgacccccccc ttttgtgaga agatcatgta ctgcaccgac 2340

cccggcgaag tcgatcatag caccaggctc atcagcgatc ctgtgctgct cgtcggcaca 2400

accatccaat acacctgtaa ccccggattc gtgctcgaag gatcctccct gctcacctgt 2460

tacagcaggg aaaccggcac ccccatttgg acatccaggc tgcctcactg cgtgtccgaa 2520

gagagcctgg cttgcgataa tcccggcctg cctgagaacg gataccagat tctgtacaaa 2580

aggctgtacc tccccggcga gtccctgacc ttcatgtgct acgaaggatt cgagctcatg 2640

ggcgaagtca ccatcaggtg catcctcggc cagccctccc actggaacgg acctctcccc 2700

gtctgtaagg tcaatcagga ttccttcgag cacgctctgg aagtcgctga ggctgccgcc 2760

gagacaagcc tggaaggcgg c 2781

<210> 17
<211> 964
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 17
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp His Gly Ala Pro Leu Glu Arg Asp Ala Leu Pro

20 25 30

Glu Gly Asp Ala Ser Pro Leu Gly Pro Tyr Leu Leu Pro Ser Gly Ala
35 40 45

Pro Glu Arg Gly Ser Pro Gly Lys Glu His Pro Glu Glu Arg Val Val
50 55 60

Thr Ala Pro Pro Ser Ser Ser Gln Ser Ala Glu Val Leu Gly Glu Leu
65 70 75 80

Val Leu Asp Gly Thr Ala Pro Ser Ala His His Asp Ile Pro Ala Leu
85 90 95

Ser Pro Leu Leu Pro Glu Glu Ala Arg Pro Lys His Ala Leu Pro Pro
100 105 110

Lys Lys Lys Leu Pro Ser Leu Lys Gln Val Asn Ser Ala Arg Lys Gln
115 120 125

Leu Arg Pro Lys Ala Thr Ser Ala Ala Thr Val Gln Arg Ala Gly Ser
130 135 140

Gln Pro Ala Ser Gln Gly Leu Asp Leu Leu Ser Ser Ser Thr Glu Lys
145 150 155 160

Pro Gly Pro Pro Gly Asp Pro Asp Pro Ile Val Ala Ser Glu Glu Ala
165 170 175

Ser Glu Val Pro Leu Trp Leu Asp Arg Lys Glu Ser Ala Val Pro Thr
180 185 190

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

Ala His Thr Leu Pro Gln Arg Pro Glu Pro Gly Glu Pro Gly Pro Asp
210 215 220

Met Ala Gln Glu Ala Pro Gln Glu Asp Thr Ser Pro Met Ala Leu Met
225 230 235 240

Asp Lys Gly Glu Asn Glu Leu Thr Gly Ser Ala Ser Glu Glu Ser Gln
245 250 255

Glu Thr Thr Thr Ser Thr Ile Ile Thr Thr Thr Val Ile Thr Thr Glu
260 265 270

Gln Ala Pro Ala Leu Cys Ser Val Ser Phe Ser Asn Pro Glu Gly Tyr

275 280 285

Ile Asp Ser Ser Asp Tyr Pro Leu Leu Pro Leu Asn Asn Phe Leu Glu
290 295 300

Cys Thr Tyr Asn Val Thr Val Tyr Thr Gly Tyr Gly Val Glu Leu Gln
305 310 315 320

Val Lys Ser Val Asn Leu Ser Asp Gly Glu Leu Leu Ser Ile Arg Gly
325 330 335

Val Asp Gly Pro Thr Leu Thr Val Leu Ala Asn Gln Thr Leu Leu Val
340 345 350

Glu Gly Gln Val Ile Arg Ser Pro Thr Asn Thr Ile Ser Val Tyr Phe
355 360 365

Arg Thr Phe Gln Asp Asp Gly Leu Gly Thr Phe Gln Leu His Tyr Gln
370 375 380

Ala Phe Met Leu Ser Cys Asn Phe Pro Arg Arg Pro Asp Ser Gly Asp
385 390 395 400

Val Thr Val Met Asp Leu His Ser Gly Gly Val Ala His Phe His Cys
405 410 415

His Leu Gly Tyr Glu Leu Gln Gly Ala Lys Met Leu Thr Cys Ile Asn
420 425 430

Ala Ser Lys Pro His Trp Ser Ser Gln Glu Pro Ile Cys Ser Ala Pro
435 440 445

Cys Gly Gly Ala Val His Asn Ala Thr Ile Gly Arg Val Leu Ser Pro
450 455 460

Ser Tyr Pro Glu Asn Thr Asn Gly Ser Gln Phe Cys Ile Trp Thr Ile
465 470 475 480

Glu Ala Pro Glu Gly Gln Lys Leu His Leu His Phe Glu Arg Leu Leu
485 490 495

Leu His Asp Lys Asp Arg Met Thr Val His Ser Gly Gln Thr Asn Lys
500 505 510

Ser Ala Leu Leu Tyr Asp Ser Leu Gln Thr Glu Ser Val Pro Phe Glu
515 520 525

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

530 535 540

Gln Ala Arg Ala Ala Ser Thr Phe Asn Ile Arg Phe Glu Ala Phe Glu
545 550 555 560

Lys Gly His Cys Tyr Glu Pro Tyr Ile Gln Asn Gly Asn Phe Thr Thr
565 570 575

Ser Asp Pro Thr Tyr Asn Ile Gly Thr Ile Val Glu Phe Thr Cys Asp
580 585 590

Pro Gly His Ser Leu Glu Gln Gly Pro Ala Ile Ile Glu Cys Ile Asn
595 600 605

Val Arg Asp Pro Tyr Trp Asn Asp Thr Glu Pro Leu Cys Arg Ala Met
610 615 620

Cys Gly Gly Glu Leu Ser Ala Val Ala Gly Val Val Leu Ser Pro Asn
625 630 635 640

Trp Pro Glu Pro Tyr Val Glu Gly Glu Asp Cys Ile Trp Lys Ile His
645 650 655

Val Gly Glu Glu Lys Arg Ile Phe Leu Asp Ile Gln Phe Leu Asn Leu
660 665 670

Ser Asn Ser Asp Ile Leu Thr Ile Tyr Asp Gly Asp Glu Val Met Pro
675 680 685

His Ile Leu Gly Gln Tyr Leu Gly Asn Ser Gly Pro Gln Lys Leu Tyr
690 695 700

Ser Ser Thr Pro Asp Leu Thr Ile Gln Phe His Ser Asp Pro Ala Gly
705 710 715 720

Leu Ile Phe Gly Lys Gly Gln Gly Phe Ile Met Asn Tyr Ile Glu Val
725 730 735

Ser Arg Asn Asp Ser Cys Ser Asp Leu Pro Glu Ile Gln Asn Gly Trp
740 745 750

Lys Thr Thr Ser His Thr Glu Leu Val Arg Gly Ala Arg Ile Thr Tyr
755 760 765

Gln Cys Asp Pro Gly Tyr Asp Ile Val Gly Ser Asp Thr Leu Thr Cys
770 775 780

Gln Trp Asp Leu Ser Trp Ser Ser Asp Pro Pro Phe Cys Glu Lys Ile

785 790 795 800

Met Tyr Cys Thr Asp Pro Gly Glu Val Asp His Ser Thr Arg Leu Ile
805 810 815

Ser Asp Pro Val Leu Leu Val Gly Thr Thr Ile Gln Tyr Thr Cys Asn
820 825 830

Pro Gly Phe Val Leu Glu Gly Ser Ser Leu Leu Thr Cys Tyr Ser Arg
835 840 845

Glu Thr Gly Thr Pro Ile Trp Thr Ser Arg Leu Pro His Cys Val Ser
850 855 860

Glu Glu Ser Leu Ala Cys Asp Asn Pro Gly Leu Pro Glu Asn Gly Tyr
865 870 875 880

Gln Ile Leu Tyr Lys Arg Leu Tyr Leu Pro Gly Glu Ser Leu Thr Phe
885 890 895

Met Cys Tyr Glu Gly Phe Glu Leu Met Gly Glu Val Thr Ile Arg Cys
900 905 910

Ile Leu Gly Gln Pro Ser His Trp Asn Gly Pro Leu Pro Val Cys Lys
915 920 925

Val Asn Gln Asp Ser Phe Glu His Ala Leu Glu Val Ala Glu Ala Ala
930 935 940

Ala Glu Thr Ser Leu Glu Gly Gly Leu Ala Gly His His His His His
945 950 955 960

His His His His

<210> 18
<211> 2487
<212> ADN
<213> Người hiện đại

<400> 18
ctgcctctca aagaggaaga gattctcccc gagcccggat ccgagacacc cacagtggct 60

tccgaagccc tcgctgaact gctgcacgga gccctcctga gaaggggacc tgaaatgggc 120

tatctccctg gctccgacag agatcccaca ctcgccacac ctcctgctgg acagaccctc 180

gctgtgcctt ccctgcccag agccacagaa cccggaacag gccctctcac aacagctgtg 240

acccctaacg gcgtcagagg agctggacct acagcccctg agctgctgac acctcctcct 300

ggcacaaccg ctcctcctcc tccttccccc gctagccctg gacccccctct cggacctgaa 360

ggaggcgagg aggagacaac caccaccatt attaccacca ccaccgtgac aaccacagtg 420

accagccctg tcctgtgcaa caacaacatc agcgaaggcg aaggctatgt ggaatcccct 480

gacctgggct cccctgtgtc cagaacactc ggcctcctgg attgcacata ctccattcac 540

gtgtaccccg gctacggaat cgagattcag gtgcagaccc tgaatctgtc ccaggaggag 600

gaactgctgg tgctggctgg cggaggaagc cctggcctcg ctcctagact cctcgctaac 660

tcctccatgc tcggcgaagg ccaggtcctc agatccccta ccaacaggct gctcctgcac 720

ttccagagcc ccagagtgcc tagaggaggc ggcttcagga ttcactacca ggcctatctc 780

ctgagctgtg gattccctcc cagacccgct catggcgatg tctccgtcac cgacctccac 840

cccggaggaa cagccacctt ccactgtgat tccggatacc agctgcaagg cgaggagacc 900

ctgatttgcc tcaatggcac caggcccagc tggaacggag agacacctag ctgcatggct 960

agctgcggcg gaaccatcca taatgccacc ctcggcagga tcgtcagccc tgaacctggc 1020

ggagctgtgg gacctaacct cacatgcaga tgggtgatcg aagctgctga aggcaggaga 1080

ctccacctcc acttcgagag ggtgtccctg gacgaggaca acgacaggct catggtcaga 1140

agcggcggaa gccctctcag ccctgtgatt tacgacagcg acatggacga tgtgcctgag 1200

aggggcctca tctccgatgc ccaaagcctg tacgtggaac tcctctccga gacccccgct 1260

aacccccctcc tcctgagcct cagattcgag gccttcgagg aggacagatg tttcgctcct 1320

tttctggccc atggcaacgt gaccacaacc gaccccgagt acagacccgg agctctggct 1380

accttcagct gtctgcctgg ctacgccctc gaacctcccg gacctcctaa tgccatcgaa 1440

tgtgtggatc ccaccgaacc ccattggaac gacaccgagc ccgcttgtaa ggctatgtgc 1500

ggcggagaac tcagcgaacc tgccggagtg gtcctctccc ctgattggcc ccagagctat 1560

tcccccggac aagactgtgt ctggggcgtg cacgtccagg aggaaaagag gatcctcctc 1620

caggtggaga ttctgaacgt cagagaggga gacatgctga ccctgttcga cggagacgga 1680

ccttccgcca gagtcctcgc tcagctgaga ggccctcagc ccagaaggag actgctcagc 1740

tccggccccg atctgacact ccagtttcag gccccccctg gcccccctaa tcctggcctg 1800

ggacagggct tcgtgctcca cttcaaggag gtccccagga atgatacatg ccccgaactg 1860

cctcctcccg agtggggatg gaggacagct tcccatggcg acctgatcag gggaaccgtg 1920

ctgacatatc agtgtgaacc cggctacgag ctgctgggaa gcgatatcct gacctgtcag 1980

tgggatctct cctggagcgc tgctcccct gcctgtcaga aaatcatgac ctgcgctgac 2040

cctggagaga tcgctaacgg ccacaggacc gcttccgacg ctggatttcc cgtgggctcc 2100

cacgtgcaat acaggtgcct ccccggatac tccctcgaag gcgctgccat gctgacatgc 2160

tacagcaggg acaccggcac acccaagtgg tccgacaggg tgcccaaatg tgctctgaag 2220

tacgagccct gtctcaatcc cggagtgccc gagaacggat accagaccct gtacaagcac 2280

cactatcagg ccggcgaatc cctgagattc ttctgctacg agggcttcga gctcatcggc 2340

gaggtgacaa ttacctgtgt gcccggccat ccttcccagt ggaccagcca gccccctctc 2400

tgtaaggtcg cctacgaaga gctgctcgac aataggaagc tggaggtcac ccagaccacc 2460

gacccttcca gacaactgga aggcggc 2487

<210> 19
<211> 865
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 19
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Gly Ala Pro Leu Pro Leu Lys Glu Glu Glu Ile
20 25 30

Leu Pro Glu Pro Gly Ser Glu Thr Pro Thr Val Ala Ser Glu Ala Leu
35 40 45

Ala Glu Leu Leu His Gly Ala Leu Leu Arg Arg Gly Pro Glu Met Gly
50 55 60

Tyr Leu Pro Gly Ser Asp Arg Asp Pro Thr Leu Ala Thr Pro Pro Ala
65 70 75 80

Gly Gln Thr Leu Ala Val Pro Ser Leu Pro Arg Ala Thr Glu Pro Gly
85 90 95

Thr Gly Pro Leu Thr Thr Ala Val Thr Pro Asn Gly Val Arg Gly Ala
100 105 110

Gly Pro Thr Ala Pro Glu Leu Leu Thr Pro Pro Pro Gly Thr Thr Ala
115 120 125

Pro Pro Pro Pro Ser Pro Ala Ser Pro Gly Pro Pro Leu Gly Pro Glu
130 135 140

Gly Gly Glu Glu Glu Thr Thr Thr Thr Ile Ile Thr Thr Thr Thr Val
145 150 155 160

Thr Thr Thr Val Thr Ser Pro Val Leu Cys Asn Asn Asn Ile Ser Glu
165 170 175

Gly Glu Gly Tyr Val Glu Ser Pro Asp Leu Gly Ser Pro Val Ser Arg
180 185 190

Thr Leu Gly Leu Leu Asp Cys Thr Tyr Ser Ile His Val Tyr Pro Gly
195 200 205

Tyr Gly Ile Glu Ile Gln Val Gln Thr Leu Asn Leu Ser Gln Glu Glu
210 215 220

Glu Leu Leu Val Leu Ala Gly Gly Gly Ser Pro Gly Leu Ala Pro Arg
225 230 235 240

Leu Leu Ala Asn Ser Ser Met Leu Gly Glu Gly Gln Val Leu Arg Ser
245 250 255

Pro Thr Asn Arg Leu Leu Leu His Phe Gln Ser Pro Arg Val Pro Arg
260 265 270

Gly Gly Gly Phe Arg Ile His Tyr Gln Ala Tyr Leu Leu Ser Cys Gly
275 280 285

Phe Pro Pro Arg Pro Ala His Gly Asp Val Ser Val Thr Asp Leu His
290 295 300

Pro Gly Gly Thr Ala Thr Phe His Cys Asp Ser Gly Tyr Gln Leu Gln
305 310 315 320

Gly Glu Glu Thr Leu Ile Cys Leu Asn Gly Thr Arg Pro Ser Trp Asn
325 330 335

Gly Glu Thr Pro Ser Cys Met Ala Ser Cys Gly Gly Thr Ile His Asn
340 345 350

Ala Thr Leu Gly Arg Ile Val Ser Pro Glu Pro Gly Gly Ala Val Gly
355 360 365

Pro Asn Leu Thr Cys Arg Trp Val Ile Glu Ala Ala Glu Gly Arg Arg
370 375 380

Leu His Leu His Phe Glu Arg Val Ser Leu Asp Glu Asp Asn Asp Arg
385 390 395 400

Leu Met Val Arg Ser Gly Gly Ser Pro Leu Ser Pro Val Ile Tyr Asp
405 410 415

Ser Asp Met Asp Asp Val Pro Glu Arg Gly Leu Ile Ser Asp Ala Gln
420 425 430

Ser Leu Tyr Val Glu Leu Leu Ser Glu Thr Pro Ala Asn Pro Leu Leu
435 440 445

Leu Ser Leu Arg Phe Glu Ala Phe Glu Glu Asp Arg Cys Phe Ala Pro
450 455 460

Phe Leu Ala His Gly Asn Val Thr Thr Thr Asp Pro Glu Tyr Arg Pro
465 470 475 480

Gly Ala Leu Ala Thr Phe Ser Cys Leu Pro Gly Tyr Ala Leu Glu Pro
485 490 495

Pro Gly Pro Pro Asn Ala Ile Glu Cys Val Asp Pro Thr Glu Pro His
500 505 510

Trp Asn Asp Thr Glu Pro Ala Cys Lys Ala Met Cys Gly Gly Glu Leu
515 520 525

Ser Glu Pro Ala Gly Val Val Leu Ser Pro Asp Trp Pro Gln Ser Tyr
530 535 540

Ser Pro Gly Gln Asp Cys Val Trp Gly Val His Val Gln Glu Glu Lys
545 550 555 560

Arg Ile Leu Leu Gln Val Glu Ile Leu Asn Val Arg Glu Gly Asp Met
565 570 575

Leu Thr Leu Phe Asp Gly Asp Gly Pro Ser Ala Arg Val Leu Ala Gln
580 585 590

Leu Arg Gly Pro Gln Pro Arg Arg Arg Leu Leu Ser Ser Gly Pro Asp
595 600 605

Leu Thr Leu Gln Phe Gln Ala Pro Pro Gly Pro Pro Asn Pro Gly Leu
610 615 620

Gly Gln Gly Phe Val Leu His Phe Lys Glu Val Pro Arg Asn Asp Thr
625 630 635 640

Cys Pro Glu Leu Pro Pro Pro Glu Trp Gly Trp Arg Thr Ala Ser His
645 650 655

Gly Asp Leu Ile Arg Gly Thr Val Leu Thr Tyr Gln Cys Glu Pro Gly
660 665 670

Tyr Glu Leu Leu Gly Ser Asp Ile Leu Thr Cys Gln Trp Asp Leu Ser
675 680 685

Trp Ser Ala Ala Pro Pro Ala Cys Gln Lys Ile Met Thr Cys Ala Asp
690 695 700

Pro Gly Glu Ile Ala Asn Gly His Arg Thr Ala Ser Asp Ala Gly Phe
705 710 715 720

Pro Val Gly Ser His Val Gln Tyr Arg Cys Leu Pro Gly Tyr Ser Leu
725 730 735

Glu Gly Ala Ala Met Leu Thr Cys Tyr Ser Arg Asp Thr Gly Thr Pro
740 745 750

Lys Trp Ser Asp Arg Val Pro Lys Cys Ala Leu Lys Tyr Glu Pro Cys
755 760 765

Leu Asn Pro Gly Val Pro Glu Asn Gly Tyr Gln Thr Leu Tyr Lys His
770 775 780

His Tyr Gln Ala Gly Glu Ser Leu Arg Phe Phe Cys Tyr Glu Gly Phe
785 790 795 800

Glu Leu Ile Gly Glu Val Thr Ile Thr Cys Val Pro Gly His Pro Ser
805 810 815

Gln Trp Thr Ser Gln Pro Pro Leu Cys Lys Val Ala Tyr Glu Glu Leu
820 825 830

Leu Asp Asn Arg Lys Leu Glu Val Thr Gln Thr Thr Asp Pro Ser Arg
835 840 845

Gln Leu Glu Gly Gly Leu Ala Gly His His His His His His His His
850 855 860

His
865

<210> 20
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 20
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Leu Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Ser Leu Thr Cys Ser Ala Asn Ser Thr Val Ser Phe Met
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Ser Ser Pro Thr Pro Trp Ile Tyr
35 40 45

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Ser Pro Ile
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 21
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 21
Ser Asp Val Gln Leu Gln Asp Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser
1 5 10 15

Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Trp
20 25 30

Gly Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu
35 40 45

Trp Met Gly Asn Ile His Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Phe Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Thr Thr Asn Trp Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 22
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 22
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Gln Lys Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Tyr Asn Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 23
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 23
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Asp Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp His
20 25 30

Thr Ile His Trp Met Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Tyr Ser Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 24
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 24
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Asn Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Lys
100 105 110

<210> 25
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 25
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Ile Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

Gly Ala Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Ser Tyr Asn Pro Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Ser Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Arg Gly Thr Pro Gly Lys Pro Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 26
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 26
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ala Asn Ile Asn Ser Asn
20 25 30

Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45

Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Asn Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 27
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 27
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met Tyr Trp Val Lys Gln Asn Gln Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Tyr Asp Lys Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 28
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 28
Asp Ile Val Val Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Glu Tyr Tyr
20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met Gln Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Val Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Asn Ile His
65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Asp Asp Ile Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Asp Arg
85 90 95

Lys Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 29
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 29
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Asn Thr Ser
20 25 30

Gly Met Ser Val Gly Trp Val Arg Gln Pro Ser Gly Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala Pro Ile Trp Trp Asn Gly Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Asn Asn Gln Val
65 70 75 80

Phe Leu Lys Ile Ala Ser Val Val Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe
85 90 95

Cys Ala Arg Ile Arg Gln Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 30
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 30
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Ser Tyr Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 31
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 31
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Pro Ser Tyr
20 25 30

Trp Ile His Cys Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Ser Asn Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Val Arg Gly Gly Thr Gly Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 32
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 32
Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr
20 25 30

Leu Thr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Asp Tyr
65 70 75 80

Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 33
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 33
Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Ser Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Leu
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ser Glu Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

Val Lys Asn Lys Gly Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ala
115

<210> 34
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 34
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asp Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Leu Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr Leu Ile Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 35
<211> 114
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 35
Gln Val His Leu Gln Gln Ser Gly Thr Glu Val Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Trp Ile Glu Trp Ile Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asn Asn Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Gly Pro Ala Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser Ala

<210> 36
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 36
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Lys Thr Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Trp Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 37
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 37
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Val Asn Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Val Arg Gly Asn Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ala

<210> 38
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 38
Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu
65 70 75 80

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

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

<210> 39
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 39
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Leu Val Met Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Val Ile Pro Tyr Asn Asp Glu Thr Phe Tyr Asn Arg Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg His Arg Tyr Asp Gly Phe Arg Tyr Ala Ile Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 40
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 40
Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 41
<211> 118

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 41
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Ile Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asn Thr Arg Tyr Asn Gln Met Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Trp Gly Thr Thr Val Val Gly Ala Asn Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 42
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 42
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Leu Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
35 40 45

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Val Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

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

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 43
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 43
Asp Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Leu Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Val Met Phe Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 44
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 44
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Pro Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

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

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 45
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 45
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Asn Gln Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Asn Ile Gly Gly Thr Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val His Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 46
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 46
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Ser Ser Tyr Leu Ser Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gly Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Asp His Ile Asn Asn Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Asn Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Ser Gly Ala Thr Ser Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Leu Ser Ile Thr Ser Leu Gln Thr
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Ile Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 47
<211> 123
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 47
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

Thr Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Ser Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Ser Asn Gln Val
65 70 75 80

Phe Leu Lys Ile Thr Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Lys Gly Arg Thr Ala Arg Ala Thr Arg Gly Phe Ala Tyr
100 105 110

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

<210> 48
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 48
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Ala Ile Ser Cys Lys Pro Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Ile Asn
85 90 95

Asp Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Lys
100 105

<210> 49
<211> 122

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 49
Ser Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser
1 5 10 15

Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser
20 25 30

Ser Tyr Thr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu
35 40 45

Trp Met Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Arg Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Phe Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ser Arg Tyr Tyr Tyr Asp Ala Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 50
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 50
Asp Val Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ile
20 25 30

Asn Arg His Thr Tyr Leu Gly Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Met Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 51
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 51
Gln Ile Gln Met Met Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Asp Ala Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 52
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 52
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Gln Lys Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Tyr Asn Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 53
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 53
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Asp Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp His
20 25 30

Thr Ile His Trp Met Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Tyr Ser Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 54
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 54
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Glu Ser
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Ile Gln His Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 55
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 55
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Glu Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Val His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Gly Ile Asp Pro Glu Thr Gly Gly Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Trp Phe Ser Tyr Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ala

<210> 56
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 56
Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Gly Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile Asn Ser Leu Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 57

<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp”

<400> 57
Gln Val His Leu Pro Gln Ser Arg Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Gly Phe Thr Arg Ser
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Ser Leu Thr Ala Asp Asn Pro Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met His Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Val Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 58
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp”

<400> 58
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Asp
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 59
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 59
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Asn Gln Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro His Asn Gly Gly Thr Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ser Tyr
65 70 75 80

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

Ala Gly Gly Tyr Pro Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 60
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 60
Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Val Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ile Ser Ser
20 25 30

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

Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Ala Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu
65 70 75 80

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

Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 61
<211> 124
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 61
Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Glu Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Ser
1 5 10 15

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

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

Ala Asn Ile Asn Tyr Asp Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Leu
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Pro Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp
100 105 110

Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 62
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 62
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Gly Asn Ile His Asn Tyr
20 25 30

Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 63
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 63
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

Val Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg His Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 64
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp”

<400> 64
Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr
20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr
65 70 75 80

Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 65

<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 65
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Asp Asn Gly Gly Ala Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ser Arg Ser Ile Thr Thr Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 66
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 66
Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Leu Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Met Ser Ser Ser
20 25 30

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

Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu
65 70 75 80

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

Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 67
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 67
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Leu Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Glu Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Arg Gly Trp Tyr Leu Thr Gly Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 68
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 68
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Leu Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
35 40 45

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 69
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 69
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Ser Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Gln Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Asp Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Lys Lys Val Glu Tyr Met
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Tyr Tyr Leu
65 70 75 80

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

Arg Thr Ser Tyr Tyr Asn Lys Phe Leu Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 70
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 70
Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Arg
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Phe His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr Tyr Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 71
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 71
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Pro Ser Asn Trp Val Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 72
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 72
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Arg Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Asn
85 90 95

Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 73

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

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 73
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Ile Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

Gly Thr Ile Asp Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Arg Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Phe Ser Ser Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ser Gly Gly Arg Gly Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val
100 105 110

Thr Val Ser Val
115

<210> 74
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 74
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Leu Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
35 40 45

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Thr Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Gly Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Asn Thr Asn Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 75
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 75
Asp Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Leu Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Arg Asp Tyr Tyr Gly Thr Ser Tyr Val Met Phe Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 76
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 76
Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 77
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 77
Asp Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Arg Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Ala
35 40 45

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

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

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

Thr Asn Gly Asn His Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 78
<211> 105
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 78
Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Thr Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Met Glu Ala Glu Asp
65 70 75 80

Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr Phe
85 90 95

Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 79
<211> 114
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 79
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ser Val Leu Val Arg Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile His Pro His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Val Asp Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Gly Gly His Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 80
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 80
Ser Phe Val Met Thr Gln Thr Pro Lys Phe Leu Leu Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asn Asn Asp
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Thr Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 81
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 81
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Asn Ile Phe Pro Asp Thr Thr Thr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Tyr Tyr Asp Gly Thr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
115 120

<210> 82
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 82
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Ser Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 83
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 83
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Arg Trp Val Lys Gln Ser Pro Glu Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Ser Thr Gly Gly Thr Thr Thr Tyr Asn Gln Asn
50 55 60

Phe Lys Ala Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala
65 70 75 80

Tyr Met Gln Leu Lys Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Phe Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 84
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 84
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Glu Ser
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Ile Gln His Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 85
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 85
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Glu Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Val His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Gly Ile Asp Pro Glu Thr Gly Gly Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Trp Phe Ser Tyr Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ala

<210> 86
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 86
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30

Ser Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80

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

Glu Ile Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 87
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 87
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Val Tyr Tyr Gly Ser Thr Tyr Gly Tyr Phe Asp Val Trp Gly
100 105 110

Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 88
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 88
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30

Ser Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly His Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Arg Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80

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

Glu Ile Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 89
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 89
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile His Pro Tyr Asn Gly Gly Ser Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Arg Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Asn Ser Ser Asn Thr Thr Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Tyr Asp Tyr Asp Thr Trp Phe Gly Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Arg Ala
115

<210> 90
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 90
Asp Val Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Leu Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 91
<211> 114
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 91
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Met Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Cys
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Gly Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 92
<211> 114
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 92
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Asn Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys Arg

<210> 93
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 93
Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Ala Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Ser
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ile Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Ile Gly Asp Ser Ser Pro Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser
115

<210> 94
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 94
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Leu Trp
35 40 45

Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Pro Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu
65 70 75 80

Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr His Arg Ser Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 95
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 95
Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Asp Tyr Thr Phe Thr Asp Phe
20 25 30

Ser Ile His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Thr Val Ala Glu Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Phe
65 70 75 80

Leu Gln Ile Tyr Asn Leu Lys Asn Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Arg Tyr Tyr Gly His Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 96
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 96
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gly Asn Leu His Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Phe Cys Gln His Phe Trp Ser Ile Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 97

<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 97
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Leu Trp Asp Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 98
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 98
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
35 40 45

Arg Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 99
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 99
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Phe
20 25 30

Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala Gln Ile Trp Trp Asp Asp Tyr Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Phe Leu Lys Ile Ala Asn Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ile Gly Tyr Tyr Ser Gly Ser Ser Arg Cys Trp Tyr Phe
100 105 110

Asp Val Trp Gly Thr Gly Ser Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 100
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 100
Ser Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Lys Phe Leu Leu Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ala Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Thr Leu Leu Ile
35 40 45

Ser Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Thr Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Tyr Ser Ser Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 101
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 101
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Asp Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ala Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Leu
20 25 30

Thr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Met Ile Thr Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser
115

<210> 102
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 102
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Ala Cys Arg Ala Ser Gly Asn Ile His Asn Tyr
20 25 30

Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Arg Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Asn Thr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 103
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 103
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ile Ile Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ser Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg His Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 104
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 104
Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 105

<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 105
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

Val Arg Asp Asp Gly Tyr Tyr Val Phe Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 106
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 106
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Ser Ser Tyr Leu Ser Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gly Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Asp His Ile Asn Asn Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Asn Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Leu Ser Ile Thr Ser Leu Gln Thr
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 107
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 107
Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
20 25 30

Gly Val Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Thr Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80

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

Ser Gly Asp Tyr Asp Gly Ser Leu Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 108
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 108
Asp Ile Val Ile Thr Gln Asp Glu Leu Ser Asn Pro Val Thr Ser Gly
1 5 10 15

Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Ser
50 55 60

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

Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu
85 90 95

Val Glu Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 109
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 109
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Thr Phe Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ser Arg His Gly Trp Gly Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ala

<210> 110
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 110
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gly Asn Ile His Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Ala Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Ser Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Ser Ile Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 111
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 111
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Thr Arg His Tyr Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 112
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 112
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gly Asn Ile His Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Arg Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

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

<210> 113

<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 113
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

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

Ala Glu Ile Arg Leu Ile Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg His Tyr Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 114
<211> 114
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 114
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Leu Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Thr Asn Gln Lys Ile Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

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

Ile Ser Asn Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys Arg

<210> 115
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 115
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Asn Asp Thr
20 25 30

Tyr Tyr His Trp Leu Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Val Asn Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Gly Arg Gly Asn Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ala

<210> 116
<211> 104
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 116
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Glu Ile Thr Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Tyr Cys His Gln Trp Ser Ser Phe Thr Phe Gly
85 90 95

Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100

<210> 117
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 117
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Val Asn Pro Asn Asn Gly Gly Ala Ser Tyr Asn His Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Leu Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ser Arg Ser Gly Asp Leu Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 118
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 118
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 119
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 119
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Asn Gln Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Val Asn Pro Asn Thr Gly Gly Ile Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Gly Asn Tyr Cys Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 120
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 120
Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Phe Ser Asn Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15

Thr Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
85 90 95

Leu Glu His Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 121
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 121
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Thr Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Val Gly Gln Ser Tyr Ser Asp Tyr Val Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 122
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 122
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

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

35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Ser Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Pro Met Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 123
<211> 115
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 123
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Leu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Leu Asn Ile Lys Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Tyr Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Gln Gly Lys Ala Ser Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Thr Asn Thr Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Thr
115

<210> 124
<211> 112
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 124
Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 125
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 125
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Leu Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Val Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Thr Arg Arg Asp Gly Tyr Phe Phe Pro Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 126
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 126
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln
85 90 95

Tyr Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Ala Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110

Lys

<210> 127
<211> 115
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 127
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ser Val Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile His Pro Asn Asn Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Val Asp Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Thr Leu Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ala
115

<210> 128
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 128
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Leu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser

85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 129
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 129
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Pro Phe Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 130
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 130
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser

20 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110

Lys

<210> 131
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 131
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Met Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Val His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Arg Asn Gly Arg Asn Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Thr Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Asp Tyr Asp Gly Gly Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 132
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 132
Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Thr Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 133
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 133
Glu Val Glu Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Asn Thr Tyr Thr Glu Tyr
20 25 30

Thr Met Gln Trp Val Lys Leu Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Gly Ile Asn Pro Asn Asn Gly Ile Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Lys Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Gly Leu Gly Asn Tyr Val Trp Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 134
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 134
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Asn
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Ile Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Leu Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 135
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 135
Gln Val Gln Leu Pro Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Thr Asp Tyr Thr Glu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Ser Tyr Gly Ser Ser Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Ser Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 136
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 136
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Asn Cys Glu Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Asp Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Arg Ala Glu Asp Pro Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110

Lys

<210> 137
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 137
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala
20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Ser Thr Gly Thr Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ala
115

<210> 138
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 138
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Pro Arg Phe Ser Gly Arg
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Trp Ser Ser Asn Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys
100 105

<210> 139
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 139
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Ile His Trp Val Lys Gln Asn Gln Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Val Asn Pro Asn Ile Gly Gly Ile Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Met Gly Arg Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 140
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 140
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 141
<211> 114
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 141
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Met Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr
20 25 30

Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly
35 40 45

Arg Val Asn Thr Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asp Gln Lys Phe Glu
50 55 60

Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met
65 70 75 80

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

Ile Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser Ala

<210> 142
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 142
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Leu Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 143

<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 143
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Val Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
35 40 45

Glu Ile His Pro Asn Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
50 55 60

Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Val
65 70 75 80

Asp Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Gly Gly Asn Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 144
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 144
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Val Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala

50 55 60

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

Pro Val Glu Asp Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 145
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 145
Glu Val Gln Leu Glu Gln Ser Gly Thr Val Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Phe Tyr Pro Gly Asn Ser Gly Thr Tyr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Lys Leu Thr Ala Val Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ser Arg Ser Gly Ser Gly Arg Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 146
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 146
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Thr Glu
65 70 75 80

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

Phe Gly Ser Val Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 147
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 147
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp His
20 25 30

Asn Ile His Trp Val Lys Gln His Gln Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Asn Thr Gly Gly Thr Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Val Arg Gly Leu Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 148
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 148
Asp Ile Val Ile Thr Gln Asp Asp Leu Ser Asn Pro Val Thr Ser Gly
1 5 10 15

Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu Tyr Lys
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Met Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val Ser
50 55 60

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

Ser Arg Val Lys Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu
85 90 95

Val Glu Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 149
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 149
Glu Val His Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ser Arg His Gly Trp Gly Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ala

<210> 150
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 150
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

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

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 151

<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 151
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Asn Gln Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Asn Thr Gly Gly Thr Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Phe Ser Ser Thr Ala Phe
65 70 75 80

Ile Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Gly Tyr Asp His Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 152
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 152
Asp Ile Val Leu Thr Gln Phe Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Pro Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
20 25 30

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Glu Ile Pro Ala

50 55 60

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

Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His
85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Met Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 153
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 153
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Thr Val Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
20 25 30

Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
35 40 45

Ala Ile Tyr Pro Gly Lys Asn Asp Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
50 55 60

Gly Lys Ala Lys Leu Thr Ala Val Thr Ser Ala Ser Thr Leu Tyr Met
65 70 75 80

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

Arg Ser Gly Lys Gly Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ala
115

<210> 154
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 154
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 155
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 155
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Met Gly Val Val Ser Trp Ile Arg Lys Thr Ser Gly Lys Gly Leu
35 40 45

Glu Trp Leu Ala His Ile Phe Trp Asp Asp Asp Lys Trp Tyr Asn Pro
50 55 60

Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Ala Thr Ser Ser Asn Gln
65 70 75 80

Val Phe Leu Ile Leu Thr Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Thr Phe Tyr Gly Leu Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 156
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 156
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Asn Cys Glu Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Asn
20 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Asp Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Arg Ala Asp Asp Pro Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Phe Asn Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110

Lys

<210> 157
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 157
Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala
20 25 30

Trp Met Asp Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Ser Lys Pro Asn Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Ser Thr Gly Thr Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ala
115

<210> 158
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 158
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 159
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 159
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Asn Gln Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Val Asn Pro Asn Thr Gly Gly Ile Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Gly Asn Tyr Cys Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 160
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 160
Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr
20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Glu Thr Leu Ile

35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr
65 70 75 80

Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 161
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 161
Glu Val His Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Asn Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ala Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asn Ile Tyr Pro Asn Asn Gly Gly Ala Gly Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Ile Thr Ala Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 162
<211> 106
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 162
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Thr Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

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

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 163
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 163
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Asn Gln Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Asn Thr Gly Gly Thr Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 164
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 164
Asp Leu Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Thr Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95

Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 165
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 165
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ile Thr Tyr
20 25 30

Gly Ile Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asn Asp Asn Lys Tyr Tyr Asn Thr Ala
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Asn Asn Gln Val
65 70 75 80

Phe Leu Lys Ile Ala Asn Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Met Val Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Gly Phe Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 166
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 166
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Pro Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105 110

<210> 167
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 167
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Thr Val Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Arg Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr Ser Tyr Asn His Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Lys Leu Thr Ala Val Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Ser Gly Thr Gly Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 168
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 168
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Phe Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asn
20 25 30

Gly Ile Ser Tyr Met His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Val Gln Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80

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

Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 169
<211> 115
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 169
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

Glu Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Val Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Leu Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ala Leu Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 170
<211> 107
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 170
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Ala Asn Ile Asn Ser Asn
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 171
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 171
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Arg Gly Lys Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Tyr Asp Lys Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 172
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 172
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

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

Asp Thr Ser Lys Leu Pro Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

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

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

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

<210> 173
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 173
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Asn Pro Asn Ile Gly Gly Thr Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 174
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 174
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Gln Lys Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

Ser Tyr Asn Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

Arg

<210> 175
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 175
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp His
20 25 30

Thr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Tyr Ser Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 176
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 176
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

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

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

<210> 177
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 177
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Ser
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ser Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Val Arg Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 178
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 178
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr
20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

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

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

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

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

<210> 179
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 179
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Tyr Ile Tyr Pro Asp Asn Gly Gly Ala Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ser Arg Ser Ile Thr Thr Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 180
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 180
Ala Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asn Asn Asp
20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 181
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 181

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Asn Ile Phe Pro Asp Thr Thr Thr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Tyr Tyr Asp Gly Thr Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 182
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 182
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

Gly Asn Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His
85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 183
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 183
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Lys Ser Asp Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Gly Lys Gly Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 184
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 184
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln
85 90 95

Tyr Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 185
<211> 115
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 185
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile His Pro Asn Asn Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Thr Leu Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 186
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 186
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 187
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 187
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Phe Trp Asp Asp Asp Lys Trp Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Thr Phe Tyr Gly Leu Tyr Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 188
<211> 114
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 188
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Glu Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Asn
20 25 30

Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Phe Asn Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys Arg

<210> 189
<211> 116

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 189
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala
20 25 30

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

Gly Glu Ile Arg Ser Lys Pro Asn Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr
65 70 75 80

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

Tyr Cys Ala Arg Thr Gly Thr Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 190
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 190
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asn
20 25 30

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

Arg Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Val Gln Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ile
85 90 95

Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 191
<211> 114
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 191
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Ser
20 25 30

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

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

Glu Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Leu Val Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser

<210> 192
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 192
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

Arg Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Val Gln Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

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

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ile
85 90 95

Glu Asp Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 193
<211> 115
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 193
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asp Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile His Pro Asn Asn Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Thr Leu Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 194
<211> 115
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 194
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile His Pro Asn Asn Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Thr Leu Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 195
<211> 115
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 195
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Tyr Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile His Pro Asn Asn Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Thr Leu Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 196
<211> 115
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 196
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile His Pro Asn Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Thr Leu Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 197
<211> 115
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 197
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile His Pro Asn Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Thr Leu Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 198
<211> 115
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 198
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile His Pro Asn Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Thr Leu Phe Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 199
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 199
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 Ala
20 25 30

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

Gly Glu Ile Arg Ser Lys Pro Asn Asn His Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Ala Arg Thr Gly Thr Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 200

<400> 200
000

<210> 201

<400> 201
000

<210> 202

<400> 202
000

<210> 203

<400> 203
000

<210> 204

<400> 204
000

<210> 205

<400> 205
000

<210> 206

<400> 206
000

<210> 207

<400> 207
000

<210> 208

<400> 208
000

<210> 209

<400> 209
000

<210> 210

<400> 210
000

<210> 211

<400> 211
000

<210> 212

<400> 212
000

<210> 213

<400> 213
000

<210> 214

<400> 214
000

<210> 215

<400> 215
000

<210> 216

<400> 216
000

<210> 217

<400> 217
000

<210> 218

<400> 218
000

<210> 219

<400> 219
000

<210> 220
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 220
caaattgttc tcacccagtc tccagcactc atgtctgcat ctccagggga aaaggtctcc 60

ctgacctgca gtgccaactc aactgtaagt ttcatgtact ggtaccagca gaagccaaga 120

tcctccccca caccctggat ttatctcaca tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc 180

ttcagtggca gtgggtctgg gacctcttac tctcttacaa tcagcagcat ggaggctgaa 240

gatgctgcca cttattactg ccagcagtgg agtagtaact cacccatcac gttcggtgct 300

gggaccaagc tggagctgaa ac 322

<210> 221
<211> 354
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 221
tctgatgtgc agcttcagga ctcaggacct ggcctggtga aaccttctca gtctctgtcc 60

gtcacctgca ctgtcactgg ctactccatc acctggggtt attactggaa ctggatccgg 120

cagtttccag gaaacaaact ggagtggatg ggtaacatac acaacagtgg tggcactaac 180

tacaacccat ctctcaagag tcgaatctct atcactcgag acacatccaa gaaccagttc 240

ttcctgcagt tgaattctgt gactactgag gacacagcca catattactg tgcaaccaca 300

aactgggact actttgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc ctca 354

<210> 222
<211> 337
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 222
gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctggctgtgt cagttggaga gaaggtcact 60

atgagctgca agtccagtca gagcctttta tatagtagca atcaaaagag ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgttaa tctactgggc atccactagg 180

gaatctgggg tccctgaccg cttcacaggc agtggatcag ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagtg tgcaggctga agacctggcc gtttattact gcaagcaatc ttataatctt 300

cggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaac 337

<210> 223
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 223
caggttcagc tgcagcagtc tgacgctgag ttggtgaaac ctggagcttc agtgaagata 60

tcctgcaagg tttctggcta caccttcact gaccatacta ttcactggat gaagcagagg 120

cctgaacagg gcctggaatg gattggatat atttatccta gagatggtag tactaagtac 180

aatgaggagt tcaagggcaa ggccacattg actgcagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcagctca acagcctgac atctgaggac tctgcagtct atttctgtgc aagatcatat 300

agtaactact ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctcctc a 351

<210> 224
<211> 333
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 224
gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctagctgtgt cagttggaga gaaggttact 60

atgagctgca agtccagtca gagcctttta tatagtagca atcaaaagaa ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgctga tttactgggc atccactagg 180

gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagtg tgaaggctga agacctggca gtttatttct gtcagcaata ttataactat 300

ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg aaa 333

<210> 225
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 225
caggtccaac tgcagcaacc tggggctgaa attgtgaggc ctggggcttc agtgaagctg 60

tcctgcaagg cttctggcta caccttttacc gactattgga tgaactgggt aaaacagagg 120

cctggacaag gccttgagtg gatcggagca attgatcctt ctgatagtta tactagctac 180

aatccaaaat tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca cctcctccag ctcagcctac 240

atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct atttctgtgc aagaagagga 300

acccctggta aacccttgt ttactggggc caagggactc tggtcactgt ctctgca 357

<210> 226
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 226
gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgtat ctgtgggaga aactgtcacc 60

atcacatgtc gagcaagtgc gaatattaac agtaatttag tatggtatca gcagaaacag 120

ggaaaatctc ctcagctcct ggtctatgct gcaacaaact tagcggatgg tgtgccatca 180

cggttcagtg gcagtggatc aggcacacag tattccctca agatcaacag cctgcagtct 240

gaagattttg ggaattacta ctgtcaacat ttttggggta ctcctcggac gttcggtgga 300

ggcaccaagc tggaaatcaa ac 322

<210> 227
<211> 348
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 227
gaggtccagc tgcaacagtc tggacctgag ctaatgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactacaaca tgtactgggt gaagcagaac 120

caaggaaaga gcctagagtg gataggagaa attaatccta acaatggtgg tactgcctac 180

aaccagaagt tcagaggcaa ggccacgttg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatatgat 300

aaggggtttg actactgggg ccaaggcacc actctcacag tctcctca 348

<210> 228
<211> 334
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 228
gacattgtgg tcacccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctggggca gagagccacc 60

atctcctgca gagccagtga aagtgttgaa tattatggca caagtttaat gcagtggttc 120

caacagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatg ctgcatccaa cgtagaatct 180

ggggtccctg ccaggtttag tggcagtggg tctgggacag acttcagcct caacatccat 240

cctgtggagg aggatgatat tgcaatgtat ttctgtcagc aagataggaa ggttccttgg 300

acgttcggtg gaggcaccaa gctggaaatc aaac 334

<210> 229
<211> 360
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 229
caggttactc tgaaagagtc tggccctggg atattgcagc cctcccagac cctcagtcta 60

acttgttctt tctctgggtt ttcactgaac acatctggta tgagtgtagg ctgggttcgt 120

cagccttcag ggaggggtct ggaatggctg gcccccattt ggtggaatgg tgataagtac 180

tataacccag ccctgaaaag ccggctcaca atctccaagg atacctccaa caaccaggtt 240

ttcctcaaga tcgccagtgt ggtcactgca gatactgcca catacttctg tgctcgaata 300

cggcaatatt actatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca 360

<210> 230
<211> 337
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 230
gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctagctgtgt cagttggaga gaaggttact 60

atgagctgca agtccagtca gagcctttta tatagtagca atcaaaagaa ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgctga tttactgggc atccactagg 180

gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagtg tgaaggctga agacctggca gtttattact gtcagcaata ttatagctat 300

ccgacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaac 337

<210> 231
<211> 354
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 231
caggtccaac tgcagcagcc tggggctgag cttgtgaagc ctggggcttc agtgaagctg 60

tcctgcaagg cttctggcta caccttcccc agctactgga tacactgtgt gaagcagagg 120

cctggacaag gccttgagtg gattggagtg attaatccta gcaacggtcg tactaactac 180

aatgagaagt tcaagaacaa ggccacactg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcaactca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtgt caggggggggg 300

acgggctata ctatggacta ctggggtcaa ggaacctcag tcaccgtctc ctca 354

<210> 232
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 232
gacatcaaga tgacccagtc tccatcttcc atgtatgcct ctctaggaga gagagtcact 60

atcacttgca aggcgagtca ggacattaat agctatttaa cctggttcca gcagaaacca 120

gggaaatctc ctaagaccct gatctatcgt gcaaacagat tgatagatgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggcaagat tattctctca ccatcagcag cctggattat 240

gaagatatgg gaatttatta ttgtctacag tatgatgact ttccgtggac gttcggtgga 300

ggcaccaagc tggaaatcaa ac 322

<210> 233
<211> 348
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 233
cagatccagt tggtgcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60

tcctgcaagg cttctggtta taccttcaca gactattcaa tgcactgggt gaagcaggct 120

ccaggaaagg gtttaaagtg gctgggctgg ataaacactg agactggcga gccaacatat 180

tcagaagact tcaagggacg gtttgccttc tctttggaaa cctctgccag cactgcctat 240

ttgcagatca acaacctcaa aaatgaagac acggctactt atttctgtgt taaaaataag 300

ggctggtttg cttattgggg ccaagggact ctggtcactg tctctgca 348

<210> 234
<211> 338

<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 234
gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gagacaccta tttacattgg 120

tacctgcaga agccaggcca gtctccaaaa ctcctgatct acaaagtttc caaccgattt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggactt tatttctgct ctcaaagtac acttattccg 300

tacacgttcg gaggggggac caagctggac ataaaacg 338

<210> 235
<211> 342
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 235
caggttcacc tgcagcagtc tggaactgaa gtgatgaagc ctggggcctc agtgaagata 60

tcctgcaagg ctactggcta cacattcagt agctactgga tagagtggat aaagcagagg 120

cctggacatg gccttgagtg gattggagag attttgcctg gaagtggtaa tactaacaac 180

aatgagaagt tcaagggcaa ggccacaatc actgcagata catcctccaa tatagcctac 240

atacaattaa gcagcctgac atctgaggac tctgccgtct attactgtgc gggaggcccg 300

gcggcttact ggggccaagg gactctggtc actgtctctg ca 342

<210> 236
<211> 341
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 236
gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctagctgtgt cagttggaga gaaggttact 60

atgagctgca agtccagtca gagcctttta tatagtagca atcaaaagaa ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgctga tttactgggc atccactagg 180

gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagtg tgaagactga agacctggca ctttattact gtcagcaata ttattggttt 300

ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gaaataaaac g 341

<210> 237
<211> 339
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 237
gaggttcagc tgcagcagtc tggggcagaa cttgtgaagc caggggcctc agtcaagttg 60

tcctgcacag cttctggctt caacattaaa gacacctata tgcactgggt gaagcagagg 120

cctgaacagg gcctggagtg gattggaagg attgatcctg cgaatgttaa tactaaatat 180

gacccgaagt tccagggcaa ggccactata acagcagaca catcctccaa cacagcctac 240

ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtgt taggggaat 300

gtttactggg gccaagggac tctggtcact gtctctgca 339

<210> 238
<211> 325
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 238
gaaaatgtgc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga aaaggtcacc 60

atgacctgca gggccagctc aagtgtaagt tccagttact tgcactggta ccagcagaag 120

tcaggtgcct cccccaaact ctggatttat agcacatcca acttggcttc tggagtccct 180

gctcgcttca gtggcagtgg gtctgggacc tcttactctc tcacaatcag cagtgtggag 240

gctgaagatg ctgccactta ttactgccag cagtacagtg attacccatt cacgttcggc 300

tcggggacaa agttggtaat aaaac 325

<210> 239
<211> 366
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 239
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtgaaac ctggggcttt agtgatgatg 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactactaca tgcactgggt gaagcagagc 120

catggacaga gccttgagtg gattggagag gttattcctt acaatgatga aactttctac 180

aaccggaagt tcaaggacaa ggccacattg actgtagaca aatcctctag tacagcctac 240

atggagctcc ggagcctgac atctgaggac tctgcaatct attattgtgc aagaagacat 300

aggtacgacg ggtttcgtta tgctatagac tactggggtc aaggaacctc agtcaccgtc 360

tcctca 366

<210> 240
<211> 338
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 240
gatgttttga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagcattgtc catagtaatg gaaacaccta tttagagtgg 120

ttcctgcaga aaccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccgattt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tattactgct ttcaaggttc acatgttccg 300

tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaacg 338

<210> 241
<211> 354
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 241
gaggtccagc tgcaacagtc tggacctgtg ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgtaagg cttctggata cacaatcact gactacaata tgaactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga gccttgagtg gattggagtt attaatcctt acaacggtaa tactagatat 180

aaccagatgt tcaagggcaa ggccacattg actgttgaca agtcctccag cacagcctac 240

atggagctca acagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtac aagatggggt 300

actacggtgg taggtgcgaa ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc ctca 354

<210> 242
<211> 319
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 242
caaattgttc tcacccagtc tccagcactc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60

atgacctgca gtgccagctc aagtgtaaat tacatgtact ggtaccagca gaagccaaga 120

tcctccccca aaccctggat ttatctcaca tccaacctgg cttctggagt ccctgttcgc 180

ttcagtggca gtgggtctgg gacctcttac tctctcacaa tcagcagcat ggaggctgaa 240

gatgctgcca cttactactg ccagcagtgg agtaataacc cacccacgtt cggttctggg 300

accaagctgg agctgaaac 319

<210> 243
<211> 366
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 243
gacgtgaagc tcgtggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ttggagggtc cctgaaactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt agctatgcca tgtcttgggt tcgccagact 120

ccggagaaga ggctggagtg ggtcgcaacc attactagtg gtggtggtaa cacctactat 180

ccagacagtg tgaagggtcg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgtac 240

ctgcaaatga gcagtttgaa gtctgaggac acggccatgt attactgtgc aagaagggat 300

tactacggta gtagttacgt tatgtttgct tattggggcc aagggactct ggtcactgtc 360

tctgca 366

<210> 244
<211> 319
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 244
caaattgttc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60

atgacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgcact ggtaccagca gaagtcaggc 120

acctccccca aaagatggat ttatgacaca tccaaactgc cttctggagt ccctgctcgc 180

ttcagtggca gtgggtctgg gacctcttac tctctcacaa tcagcagcat ggaggctgaa 240

gatgctgcca cttattactg ccagcagtgg agtagtaccc cacccacgtt cggtgctggg 300

accaagctgg agctgaaac 319

<210> 245

<211> 360
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 245
gaggtccagc tgcaacagtc tggacctgag gtaatgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactacaaca tgcactgggt gaagcagaac 120

caaggaaaga gcctagagtg gataggagaa attaatccta acattggtgg tactggctac 180

aaccagaagt tcaaaggcaa ggccacattg actgtacaca agtcctccag cacagcctac 240

atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagaacctat 300

agttactata gttacgagtt tgcttactgg ggccaaggga ctctggtcac tgtctctgca 360

<210> 246
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 246
gacatccaga tgacacaatc ttcatcctac ttgtctgtat ctctaggagg cagagtcacc 60

attacttgca aggcaagtga ccacattaat aattggttag cctggtatca gcagaaacca 120

ggaaatgctc ctaggctctt aatatctggt gcaaccagtt tggaaactgg ggttccttca 180

agattcagtg gcagtggatc tggaaaggat tacactctca gcattaccag tcttcagact 240

gaagatgttg ctacttatta ctgtcaacag tattggagta ttccgctcac gttcggtgcg 300

gggaccaagc tggagctgaa ac 322

<210> 247
<211> 369
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 247
caggttactc tgaaagagtc tggccctggg atattgcagc cctcccagac cctcagtctg 60

acttgttctt tctctgggtt ttcactgagc acttctacta tgggtgtagg ctggattcgt 120

cagccttcag gaaagggtct agagtggctg gcagacattt ggtgggatga cagtaagtac 180

tataatccat ccctgaagag ccggctcaca atctccaagg atacctccag caaccaggta 240

ttcctcaaga tcaccagtgt ggacactgca gatactgcca cttactactg tgcgcgaaag 300

ggaaggacag ctcgggctac gagagggttt gcttactggg gccacgggac tctggtcact 360

gtctctgca 369

<210> 248
<211> 327
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 248
gacattgtgc tgacccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccgcc 60

atctcttgca agcccagcca aagtgttgat tatgatggtg atagttatat gaactggtac 120

caacagaaac caggccagcc acccaaactc ctcatttatg ctgcatccaa tctagaatct 180

gggatcccag ccaggtttag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat 240

cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcacc aaattaatga cgatccgtgg 300

acgttcggtg gaggcaccaa gctgaaa 327

<210> 249
<211> 366
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 249
tctgatgtgc agcttcagga gtcaggacct ggcctggtga aaccttctca gtctctgtct 60

gtcacctgca ctgtcactgg ctactccatc accagtagtt atacctggaa ctggatccgg 120

cagtttccag gaaacaaact ggagtggatg ggctacatac attacagtgg tagcactaac 180

tacaacccat ctctcagaag tcgaatctct attactcgag acacgtccaa gaaccagttc 240

ttcctgcagt tgaattctgt gactactgag gacacagcca catattactg tgcaagatcc 300

cgttattact acgatgctta cgggtttgct tactggggcc aagggactct ggtcactgtc 360

tctgca 366

<210> 250
<211> 337
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 250

gatgttgtgt tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagcattgta cacattaata gacacaccta cttaggatgg 120

tacctgcaga aaccaggcca gtcgctaaag ctcctgatat atggggtttc caaccgattt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tatgggagtt tattactgct ttcaaggtac acatgttcca 300

ttcacgttcg gctcggggac aaagttggaa ataaaac 337

<210> 251
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 251
cagatccaga tgatgcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60

tcctgcaagg cttctgggta ttccttcaca aactatggaa tgaactgggt gaagcaggct 120

ccaggaaagg gtttaaagtg gatgggctgg ataaacacct acactggaga gccaacatat 180

gctgatgact tcaagggacg gtttgccttc tctttggaaa cctctgccag cactgcctat 240

ttgcagatca acaacctcaa aaatgaggac atggctacat atttctgtac aagaggttac 300

tacggtagta gctacgatgc tttggactac tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 252
<211> 337
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 252
gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctggctgtgt cagttggaga gaaggtcact 60

atgagctgca agtccagtca gagcctttta tatagtagca atcaaaagag ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgttaa tctactgggc atccactagg 180

gaatctgggg tccctgaccg cttcacaggc agtggatcag ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagtg tgcaggctga agacctggcc gtttattact gcaagcaatc ttataatctt 300

cggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaac 337

<210> 253
<211> 351
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 253
caggttcagc tgcagcagtc tgacgctgag ttggtgaaac ctggagcttc agtgaagata 60

tcctgcaagg tttctggcta caccttcact gaccatacta ttcactggat gaagcagagg 120

cctgaacagg gcctggaatg gattggatat atttatccta gagatggtag tactaagtac 180

aatgaggagt tcaagggcaa ggccacattg actgcagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcagctca acagcctgac atctgaggac tctgcagtct atttctgtgc aagatcatat 300

agtaactact ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctcctc a 351

<210> 254
<211> 336
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 254
gatgttgtga tgacccagac tccactcact ttgtcggtta ccattggaca accagcctcc 60

atctcttgca agtcaagtca gagcctctta gaaagtgatg gaaagacata tttgaattgg 120

ttgttacaga ggccaggcca gtctccaaag cgcctaatct atctggtgtc taaactggac 180

tctggagtcc ctgacaggtt cacgggcagt ggatcaggga cagatttcac actgaaaatc 240

agcagagtgg aggctgagga tttgggagtt tattattgct ggcaaggtat acaacatcct 300

cggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaa 336

<210> 255
<211> 339
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 255
caggttcaac tgcagcagtc tggggctgag ctggtgaggc ctggggcttc agtgacgctg 60

tcctgcaagg cttcgggcta cacatttact gactatgaaa tgcactgggt gaagcagaca 120

cctgtgcatg gcctggaatg gattggaggt attgatcctg aaactggtgg tactgcctac 180

aatcagaagt tcaagggcaa ggccacactg actgcagaca aatcctccag cacagcctac 240

atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgccgtct acttctgtac aagatggttt 300

tcttactggg gcccagggac tctggtcact gtctctgca 339

<210> 256
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 256
gacatcttgc tgactcagtc tccagccatc ctgtctgtga gtccaggaga aggagtcagt 60

ttctcctgca gggccagtca gagcattggc acaagcatac actggtatca gcaaagaaca 120

aatggttctc caagacttct cataaagtat gcttctgagt ctatctctgg gatcccttct 180

aggtttagtg gcagtgggtc agggacagat tttactcttc gcatcaacag tctggagtct 240

gaagatattg cagattatta ctgtcaacaa agtaatagct ggccactcac gttcggtgct 300

gggaccaagc tggagctgaa ac 322

<210> 257
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 257
caggtccacc tgccgcagtc tagacctgaa ctggtgaagc ctggagcttc agtgaagata 60

tcctgcaagg cttctggcta cggcttcaca cgcagctata tacactgggt gaagcagagg 120

cctggacagg gcctagagtg gattggatat atttcttctg gaagtggtgg tactacctac 180

aatcagaagt ttaagggcaa ggcctcactg actgcagaca atccctccag cactgcctac 240

atgcatctca gtagcctgac atctgaggac tctgcgatct atttctgtgc aagaggggg 300

gtacggtact tcgatgtctg gggcgcaggg accacggtca ccgtctcctc a 351

<210> 258
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 258
gacattgtga tgacccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

atcacctgca aggccagtca ggatgtgggt actgatgtag cctggtatca acagaaacca 120

gggcaatctc ctaaactact gatttactgg gcatccaccc ggcacactgg agtccctgat 180

cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccattagcaa tgtgcagtct 240

gaagacttgg cagattattt ctgtcagcaa tatagcagct atccgtacac gttcggaggg 300

gggacaaagc tggaaataaa acgs 324

<210> 259
<211> 348
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 259
gaggtccagc tgcaacagtc tggacctgag ctaatgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactacaaca tgcactgggt gaagcagaac 120

caaggaaaga gcctagagtg gattggagaa attaatcctc acaatggtgg tactggctac 180

aaccagaagt tcaaaggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacatcctac 240

atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aggcggttac 300

ccggcctttg actactgggg ccaaggcacc actctcacag tctcctca 348

<210> 260
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 260
gaaaatgtgc tcacccagtc tccagcaatc gtgtctgcat ctccagggga aaaggtcacc 60

atgacctgca gggccagctc aagtgtaatt tccagttact tgcactggta ccagcagaag 120

tcaggtgcct cccccaaact ctggatttat agcacatcca acttggcttc tggagtccct 180

gctcgcttca gtggcagtgc gtctgggacc tcttactctc tcacaatcag cagtgtggag 240

gctgaagatg ctgccactta ttactgccag cagtacagtg gttacccgct cacgttcggt 300

gctgggacca agctggagct gaaa 324

<210> 261
<211> 372
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 261
gaagtgaagc tggtggagtc tgagggaggc ttagtgcagc ctggaagttc catgaaactc 60

tcctgcacag cctctggatt cactttcagt gactattaca tggcttgggt ccgccaggtt 120

ccagaaaagg gtctagaatg ggttgcaaac attaattatg atggtagtag cacttactat 180

ctggactcct tgaagagccg tttcatcatc tcgagagaca atgcaaagaa cattctatac 240

ctgcaaatga gcagtctgaa gtctgaggac acagccacgt attactgtgc aagagatgat 300

tattacggta gtagcccaag ctactggtac ttcgatgtct ggggcgcagg gaccacggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 262
<211> 321
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 262
gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60

atgacatgtc gagcaagtgg gaatattcac aattatttag tatggtatca gcagaaacag 120

ggaaaatctc ctcagctcct ggtctataat gcaaaaacct tagcagatgg tgtgccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc aggaacacaa tattctctca agatcaacag cctgcagcct 240

gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttggagta ctcctccgac gttcggtgga 300

ggcaccaagc tggaaatcaa a 321

<210> 263
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 263
gaagtgaaac ttgaggagtc tggaggaggc ttggtgcaac ctggaggatc catgaaactc 60

tcctgtgttg cctctggatt cactttcagt aactactgga tgagctgggt ccgccagtct 120

ccagagaagg ggcttgagtg ggttgctgaa attagattga aatctaataa ttatgcaaca 180

cattatgcgg agtctgtgaa agggaggttc accatctcaa gagacgattc caaaagtagt 240

gtcttcctgc aaatgaacaa cttaagaact gaagacactg gcatttatta ctgtaccagg 300

cactattact atgctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcctca 357

<210> 264
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 264
gacatcaaga tgacccagtc tccatcttcc atgtatgcat ctctaggaga gagagtcact 60

atcacctgca aggcgagtca ggacattaat agctatttaa gctggttcca gcagaaacca 120

gggaaatctc ctaagaccct gatctatcgt gcaaacagat tggtagatgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggcaagat tattctctca ccatcagtag cctggagtat 240

gaagatatgg gaatttatta ttgtctacag tatgatgagt ttcctccgac gttcggtgga 300

ggcaccaagc tggaaatcaa ac 322

<210> 265
<211> 354
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 265
gaggtccagc tacaacagtc tggacctgag ctggtgaagc ctgggtcttc agtgaagata 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactacaaca tggactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga gacttgagtg gattggatat atttatcctg acaatggtgg tgctggctac 180

aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgttc aagatccatt 300

actacggctt ggtttgctta ctggggccaa gggactctgg tcactgtctc tgca 354

<210> 266
<211> 325
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 266
gaaaatgtgc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga aaaggtcacc 60

ctgacctgca gggccagctc aagtatgagt tccagttact tgcactggta ccagcagaag 120

tcaggtgcct cccccaaact ctggatttat agcacatcca acttggcttc tggagtccct 180

gctcgcttca gtggcagtgg gtctgggacc tcttactctc tcacaatcag cagtgtggag 240

gctgaagatg ctgccactta ttactgccag cagtacagtg cttacccatt cacgttcggc 300

tcggggacaa agttggaaat aaaac 325

<210> 267
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 267
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctagtgaaac ctggggcttt agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactactaca tacactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga gccttgagtg gattggagaa attaatcctt acaatggtga gactttctac 180

aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca aatcctctag tacagcctac 240

atggaactcc ggagcctgac atctgaggac tctgcagtct attattgtgc aagaagggga 300

tggtatctaa caggctatgc tatggactac tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 268
<211> 320
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 268
caaattgttc tcacccagtc tccagcactc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60

atgacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgtact ggtaccagca gaagccaaga 120

tcctccccca aaccctggat ttatctcaca tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc 180

ttcagtggca gtgggtctgg gacctcttac tctctcacaa tcagcagcat ggaggctgaa 240

gatgctgcca cttattactg ccagcagtgg agtagtaacc cacccacgtt cggaggggg 300

accaagctgg aaataaaacg 320

<210> 269
<211> 360
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 269
gaggtgcagc ttcaggagtc aggacctagc ctcgtgaaac cttctcagtc tcagtccctc 60

acctgttctg tcactggcga ctccatcacc agtgattact ggaactggat ccggaaattc 120

ccagggaaga aagttgagta catggggtac ataaactaca gtggtagcac ttactacaat 180

ccatctctca aaagtcgaat ctccatcact cgagacacat ccaagaacca gtactacctg 240

cagttgaact ctgtgacttc tgaggacaca gccacatatt actgtgcacg tacctcgtac 300

tataataagt ttctaccatt tgcttactgg ggccaaggga ctctggtcac tgtctctgca 360

<210> 270
<211> 337
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 270
gatgttttaa tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagtcttgta cacagaaatg gaaacaccta ttttcattgg 120

tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccgattt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac atatgttccg 300

tggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaac 337

<210> 271
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 271
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttagtgcagc ctggagggtc ccggaaactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt agctatggaa tgcactgggt ccgtcaggct 120

ccagagaagg ggctggagtg ggtcgcatat attagtagta acgatggtac catctactat 180

gcagacacag tgaggggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgttc 240

ttgcaaatga ccagtctaag gtctgaggac acggccatgt attactgtgc aagaccttct 300

aactgggtct ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctcctc a 351

<210> 272
<211> 337
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 272
gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc cggcctgtca ctcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta tttacattgg 120

tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccgattt 180

tctggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaaatac acatgttcca 300

ttcacgttcg gctcggggac aaagttggaa ataaaac 337

<210> 273
<211> 348
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 273
caggtccaac tgcagcagcc tggggctgaa attgtgaggc ctggggcttc agtgaagctg 60

tcctgcaagg cttctggcta cacctttacc gactattgga tgaactgggt gaagcagagg 120

cctggacaag gccttgagtg gatcggaaca attgatcctt ctgatagtta tactcgttac 180

aatcaaaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca catccttcag ctcagcctac 240

atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct atttctgtgc aagtgggggа 300

cgggggtttg gttactgggg ccaagggact ccggtcactg tctctgta 348

<210> 274
<211> 319
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 274
caaattgttc tcacccagtc tccagcactc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60

atgacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgtact ggtaccagca gaagccaaga 120

tcctccccca aaccctggat ttatctcaca tccaacctgg cttctggagt ccctactcgc 180

ttcagtggca gtgggtctgg gacctcttac tctctcacaa tcagcagcat gggggctgaa 240

gatgctgcca cttattactg ccagcagtgg aatactaacc cacccacgtt cggtgctggg 300

accaagctgg agctgaaac 319

<210> 275
<211> 365
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 275
gacgtgaagc tcgtggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ttggagggtc cctgaaactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt agctatgcca tgtcttgggt tcgccagact 120

ccggagaaga ggctggagtg ggtcgcaacc attagtagtg gtggtggtaa cacctactat 180

ccagacagtg tgaagggtcg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgtac 240

ctgcaaatga gcagtttgaa gtctgaggac acggccatgt attactgtgc aagaagggat 300

tactacggta ctagctacgt tatgtttgct tactggggcc aagggactct ggtcactgtc 360

tctgc 365

<210> 276
<211> 319
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 276
gaaaatgttc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga aaaggtcacc 60

atgacctgta gtgccagctc aagtgtaaat tacatgtact ggtaccagca gaagtcaagc 120

acctccccca aactctggat ttatgacaca tccaaactga cttctggagt cccaggtcgc 180

ttcagtggca gtgggtctgg aaactcttac tctctcacga tcagcaacat ggaggctgaa 240

gatgttgcca cttattactg ttttcagggg agtgggtacc cactcacgtt cggctcgggg 300

acaaaattgg aaataaaac 319

<210> 277
<211> 336
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 277
gacgtgaagc tggtggagtc ggggggaggc ttagtgaggc ctggagggtc cctgaaactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt agatatacca tgtcttgggt tcgccagaca 120

ccggagaaga ggctggagtg ggccgcaacc attaatagtg gtggtagtaa cacctactat 180

ccagacagtg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgttc 240

ctgcaaatga gcagtctgaa gtctgaggac acagccatgt attactgtac aaatggtaac 300

cactggggcc aaggcaccac tctcacagtc tcctca 336

<210> 278
<211> 319
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 278
gaaaatgttc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga aaaggtcacc 60

atgacctgta gtgccagctc aagtgtaaat tacatgtact ggtaccagca gaagtcaagc 120

acctccccca aactctggat ttatgacaca tccaaactga cttctggagt cccaggtcgc 180

ttcagtggca gtgggtctgg aaactcttac tctctcacga tcagcaacat ggaggctgaa 240

gatgttgcca cttattactg ttttcagggg agtgggtacc cactcacgtt cggctcgggg 300

acaaaattgg aaataaaac 319

<210> 279
<211> 342
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 279
caggtgcaac tgcagcagcc tgggtctgtg ctggtgaggc ctggagattc agtgaagctg 60

tcgtgcaagg cttctggcta cacattcacc agctactgga tgcactgggt gaagcagagc 120

cctggacaag gccttgagtg gattggagag attcatcctc atagtggtag tactaactac 180

aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actgtagaca catcctccag cacagcctac 240

gtggatctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtgt aggtggtcac 300

tacgactact ggggccaagg caccactctc acagtctcct ca 342

<210> 280
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 280
agttttgtga tgacccaaac tcccaaattc ctgcttgtat cagcaggaga cagggttacc 60

ataacctgca aggccagtca gagtgtgaat aatgatgtag cttggtacca acagaagcca 120

gggcagtctc ctaaactgct gatatactat gcatccaatc gctacactgg agtccctgat 180

cgcttcactg gcagtggata tgggacggat ttcactttca ccatcagcac tgtgcaggct 240

gaagacctgg cagtttattt ctgtcagcag gattatagct ctcctcggac gttcggtgga 300

ggcaccaagc tggaaatcaa ac 322

<210> 281
<211> 359
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 281
caggtccaac tgcagcagcc tggtgctgag cttgtgaagc ctggggcctc aatgaagctg 60

tcctgcaagg cttctggcta cactttcacc agctactgga taaactgggt gaagcagagg 120

cctggacaag gccttgagtg gattggaaat atttttcctg atactactac tactaactac 180

aatgagaagt tcaagagcaa ggccacactg actgtagaca catcctccag cacagcctat 240

atgcagctca gcagcctgac atctgacgac tctgcggtct attattgtgc aagggagtac 300

tacgatggta cctacgatgc tatggattac tggggtcaag gaacctcagt caccgtctc 359

<210> 282
<211> 320
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 282
caaattgttc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtctcc 60

atgacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgcact ggtaccagca gaagtcaggc 120

acctccccca aaagatggat ttatgacaca tccaaactgg cttctggagt ccctgctcgc 180

ttcagtggca gtgggtctgg gtcctcttac tctctcacaa tcagcagcat ggaggctgaa 240

gatgctgcca cttattactg ccagcagtgg agtagcaccc cccccacgtt cggaggggg 300

accaagctgg aaataaaacg 320

<210> 283
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 283
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60

tcctgcaagg cttctggtta ctcattcact gactactaca tgcgctgggt gaagcaaagt 120

cctgaaaaga gccttgagtg gattggagag attaatccta gcactggtgg tactacctac 180

aaccagaact tcaaggccaa ggccacattg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcagctca agagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagaggggtt 300

tacttcttgt actactttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctcctca 357

<210> 284
<211> 337
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 284
gatgttgtga tgacccagac tccactcact ttgtcggtta ccattggaca accagcctcc 60

atctcttgca agtcaagtca gagcctctta gaaagtgatg gaaagacata tttgaattgg 120

ttgttacaga ggccaggcca gtctccaaag cgcctaatct atctggtgtc taaactggac 180

tctggagtcc ctgacaggtt cacgggcagt ggatcaggga cagatttcac actgaaaatc 240

agcagagtgg aggctgagga tttgggagtt tattattgct ggcaaggtat acaacatcct 300

cggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaac 337

<210> 285
<211> 339
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 285
caggttcaac tgcagcagtc tggggctgag ctggtgaggc ctggggcttc agtgacgctg 60

tcctgcaagg cttcgggcta cacatttact gactatgaaa tgcactgggt gaagcagaca 120

cctgtgcatg gcctggaatg gattggaggt attgatcctg aaactggtgg tactgcctac 180

aatcagaagt tcaagggcaa ggccacactg actgcagaca aatcctccag cacagcctac 240

atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgccgtct acttctgtac aagatggttt 300

tcttactggg gcccagggac tctggtcact gtctctgca 339

<210> 286
<211> 334
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 286
gacattgtgc tgacacagtc tcctgcttcc ttagctgcat ctctggggca gagggccacc 60

atctcatgca gggccagcca aagtgtcagt acatctagct atagttatat gcactggtac 120

caacagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatcaagt atgcatccaa cctagaatct 180

ggggtccctg ccaggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat 240

cctgtggagg aggaggatac tgcaacatat tactgtcagc acagttggga gattccgtgg 300

acgttcggtg gaggcaccaa gctggaaatc aaac 334

<210> 287
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 287
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt gactatggaa tgcactgggt tcgtcaggct 120

ccagagaagg ggctggagtg ggttgcatac attagtagtg gcagtagaac catctactat 180

gcagacacag tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgttc 240

ctgcaaatga ccagtctgag gtctgaggac acggccatgt attactgtgc aagggtttac 300

tacggaagta cctacgggta tttcgatgtc tggggcacag ggaccacggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 288
<211> 335
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 288
gacattgtgc tgacacagtc tcctgcttcc ttagctgcat ctctggggca gagggccacc 60

atctcatgca gggccagtca aagtgtcagt acatctagct atagttatat gcactggtac 120

caacagaagc caggacatcc acccaaactc ctcatcaggt atgcatccaa cctagagtct 180

ggggtccctg ccaggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat 240

cctgtggagg aggaggatac tgcaacatat tactgtcagc acagttggga gattccgtac 300

acgttcggag gggggaccaa gctggaaata aaacg 335

<210> 289
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 289
gaggtccagc ttcagcagtc aggacctgag ctggtgaaac ctggggcctc agtgaagata 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactacaaca tgcactgggt gaagcagagc 120

catggaaagc gccttgagtg gattggatat attcatcctt acaatggtgg tagtggctac 180

aaccagaagt tcaagaggaa ggccacattg actgtagaca attcctccaa cacaacctac 240

atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatcttat 300

gattacgaca cctggtttgg ttactggggc caagggactc tggtcactgt ccgtgca 357

<210> 290
<211> 337
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 290
gatgttgtgc tgacccagac tccactcact ttgtcggtta ccattggaca accagcctcc 60

atctcttgca agtcaagtca gagcctctta tatagtgatg gaaagacata tttgaattgg 120

ttgttacaga ggccaggcca gtctccaaag cgcctaatct atctggtgtc taaactggac 180

tctggagtcc ctgacaggtt cactggcagt ggatcaggga cagatttcac actgaaaatc 240

agcagagtgg aggctgagga tttgggactt tattattgct ggcaaggtac acattttccg 300

tggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaac 337

<210> 291
<211> 341
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 291
gaagtgaaac ttgaggagtc tggaggaggc ttggtgcaac ctggaggatc catgaaactc 60

tcctgtgttg cctctggatt cactttcagt aactactgga taaactgggt ccgccagtct 120

ccagagaagg ggcttgagtg ggttgctgaa atcagaatga aatctaataa ttatgcaaca 180

cattatgcgg agtctgtgaa agggaggttc accatctcaa gagatgattc caaaagttgt 240

gtctacctgc aaatgaacaa cttaagacct gaagacactg gcatttatta ctgtaccagg 300

gggggctact ggggccaagg caccactctc accgtctcct c 341

<210> 292
<211> 341
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 292
gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctagctgtgt cagttggaga gaaggttact 60

atgagctgca agtccagtca gagcctttta tatagtagca atcaaaagaa ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgctga tttactgggc atccactagg 180

gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagtg tgaaggctga agacctggca gtttatttct gtcagcaata ttataactat 300

ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gaaataaaac g 341

<210> 293
<211> 350
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 293
cagatccagt tggtgcagtc tggacctgaa ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60

tcctgcaagg cttctgggta taccttcaca aactatggaa tgaactgggt gaagcaggct 120

ccaggaaagg gtttaaagtg gatggcctgg ataaacacct acactggaga gccaacatat 180

gctgatgact tcaagggacg gtttgccttc tctttggaaa cctctgccag cactgcctct 240

ttgcagatca tcaacctcaa aaatgaggac acggctacat atttctgtgc aaggatcggc 300

gatagtagtc cctctgacta ctggggccag ggcaccactc tcacagtctc 350

<210> 294
<211> 325
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 294
caaattgttc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctctagggga acgggtcacc 60

atgacctgca ctgccagctc aagtgtaagt tccagttact tgcactggta ccagcagaag 120

ccaggatcct cccccaaact ctggatttat agcacatcca acctggcttc tggagtccca 180

cctcgcttca gtggcagtgg gtctgggacc tcttactctc tcacaatcag cagcatggag 240

gctgaagatg ctgccactta ttactgccac cagtatcatc gttccccacc gacgttcggt 300

ggaggcacca agctggaaat caaac 325

<210> 295
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 295
cagatccagt tggtgcagtc tggacctgaa ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60

tcctgcaagg cttctgatta taccttcaca gacttttcaa tacactgggt gaggcagtct 120

ccaggaaagg gtttaaagtg gatgggctgg ataaacactg agactggtga gccaacagtt 180

gcagaagact tcaagggacg gtttgccttc tctttggaga cctctgccag cactgccttt 240

ttgcagatct acaacctcaa aaatgaggac tcggcaacat atttctgtgc taggggcgt 300

tactacggcc atgactatgc tatggactac tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 296
<211> 323
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 296
gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60

atcacatgtc gagcaagtgg gaatcttcac aattatttag catggtatca gcagaaacag 120

ggaaaatctc ctcagctcct ggtctataat gcaaaaacct tagcagatgg tgtgccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc aggaacacaa tattctctca agatcaacag cctgcagcct 240

gaagattttg ggacttattt ctgtcaacat ttttggagta ttcctcccac gttcgggggg 300

gggaccaagc tggaaataaa acg 323

<210> 297
<211> 357

<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp”

<400> 297
gaagtgaagc ttgaggagtc tggaggaggc ttggtgcaac ctgggggatc catgaaactc 60

tcctgtgttg cctctggatt cactttcagt aactattgga tgaactgggt ccgccagtct 120

ccagagaagg ggcttgagtg ggttgctgaa attagattga aatctaataa ttatgcaaca 180

cattatgcgg agtctgtgaa agggaggttc accatctcaa gagatgattc caaaagtagt 240

gtctacctgc aaatgaacaa cttaagagct gaagacactg gcatttatta ctgtaccaga 300

ctctgggact ttgctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcctca 357

<210> 298
<211> 319
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 298
caaattgttc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60

atatcctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatatact ggtaccagca gaagccagga 120

tcctccccca aaccctggat ttatcgcaca tccaacctgg cttctggagt ccctgctcgc 180

ttcagtggca gtgggtctgg gacctcttac tctctcacaa tcagcagcat ggaggctgaa 240

gatgctgcca cttattactg ccagcagtat catagttacc cgtggacgtt cggtggaggc 300

accaagctgg aaatcaaac 319

<210> 299
<211> 375
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 299
caggttactc tgaaagagtc tggccctggg atattgcagc cctcccagac cctcagtctg 60

acttgttctt tctctgggtt ttcactgagc acttttggta tgggtgtagg ctggattcgt 120

cagccttcag ggaagggtct ggagtggctg gcacagattt ggtgggatga ttataagtac 180

tataacccag ccctgaagag tcggctcaca atctccaagg atacctccaa aaaccaggta 240

ttcctcaaga tcgccaatgt ggacactgca gatactgcca catactactg tgctcgaatc 300

ggatattact ccggtagtag ccgttgctgg tacttcgatg tctggggcac agggagcacg 360

gtcaccgtct cctca 375

<210> 300
<211> 323
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 300
agtattgtga tgacccagac tcccaaattc ctgcttgtat cagcaggaga cagggttgcc 60

ataacctgca aggccagtca gagtgtgagt aatgatgtag cttggtacca acagaagcca 120

gggcagtctc ctacactgct gatatcctat gcatccaatc gctacactgg agtccctgat 180

cgcttcactg gcagtggata tgggacggat ttcactttca ccatcagcac tgtgcaggct 240

gaagacctgg cagtttattt ctgtcagcag ggttatagct ctccgttcac gttcggaggg 300

gggaccaagc tggaaataaa acg 323

<210> 301
<211> 350
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 301
caggttcagc tgcaacagtc tgacgctgag ttggtgaaac ctggggcttc agtgaagata 60

tcctgcaagg ctgctggcta caccttcact gaccttacta ttcactgggt gaaacagagg 120

cctgaacagg gcctggagtg gattggatat atttatcctg gagatagtaa tactaagtac 180

aatgagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgcagata aatcctccag cactgcctat 240

atgcagctca acagcctgac atctgaggat tctgtagtgt atttctgtgc aagaatgatt 300

actccttact actttgacta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc 350

<210> 302
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 302
gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcct ctgtgggaga aactgtcacc 60

atcgcatgtc gagcaagtgg gaatattcac aattatttaa catggtatca gcagagacag 120

ggaaaatctc ctcagctcct ggtctataat gcaaaaacct tagcagttgg tgtgccatca 180

aggttcagtg gcagtggctc aggaacacaa tattctctca agatcaacag cctgcagcct 240

gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttggaata ctcctccgac gttcggtgga 300

ggcaccaagc tggaaatcaa ac 322

<210> 303
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 303
gaagtgaagc ttgaggagtc tggaggaggc ttggtgcaac ctggaggatc catgaaactc 60

tcctgtgttg cctctggaat cattttcagt aactactgga tgaattgggt ccgccagtct 120

ccagagaagg ggcttgagtg ggttgctgaa attagattga aatctaataa ttattcaaca 180

cattatgcgg agtctgtgaa agggaggttc accatctcaa gagatgattc caaaagtagt 240

gtctacctgc aaatgaacaa cttaagagct gaagacactg gcatttatta ctgtaccagg 300

cactattact atgctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcctca 357

<210> 304
<211> 323
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 304
gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60

atcagttgca gtgcaagtca gggcattagc aattatttaa actggtatca gcagaaacca 120

gatggaactg ttaaactcct gatctattac acatcaagtt tacactcagg agtcccatca 180

aagttcagtg gcagtgggtc tgggacagat tattctctca ccatcagcaa cctggaacct 240

gaagatatcg ccacttacta ttgtcagcag tatagtaagc ttccgtacac gttcggaggg 300

gggaccaagc tggaaataaa acg 323

<210> 305
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 305
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt agctatggca tgtcttgggt tcgccagact 120

ccggagaaga ggctggagtg ggtcgcagcc attaatagta atggtggtag cacctactat 180

ccagacactg tgaagggccg actcaccatc tccagagaca atggcaagaa caccctgtac 240

ctgcaaatga gcagtctgag gtctgaggac acagccttgt attactgtgt aagggatgat 300

ggttactacg ttttctttgc ttactggggc caagggactc tggtcactgt ctctgca 357

<210> 306
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 306
gacatccaga tgacacaatc ttcatcctac ttgtctgtat ctctaggagg cagagtcacc 60

attacttgca aggcaagtga ccacattaat aattggttag cctggtatca gcagaaacca 120

ggaaatgctc ctaggctctt aatatctggt gcaaccagtt tggaaactgg ggttccttca 180

agattcagtg gcagtggatc tggaaaggat tacactctca gcattaccag tcttcagact 240

gaagatgttg ctacttatta ctgtcaacag tattggagta ctcctcccac gttcggtgct 300

gggaccaagc tggagctgaa ac 322

<210> 307
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 307
caggtgcagc tgaagcagtc aggacctggc ctagtggcgc cctcacagag cctgtccatc 60

acatgcactg tctctgggtt ctcattaacc agctatggtg tagactgggt tcgccagtct 120

ccaggaaagg gtctggagtg gctgggagtg atatggggtg gtggaagcac aaattataat 180

tcagctctca aatccagact gagcatcacc aaggacaact ccaagagcca agttttctta 240

aaaatgaaca gtctgcaaac tgatgacaca gccatgtact actgtgccag tggagactac 300

gatggtagcc tctggtttgc ttactggggc caagggactc tggtcactgt ctctgca 357

<210> 308
<211> 337
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 308
gatattgtga taacccagga tgaactctcc aatcctgtca cttctggaga atcagtttcc 60

atctcctgca ggtctagtaa gagtctccta tataaggatg ggaagacata cttgaattgg 120

tttctgcaga gaccaggaca atctcctcag ctcctgatct atttgatgtc cacccgtgca 180

tcaggagtct cagaccggtt tagtggcagt gggtcaggaa cagatttcac cctggaaatc 240

agtagagtga aggctgagga tgtgggtgtg tattactgtc aacaacttgt agagtatcct 300

cggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaac 337

<210> 309
<211> 339
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 309
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggagac ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc 60

tcctgtgtag cctctggatt cactttcagt agctatggca tgtcttgggt tcgccagact 120

ccagacaaga ggctggagtg ggtcgcaacc attagtagtg gtggtacttt cacctactat 180

ccagacagtg tgaaggggcg attcaccgtc tccagagaca atgccaagaa caccctgtac 240

ctgcaaatga gcagtctgaa gtctgaggac acagccatgt attactgttc aagacatggg 300

tggggctggg gccaagggac tctggtcact gtctctgca 339

<210> 310
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 310
gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60

atcacatgtc gagcaagtgg gaatattcac aattatttag catggtatca gcagaaacag 120

ggaaaatctc ctcagctcct ggtctataat gcaaaagcct tagcagatgg tgtgccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc aggaacacaa tattctctca agatcaacag cctgcagcct 240

gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttggagta ttcctccgac gttcggtgga 300

ggcaccaagc tggaaatcaa ac 322

<210> 311
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 311
gaagtgaagc ttgaggagtc tggaggaggc ttggtgcaac ctggaggatc catgaaactc 60

tcctgtgttg cctctggatt cactttcagt aactactgga tgaactgggt ccgccagtct 120

ccagagaagg ggcttgagtg ggttgctgaa attagattga aatctaataa ttatgcaaca 180

cattatgcgg agtctgtgaa agggaggttc accatctcaa gagatgattc caaaagtagt 240

gtctacctgc aaatgaacaa cttaagagtt gaagacactg ccatttatta ctgtaccagg 300

cactatgact atgctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcctca 357

<210> 312
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 312
gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60

atcacatgtc gagcaagtgg gaatattcac aattatttag catggtatca gcagaaacag 120

ggaaaatctc ctcagctcct ggtctataat gcaaaaacct tagcagatgg tgtgccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc aggaacacaa tattctctca ggatcaacag cctgcagcct 240

gaagattttg ggagttatta ctgtcaacat ttttggagta ctcctccgac gttcggtgga 300

ggcaccaagg tggaaatcaa ac 322

<210> 313
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 313
gaagtgaagc ttgaggagtc tggaggaggc ttggtacaac ctggaggatc catgaaactc 60

tcctgtgttg cctctggatt cactttcagt gactactgga tgaactgggt ccgccagtct 120

ccagagaagg ggcttgagtt ggttgctgaa attagattga tatctaataa ttatgcaaca 180

cattatgcgg agtctgtgaa agggaggttc accatctcaa gagatgattc caaaagtagt 240

gtctacctgc aaatgaacaa cttaagagct gaagacactg gcatttatta ctgtaccagg 300

cactattact atgctttgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcctca 357

<210> 314
<211> 341
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 314
gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctaactgtgt cagttggaga gaaggttact 60

ttgagctgca agtccagtca gagcctttta tatagtacca atcaaaagat ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgctga tttactgggc atccactagg 180

gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcgcc 240

atcagcaatg tgaaggctga agacctggca gtttattact gtcagcaata ttatagctat 300

ccgtacacgt tcggaggggg gaccaagctg gaaataaaac g 341

<210> 315
<211> 339
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 315
gaggttcagc tgcagcagtc tggggcagag cttgtgaagc caggggcctc agtcaagttg 60

tcctgcacag cttctggctt caacattaat gacacctatt accattggtt gaagcagagg 120

cctgaacagg gcctggagtg gattggaagg attgatcctg cgaatgttaa tactaaatat 180

gacccgaagt tccagggcaa ggccacttta acagcagaca catcctccaa cacagcctac 240

ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtgg taggggaat 300

gcttactggg gccaagggac tctggtcact gtctctgca 339

<210> 316
<211> 313
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 316
caaattgttc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctctagggga ggagatcacc 60

ctaacctgca gtgccagttc gagtgtaagt tacatgcact ggtaccagca gaagtcaggc 120

acttctccca aactcttgat ttatagcaca tccaacctgg cttctggagt cccttctcgc 180

ttcagtggca gtgggtctgg gacctttttat tctctcacaa tcagcagtgt ggaggctgaa 240

gatgctgccg attattactg ccatcagtgg agtagtttca cgttcggctc ggggacaaag 300

ttggaaataa aac 313

<210> 317
<211> 360
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 317
gaggtccagc tgcaacagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgtaagg cttctggata cacattcact gactcctaca tgaactgggt gaagcagagt 120

catggaaaga gccttgagtg gattggacgt gttaatccta acaatggtgg tgctagctac 180

aaccacaagt tcaagggcaa ggccacattg acagtagaca aatccctcag cacagcctac 240

atgcgcctca acagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgttc aagatctgga 300

gacctttatt actatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca 360

<210> 318
<211> 320
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 318
caaattgttc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60

atgacctgca gtgccagctc aagtataagt tacatgcact ggtaccagca gaagtcaggc 120

acctccccca aaagatggat ttatgacaca tccaaactgg cttctggagt ccctgctcgc 180

ttcagtggca gtgggtctgg gacctcttac tctctcacaa tcagcaacat ggaggctgaa 240

gatgctgcca cttattactg ccagcagtgg agtagtaccc cacccacgtt cggaggggggg 300

accaagctgg aaataaaacg 320

<210> 319
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 319
gaggtccagt tgcaacagtc tggacctgag ctaatgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggata tatatttact gactacaaca tgcactgggt gaagcagaac 120

caaggaaaga gcctagagtg gataggagaa gttaatccta acactggtgg tattggctac 180

aatcagaaat tcaaaggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atggacctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagagatggc 300

aattattgct ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctcctc a 351

<210> 320
<211> 334
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 320
gatattgtga tgacgcaggc tgcattctcc aatccagtca ctcttggaac atcagcttcc 60

atctcctgca ggtctagtaa gagtctccta catagtaatg gcatcactta tttgtattgg 120

tatctgcaga agccaggcca gtctcctcag ctcctgattt atcagatgtc caaccttgcc 180

tcaggagtcc cagagaggtt cagtagcagt gggtcaggat ctgatttcac actgagaatc 240

agcagagtgg aggctgagga tgtgggtgtt tattactgtg ctcaaaatct agaacatccg 300

acgttcggtg gaggcaccaa gctggaaatc aaac 334

<210> 321
<211> 360
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 321
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggagac ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt aactatggca tgtcttgggt tcgccagact 120

ccagacaaga ggctggagtg ggtcgcaacc attagtactg gtggtactta cacctactat 180

ccagacagtg tgaaggggcg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgtac 240

ctgcaaatga gcagtctgaa gtctgaggac acagccatgt attactgtgt aggacagtcc 300

tatagtgact acgtctcgtt tgcttattgg ggccaaggga ctcaggtcac tgtctctgca 360

<210> 322

<211> 338
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 322
gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta tttacattgg 120

tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct ccaaagtttc caaccgattt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac tctcaagatc 240

agcagagtgg aggctgaaga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttcct 300

cccatgttcg gagggggggac caggctggaa ataaaacg 338

<210> 323
<211> 345
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 323
gaggttcagc tgcagcagtc tggggctgag cttctgaagc caggggcctc agtcaagttg 60

tcctgcacag cttctggcct caacattaaa gactactata tacactgggt gtaccagagg 120

cctgaacagg gcctggagtg gattggaagg attgatcctg agagtgataa tactttatat 180

gacccgaagt tccagggcaa ggccagtata acagcagaca catcctccaa cacagcctac 240

ctgcagctca gcagcctgac atctgaggac actgccgtct attactgtac tactaatacc 300

ccttttgctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctaca 345

<210> 324
<211> 337
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 324
gatgttttga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagcattgta catagtaatg gaaacaccta tttagaatgg 120

tacctgcaga aaccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccgattt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agtagagtgg aggctgagga tctgggagtt tattattgct ttcaaggttc acatgttcca 300

ttcacgttcg gctcggggac aaagttggaa ataaaac 337

<210> 325
<211> 360
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 325
caggtccagt tgcaacagtc tggagctgaa ctggtaaggc ctgggacttc agtgaaggtg 60

tcctgcaaga cttctggata cgccttcact aattacttga tagagtgggt aaagcagagg 120

cctggacagg gccttgagtg gattggggtg attaatcctg gaagtggtgg tactaactac 180

aatgagaagt tcaaggtcaa ggcaacactg actgcagaca aatcctccag cactgcctac 240

atgcagctca ccagcctgac atctgatgac tctgcggtct atttctgtac aagaagggat 300

ggttacttct ttccctggtt tgcttactgg ggccaaggga ctctggtcac tgtctctgca 360

<210> 326
<211> 340
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 326
gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctagctgtgt cagttggaga gaaggttact 60

atgagctgca agtccagtca gagcctttta tatagtagca atcaaaagaa ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgctga tttactgggc atccactagg 180

aaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagtg tgaaggctga agacctggca gtttattact gtcatcaata ttatagctat 300

ccgctcacgt tcgctgctgg gaccaagctg gagctgaaac 340

<210> 327
<211> 345
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 327
caggtgcaac tgcagcagcc tgggtctgtg ctggtgaggc ctggagcttc agtgaagctg 60

tcctgcaagg cttctggcta cacattcacc agctactgga tgcactgggt gaagcagagg 120

cctggacaag gccttgagtg gattggagag attcatccta ataatggtag tactaactac 180

aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actgtagaca catcctccag cacagcctac 240

gtggatctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagatggact 300

ttgtttactt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 328
<211> 337
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 328
gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta tttactttgg 120

tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccgattt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcgc actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg 300

tggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaac 337

<210> 329
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 329
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttagtgaagc ctggagggtc ccggaaactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt gactatggaa tgcactgggt ccgtcaggct 120

ccagagaagg ggctggagtg ggttgcatac attagtcgtg gcagtagtac catccactat 180

gcagacacag tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgttc 240

ctgcaaatga ccagtctaag gtctgaggac acagccatgt attactgtgc aaggcctttc 300

aactggtact tcgatgtctg gggcgcaggg acaacggtca ccgtctcctc a 351

<210> 330
<211> 340
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 330
gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctagctgtgt cagttggaga gaaggttact 60

atgacctgca agtccagtca gagcctttta tatagtagca atcaaaagaa ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactactaa tttactgggc atccactagg 180

gaatctgggg tccctgatcg cttcataggc agtggctctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagtg tgaaggctga agacctggca atttattact gtcagcaata ttatcgctat 300

ccgctcacgt tcggtgctgg gaccaaactg gagctgaaac 340

<210> 331
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 331
caggtccaac tgcagcagcc tggggctgag cttgtgaagc ctggggcttc agtgatgctg 60

tcctgcaagg cttctggcta caccttcacc agctactggg tacactgggt gaagcagagg 120

cctggacaag gccttgagtg gattggagtg attaatccta gaaacggtcg taacaattac 180

aatgagaagt tcaagaccaa ggccacactg actgtagaca aatcatccag cacagcctac 240

atgcaactca gcagcccgac atctgaggac tctgcggtct attactgtgc acgagaggat 300

tacgacgggg gggactatgc tatggactac tggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 332
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 332
gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtcggcct ctctgggaga cagggtcacc 60

atcagttgca gtgcaagtca gggcattaac aattatttaa actggtatca gcagaaacca 120

gatggaactg ttacactcct gatctattac acatcaagtt tacactcagg agtcccatcc 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat tattctctca ccatcagcaa cctggaacct 240

gaagatattg ccacttacta ttgtcagcag tatagtaagc ttccgtggac gttcggtgga 300

ggcaccaagc tggaaatcaa ac 322

<210> 333
<211> 363

<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 333
gaggtcgagc tgcaacagtc tggacctgag ctggtgaagc cgggggcttc agtgaagata 60

tcctgcaaga cttccggaaa cacatacact gaatacacca tgcagtgggt gaagctgagc 120

catggaaaga gccttgagtg gattggaggt attaatccta acaatggtat tactagttac 180

aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atggagctcc gcagcctgaa atctgaggat tctgcagtct attactgtgc aagagcggga 300

cttggtaact acgtttgggc tatggactac tggggtcaag gagcctcagt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 334
<211> 337
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 334
gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacaataatg gaaacaccta tttacattgg 120

tacctgcaga agccaggcca gtctccaaac ctcctgatct acaaagtttc caaccgattt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcatagtgg aggctgagga tctgggactt tatttctgct ctcaaagtac acatgttcct 300

cggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaac 337

<210> 335
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 335
caggtccagc ttccgcagtc tggggctgaa ctggcaaaac ctggggcctc agtgaaaatc 60

tcctgcaagg cttctggctt cacctttact tcctactgga tgcactgggt aaaacagagg 120

cctggacagg gtctggaatg gattggatac attaatccta gcactgatta tactgagtac 180

aatcagaagt tcaaggacaa ggccacattg actgcagaca aatcctccag cacagcctac 240

atgcaactgg gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatcttcc 300

tacggtagta gccccctttga ttattggggc caaggctcca ctctcacagt ctcctca 357

<210> 336
<211> 340
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 336
gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctagctgtgt ctgttggaga gaaggttact 60

atgaactgcg agtccagtca gagcctttta tatagtagca atcaaaagaa ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgctga tttactgggc atccactagg 180

gattctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagtg tgagggctga agacccggca gtttattact gtcagcaata ttatagctat 300

ccgctcacgt tcggtgctgg gaccaagctg gagctgagac 340

<210> 337
<211> 348
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 337
gaagtgaagc ttgaggagtc tggaggaggc ttggtgcaac ctggaggatc catgaaactc 60

tcttgcgctg cctctggatt cacttttagt gacgcctgga tggactgggt ccgccagtct 120

ccagagaagg ggcttgagtg ggttgctgaa ataagaagca aagctaataa tcatgcaaca 180

tactatgctg agtctgtgaa agggaggttc accatctcaa gagatgattc caaaagtagt 240

gcctacctgc aaatgaacag cttaagagct gaagacactg gcatttatta ttgtgtttca 300

acagggactt cttactgggg ccaagggact ctggtcactg tctctgca 348

<210> 338
<211> 319
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 338
caaattgttc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60

atgacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgcact ggtaccagca gaagtcaggc 120

acctccccca aaagatggat ttatgacaca tccaaactgg cttctggagt ccctcctcgc 180

ttcagtggcc gtgggtctgg gacctcttac tctctcacaa tcagcagcat ggaggctgaa 240

gatgctgcca cttattactg ccagcattgg agtagtaacc cacccacgtt cggtgctggg 300

accaagctgg agatgaaac 319

<210> 339
<211> 348
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 339
gaggtccagc tgcaacagtc tggacctgag ctaatgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggaga cacattcact gactacaaca tacactgggt gaagcagaac 120

caaggaaaga gcctagagtg gataggagaa gttaatccta acattggtgg tattggctat 180

aaccagaagt tcaaaggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aatggggagg 300

tggtacttcg atgtctgggg cgcagggacc acggtcaccg tctcctca 348

<210> 340
<211> 337
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 340
gatattgtga tgacccagtc tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta tttacattgg 120

tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acagagtttc caaccgattt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcacgatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatcttcct 300

cggacgttcg gtggaggcac caagctggag atcaaac 337

<210> 341
<211> 345
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 341
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag atggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactactaca tgcactgggt gaaacagagc 120

catggaaaga gccttgagtg gattggacgt gttaatacta acaatggtgg aactagctac 180

gaccagaagt tcgagggcaa ggccacattg actgttgaca aatcttccag cacagcctac 240

atggagctca acagcctgac atctgaggac tctgcggtct attactgtgt aatccctgcc 300

tggtttgctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 342
<211> 337
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 342
gatattgtga tgacccagtc tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta tttacattgg 120

tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acagagtttc caaccgattt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcacgatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatcttcct 300

cggacgttcg gtggaggcac caagctggag atcaaac 337

<210> 343
<211> 342
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 343
caggtgcaac tgcagcagtc tgggtctgtg ctggtgaggc ctggagcttc agtgaagctg 60

tcctgcaagg cttctggcta cacattcacc agctactgga tgcactgggt gaagcagagg 120

cctggacaag gccttgagtg gattggagag attcatccta atagtgggaa tactaattac 180

aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactg actgtagaca catcctccag cacagcctac 240

gtggatctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct attattgtgc aggtggtaac 300

tacgactact ggggccaagg caccactctc acagtctcct ca 342

<210> 344
<211> 335
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 344
gacattgtgc tgacccaatc tccagcttct ttggctgtat ctctagggca gagggccacc 60

atatcctgca gagccagtga aagtgttgat agttatggca atagttttat gcactggtac 120

cagcagaaac caggacagcc acccaaagtc ctcatctatc gtgcatccaa cctagaatct 180

gggatccctg ccaggttcag tggcagtggg tctaggacag acttcaccct caccattaat 240

cctgtggagg atgaagatgt tgcaacctat tactgtcagc aaagtaatga ggatccgtac 300

acgttcgggg gggggaccaa gctggaaata aaacg 335

<210> 345
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 345
gaggttcagc tcgagcagtc tgggactgtg ctggcaaggc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggcta cacctttacc agctactgga tgcactgggt gaaacagagg 120

cctggacagg gtctggaatg gattggcgct ttttatcctg gaaacagtgg tacttattac 180

aaccaaaaat tcaaggacaa ggccaaactg actgcagtca catctgccag cactgcctac 240

atggagctca gcagcctgac aaatgaggac tctgcggtct attactgttc aagatcaggg 300

tcaggaaggt ttgcttactg gggccaaggg actctggtca ctgtctctgc a 351

<210> 346
<211> 319
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 346
caaattgttc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60

atgacctgca gtgccagctc aagtgtgagt tacatgcact ggtaccagca gaagtcaggc 120

acctccccca aaagatggat ttatgacaca tccaaactgg cttctggagt ccctgctcgc 180

ttcagtggca gtgggtctgg gacctcttac tctctcacaa tcagcagcat ggagactgaa 240

gatgctgcca cttattactg ccagcagtgg agtaataccc cacccacgtt cggctcggtg 300

acaaagttgg aaataaaac 319

<210> 347
<211> 348
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 347
gaggtccagc tgcaacagtc tggacctgag ctaatgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gaccacaaca tacactgggt gaaacagcac 120

caaggaaaga gcctagagtg gataggagaa attaatccta acactggtgg tactggctac 180

aaccagaagt tccaaggcaa ggccacaatg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atggaactcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgt tagaggactg 300

tacttctttg actactgggg ccaaggcacc actctcacag tctcctca 348

<210> 348
<211> 337
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 348
gatattgtga taacccagga tgatctctcc aatcctgtca cttctggaga atcagtttcc 60

atctcctgca ggtctagtaa gagtctccta tataaggatg ggaagacata cttgaattgg 120

tttctgcaga gaccaggaca atctcctcag ctcctgatct atttgatgtc cacccgtgca 180

tcaggagtct cagaccggtt tagtggcagt gggtcaggaa cagatttcac cctggaaatc 240

agtagagtga aggctgagga tgtgggtgtg tattactgtc aacaacttgt agagtatcct 300

cggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaac 337

<210> 349
<211> 339
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 349
gaggtgcacc tggtggagtc tgggggagac ttagtgaagc ctggagggtc cctgaaactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt agctatggca tgtcttgggt tcgccagact 120

ccagacaaga ggctggagtg ggtcgcaacc attagtagtg gtggtactta cacctactat 180

ccagacagtg tgaaggggcg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa caccctgtat 240

ctgcaaatga gcagtctgaa gtctgaggac acagccatgt attactgttc aagacatggg 300

tggggctggg gccaagggac tctggtcact gtctctgca 339

<210> 350
<211> 319
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 350
caaattgttc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60

atgacctgca gtgccagctc aagtgttagt tacatgcact ggtaccagca gaagtcaggc 120

acctccccca aaagatggat ttatgacaca tccaaactgg cttctggagt ccctgctcgc 180

ttcagtggca gtgggtctgg gacctcttac tctctcacaa tcagcagcat ggaggctgaa 240

gatgctgcca cttattactg ccagcagtgg agtagtaccc cacccacgtt cggctcgggg 300

acaaagttgg aaataaaac 319

<210> 351
<211> 360
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 351
gaggtccagc tgcaacagtc tggacctgag ctaatgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactacaaca tgcactgggt gaagcagaac 120

caaggaaaga gcctagagtg gataggagaa attaatccca acactggtgg tactggctac 180

aaccagaagt tcaaaggcaa ggccacattg actgtagaca agttttccag cacagccttc 240

attgagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcaatct attactgtac aagaggggtt 300

tacgaccact attggtactt cgatgtctgg ggcgcaggga ccacggtcac cgtctcctca 360

<210> 352
<211> 335
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 352

gacattgtgc tgacccaatt tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc 60

ataccctgca gagccagtga aagtgttgat agttatggca atagttttat gcactggttc 120

cagcagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatc gtgcatccaa cctagaatct 180

gagatccctg ccaggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caccattaat 240

cctgtggagg ctgatgatgt tgcaacctat tactgtcagc aaagtcatga ggatccgtac 300

acgttcggag gggggaccaa gatggaaata aaacg 335

<210> 353
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 353
gaggttcagc tgcagcagtc tgggactgtg ctggcaaggc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggcta tacctttacc agctactgga tgcactgggt aaaacagagg 120

cctggacagg gtctggaatg gattggcgct atttatcctg gaaagaatga tactacctac 180

aaccagaagt tcaagggcaa ggccaaactg actgcagtca catctgccag cactttatac 240

atggagctca gcagcctgac aaatgaggac tctgcggtct attactgtac aagatctgga 300

aagggttact ttgcttactg gggccaaggg actctggtca ctgtctctgc a 351

<210> 354
<211> 337
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 354
gatgttgtga tgacccagtc tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60

atctcttgca gatctagtca gagcattgta catagtaatg gaaacaccta tttagaatgg 120

tacctgcaga aaccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccgattt 180

tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240

agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tattactgct ttcaaggttc acatgttcct 300

ccgacgttcg gtggaggcac caaactggaa atcaaac 337

<210> 355
<211> 354
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 355
caggttactc tgaaagagtc tggccctggg atattgcagc cctcccagac cctcagtctg 60

acttgttctt tctctgggtt ttcactgagc acttctggta tgggtgtgag ctggattcgt 120

aagacttcag gaaagggtct ggaatggctg gcacacattt tctgggatga tgacaagtgg 180

tataatccat ccctgaagag ccggctcaca atctccaagg ctacctccag caaccaggta 240

ttcctcatac tcaccagtgt ggatactgcc gatactgcca catactactg tgctaccttc 300

tatggtctct actttgccta ctggggccaa ggcaccactc tcacagtctc ctca 354

<210> 356
<211> 340
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 356
gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctagctgtgt ctgttggaga gaaggttact 60

atgaactgcg agtccagtca gagcctttta tataatagca atcaaaagaa ctacttggcc 120

tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgctga tttactgggc atccactagg 180

gattctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagtg tgagggctga tgacccggca gtttattact gtcagcaata ttttaactat 300

ccgctcacgt tcggtgctgg gaccaagctg gagctgaaac 340

<210> 357
<211> 348
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 357
gaagtgaagc ttgaggagtc tggaggaggc ttggtgcaac ctggaggatc catgaaactc 60

tcttgcgctg cctctggatt cacttttagt gacgcctgga tggactgggt ccgccagtct 120

ccagagaagg ggcttgagtg ggttgctgaa ataagaagca aacctaataa tcatgcaaca 180

tactatgctg agtctgtgaa agggaggttc accatctcaa gagatgattc caaaagtagt 240

gcctacctgc aaatgaacag cttaagagct gaagacactg gcatttatta ctgtgtttca 300

acagggactt cttactgggg ccaagggact ctggtcactg tctctgca 348

<210> 358
<211> 321
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit Tổng hợp

<400> 358
caaattgttc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60

atgacctgca gtgccagctc aagtataagt tacatgcact ggtaccagca gaagtcaggc 120

acctccccca aaagatggat ttatgacaca tccaaactgg cttctggagt ccctgctcgc 180

ttcagtggca gtgggtctgg gacctcttac tctctcacaa tcagcaacat ggaggctgaa 240

gatgctgcca cttattactg ccagcagtgg agtagtaccc cacccacgtt cggaggggg 300

accaagctgg aaataaaacg g 321

<210> 359
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp”

<400> 359
gaggtccagt tgcaacagtc tggacctgag ctaatgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggata tatatttact gactacaaca tgcactgggt gaagcagaac 120

caaggaaaga gcctagagtg gataggagaa gttaatccta acactggtgg tattggctac 180

aatcagaaat tcaaaggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atggacctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagagatggc 300

aattattgct ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctcctc a 351

<210> 360
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 360
gacatcaaga tgacccagtc tccatcttcc atgtatgcat ctctaggaga gagagtcact 60

ctcacttgca aggcgagtca ggacattaat agctatttaa gctggttcca gcagaaacca 120

gggaaatctc ctgagaccct gatctatcgt gcaaacagat tgatagatgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggcaagat tattctctca ccatcagcag cctggagtat 240

gaagatatgg ggatttatta ttgtctacag tatgatgagt ttcctccgac gttcggtgga 300

ggcaccaagc tggaaatcaa ac 322

<210> 361
<211> 354
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 361
gaggtccacc tacaacagtc tggacctgaa ctggtgaacc ctgggtcttc agtgaagata 60

tcctgcaagg ctgctggata cacattcact gactacaaca tggactgggt gaagcagagc 120

catggaaaga gacttgagtg gattggaaat atttatccta acaatggtgg tgctggatac 180

aaccagaact tcaaggacaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagatccatt 300

actgcggctt ggtttgctta ctggggccaa gggactctgg tcactgtctc tgca 354

<210> 362
<211> 319
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 362
caaattgttc tcacccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc 60

atgacctgca gtgccagctc aagtgtaagt tacatgcact ggtaccagca gaagtcaggc 120

acctccccca aaagatggat ttatgacaca tccaaactgg cttctggagt ccctgctcgc 180

ttcactggca gtgggtctgg gacctcttac tctctcacaa tcagcagcat ggaggctgaa 240

gatgctgcca cttattactg ccagcagtgg agtagtagcc cacccacgtt cggtgctggg 300

accaagctgg aactgaaac 319

<210> 363
<211> 360
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 363
gaggtccagc tgcaacagtc tggacctgag ctaatgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60

tcctgcaagg cttctggata cacattcact gactacaaca tgcactgggt gaagcagaac 120

caaggaaaga gcctagagtg gataggagaa attaatccta acactggtgg tactggctac 180

aaccagaagt tcaaagacaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcctac 240

atggagctcc gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagaattccc 300

tccctgagac gatactactt tgactactgg ggccaaggca ccactctcac agtctcctca 360

<210> 364
<211> 335
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 364
gaccttgtgc tgacacagtc tcctgcttcc ttagctgtat ctctggggca gagggccacc 60

atctcatgca gggccagcga aagtgtcagt acatctggct atagttatat gcactggtac 120

caacagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatc ttgcatccaa cctcgaatct 180

ggggtccctg ccaggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat 240

cctgtggagg aggaggatgc tacaacctat tactgtcagc acagtaggga gcttccgtac 300

acgttcggag gggggaccaa gctggaaata aaacg 335

<210> 365
<211> 366
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 365
caggttactc tgaaagagtc tggccctggg atattgcagc cctcccagac cctcagtctg 60

acttgttctt tctctgggtt ttcactgatc acttatggta taggagtagg ctggattcgt 120

cagccttcag ggaagggtct ggagtggctg gcacacattt ggtggaatga taataagtac 180

tataacacag ccctgaagag ccggctcaca atctccaagg atacctccaa caaccaggta 240

ttcctcaaga tcgccaatgt ggacactgca gatactgcca catactactg tgctcgaatg 300

gtctactatg attacgacgg ggggtttgct tactggggcc aagggactct ggtcactgtc 360

tctgca 366

<210> 366
<211> 335
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 366
gacattgtgc tgacccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc 60

atatcctgca gagccagtga aagtgttgat agttatggca atagttttat gcactggtac 120

cagcagaaac caggacagcc acccaaaccc ctcatttatc gtgcatccaa cctagaatct 180

gggatccctg ccagattcag tggcagtggg tctaggacag acttcaccct caccattaat 240

cctgtggagg ctgatgatgt tgcaacctat tactgtcagc aaagtaatga ggatccgtac 300

acgttcggag gggggaccaa gctggaaata aaacg 335

<210> 367
<211> 350
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 367
gaggtgcagc tgcagcagtc tgggactgtg ctggcaaggc ctggggcttc agtaaggatg 60

tcctgcaagg cttctggcta cacctttacc agctactgga tgcactgggt aaaacaaagg 120

cctggacagg gtctggaatg gattggcgct atttatcctg gaaatagtga tactagctac 180

aaccataagt tcaagggcaa ggccaaactg actgcagtca catctgccag cactgcctac 240

atggagctca gcagcctgac aaatgaggac tctgcggtct attactgtac aagatctggg 300

acgggctggt ttgcttactg gggccaaggg actctggtca ctgtctctgc 350

<210> 368
<211> 334
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 368
gacattgtgc tgacccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctaggaca gagagccact 60

atcttctgca gagccagcca gagtgtcgat tataatggaa ttagttatat gcactggttc 120

caacaaaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatg ctgcatccaa cgttcaatct 180

gggatccctg ccaggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat 240

cctgtggagg aggaagatgc tgcaaccttt tactgtcagc aaagtattga ggatcctccg 300

acgttcggtg gaggcaccaa gctggaaatc aaac 334

<210> 369
<211> 345
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 369
caggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtgaaac ctggggcctc agtgaagatt 60

tcctgcaaag cttctggcta cgcattcagt agttcttgga ttaactgggt gaagcagagg 120

cctggacagg gtcttgagtg gattggacgg atttatcctg gagaaggtga tactaactac 180

agtgggaatt tcgagggcaa ggccacactg actgcagaca aatcctccac cacagcctac 240

atgcagctca gcagtctgac ctctgtggac tctgcggtct atttctgtac aagaggacta 300

gtcatggact actggggcca aggcaccgct ctcacagtct cctca 345

<210> 370
<211> 321
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 370
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtgc gaacattaac agcaatttag tttggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcaaccaatt tggcagatgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacat ttttggggta ctcctcggac gttcggtgga 300

ggcaccaagc tggaaatcaa a 321

<210> 371
<211> 349
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 371
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggata caccttcacc gactacaata tgtactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggagag atcaacccta acaatggtgg cacagcctat 180

aatcagaagt ttaggggcaa ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240

atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagatatgat 300

aaggggtttg actactgggg ccaaggcacc actgtcacag tctcctcag 349

<210> 372
<211> 319
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 372
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gtgccagtag cagtgttagc tacatgcatt ggtaccaaca gaaacctggc 120

caggctccca ggctcctcat ctatgataca tccaaattgc ccagtggcat cccagccagg 180

ttcagtggca gtgggtctgg gacagacttc actctcacca tcagcagcct agagcctgaa 240

gattttgcag tttattactg tcagcagtgg agtagtaccc cacccacgtt cggtcagggg 300

accaagctgg agattaaac 319

<210> 373
<211> 361
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 373
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggata caccttcacc gactacaata tgcactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggagag atcaacccta acattggtgg cacaggctat 180

aaccagaagt ttaagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240

atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaacctat 300

agttactata gttacgagtt tgcttactgg ggccaaggga ctctggtcac tgtctcttca 360

g 361

<210> 374
<211> 339
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<220>

<221> misc_feature
<222> (339)..(339)
<223> n is a, c, g, or t

<400> 374
gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtcttctc tacagctcca accagaagag ctacttagct 120

tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactgggc atctacccgg 180

gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtaagcaatc ttataatctt 300

cggacgttcg gtggaggcac caaggtggaa atcaaamgn 339

<210> 375
<211> 352
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 375
gaagtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggccac cgtgaagata 60

tcctgcaagg tgtctggata caccttcaca gaccacacta tacactgggt gcgacaggcc 120

cctggaaagg ggcttgagtg gatgggatac atctaccctc gtgatggtag cacaaaatac 180

aacgaggagt tcaaaggcag agtcaccatc accgccgaca cgtccacgga cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagatcatat 300

agtaactact ttgactactg gggccaaggc accactgtca cagtctcctc ag 352

<210> 376
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 376
gaaattgtgc tgactcagtc tccagacttt cagtctgtga ctccaaagga gaaagtcacc 60

atcacctgcc gggccagtca gagcattggt actagcatac actggtacca gcagaaacca 120

gatcagtctc caaagctcct catcaagtat gcttccgagt ccatctcagg ggtcccctcg 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcaccctca ccatcaatag cctggaagct 240

gaagatgctg caacgtatta ctgtcagcaa agtaatagct ggccactcac gttcggtcaa 300

gggaccaagc tggagataaa ac 322

<210> 377
<211> 352
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 377
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggata caccttcacc agaagctata tccactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatac atcagcagtg gcagtggtgg cacaacctat 180

aaccagaagt ttaagggcag ggtcaccagt accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240

atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaggggggg 300

gtacggtact tcgatgtctg gggccaaggg accacggtca ccgtctcctc ag 352

<210> 378
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 378
gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgta aggcgagtca ggacattaat agttatttat cctggtttca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagtccct gatctataga gcaaacagat tggtagatgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat tacactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgcctacag tatgatgagt ttcctccgac gttcggtcag 300

ggcaccaagc tggaaatcaa ac 322

<210> 379
<211> 355
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 379
caggtccagc ttgtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg cttctggata caccttcact gactataata tggattgggt gcgccaggcc 120

cccggacaaa ggcttgagtg gattggatac atctaccctg acaatggtgg cgcaggatat 180

aatcagaagt tcaagggcag agtcaccatt accgtggaca catccgcgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaagac acggctgtgt attactgttc aagatccatt 300

actacggctt ggtttgctta ctggggccaa gggactctgg tcactgtctc ttcag 355

<210> 380
<211> 322
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 380
gccatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgca aggcaagtca gagcgttaat aatgatgtag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctattat gcatccaatc gatatactgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tggcacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttattt ctgtcagcag gattatagct ctcctcggac gttcggtcag 300

gggaccaagc tggaaataaa gc 322

<210> 381
<211> 364
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 381
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggata caccttcacc agctactgga tcaactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gattggaaac atcttccctg acactactac cacaaactat 180

aacgagaagt ttaagggcag ggtcaccctg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240

atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagagtac 300

tacgatggta cctacgatgc tatggattac tggggtcaag gaaccctagt caccgtctcc 360

tcag 364

<210> 382
<211> 336
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 382
gagatcgtgc tgacccagag ccctgctaca ctgtccctgt cccctggaga gagggccaca 60

ctctcctgca gggcttccga gtccgtggat tcctacggca actccttcat gcactggtac 120

cagcagaaac ccggccaggc ccctaggctg ctgatctaca gggcctccaa cctggagtcc 180

ggcatccctg ctaggttctc cggatccggc tccggcaccg actttaccct gaccatctcc 240

tccctggagc ccgaggactt cgccgtgtac tactgccagc agtcccacga ggacccctac 300

accttcggcc agggcaccaa gctggagatc aagagg 336

<210> 383
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 383
caggtccagc tggtgcagag cggcgctgag gtgaagaagc ctggcgccag cgtgaaggtg 60

tcctgcaaag ccagcggcta caccttcacc tcctactgga tgcattgggt gaggcaggct 120

cctggccaag gactggagtg gatgggcgcc atctaccccg gcaagtccga caccacctac 180

aaccagaagt tcaagggcag ggtgaccatg acacgggaca cctccacctc caccgtgtac 240

atggagctgt cctccctgag gtccgaggac accgccgtgt actactgcgc caggtccggc 300

aagggctatt tcgcctactg gggccagggc acactggtga ccgtgtcctc c 351

<210> 384
<211> 339
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 384
gacatcgtga tgacccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtttatta tacagctcca accaaaagaa ctacttagct 120

tggtaccagc agaaaccagg acagcctcct aagctgctca tttactgggc atctacccgg 180

aaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga agatgtggca gtttattact gtcatcaata ttatagctat 300

ccgctcacgt tcggtcaagg caccaagctg gaaatcaaa 339

<210> 385
<211> 341
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 385
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata caccttcaac agctactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggagaa atccacccta ataatggtag cacaaactac 180

aacgagaagt tcaagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagatggact 300

ttgtttactt actggggcca agggactctg gtcactgtct c 341

<210> 386
<211> 339
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 386
gacatcgtga tgacccagac ccctctgtcc ctgcctgtga cccctggaga acccgccagc 60

atctcctgca ggtcctccca gtccatcgtg cactccaacg gcaacaccta cctggagtgg 120

tacctgcaga agcccggaca gtccccccag ctgctgatct acaaggtgtc caataggttt 180

tccggagtgc ccgacaggtt ctccggatcc ggatccggca ccgacttcac cctgaagatc 240

tccagggtgg aggccgagga cgtgggagtg tactactgct tccagggcag ccacgtgccc 300

cctacattcg gaggcggcac caagctggag atcaagagg 339

<210> 387
<211> 354
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 387
caggtcaccc tgaaggagtc cggccccgtg ctggtgaaac ccaccgagac cctcaccctg 60

acctgcaccg tctccggctt ctccctgtcc acctccggca tgggagtgtc ctggatcagg 120

cagccccctg gaaaggctct ggagtggctg gcccacatct tctgggacga cgacaagtgg 180

tacaacccct ccctgaagtc caggctgacc atctccaagg acacctccaa gtcccaggtg 240

gtgctgacca tgaccaacat ggaccccgtg gacaccgcca cctactactg cgctaccttc 300

tacggcctgt acttcgccta ctggggccag ggaaccctgg tgaccgtgtc ctcc 354

<210> 388

<211> 342
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 388
gacatcgtga tgacccagtc ccccgattcc ctggctgtga gcctgggaga gagggccacc 60

atcaactgcg agtcctccca gtccctgctg tacaactcca accagaagaa ctacctggcc 120

tggtaccagc agaagcccgg acagcccccc aagctgctga tctactgggc ttccacaagg 180

gagtccggag tgcccgatcg gttcagcgga tccggatccg gcaccgactt caccctcacc 240

atcagctccc tgcaagccga ggacgtggcc gtgtactact gccagcagta cttcaactac 300

cctctgacct tcggccaggg caccaagctg gagatcaaga gg 342

<210> 389
<211> 348
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 389
caggtgcagc tggtccagtc cggagctgag gtgaagaagc ccggcgcctc cgtgaaggtg 60

tcctgcaagg ccagcggctt caccttctcc gatgcctgga tggactgggt gaggcaggct 120

cctggccaaa ggctggagtg gatgggcgag atcaggtcca agcccaacaa ccacgccacc 180

tactacgccg agagcgtgaa gggcagggtg accatcacaa gggatacatc cgcctccacc 240

gcctacatgg agctgtcctc cctgaggtcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgtgccagg 300

accggaacct cctactgggg ccagggcaca ctggtgaccg tgtcctcc 348

<210> 390
<211> 334
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 390
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttgac tataatggaa ttagctacat gcactggtac 120

caacagaaac ctggccaggc tcccaggctc ctcatctatg ctgcatccaa cgtgcagagt 180

ggcatcccag ccaggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcactct caccatcagc 240

agcctagagc ctgaagattt tgcagtttat tactgtcagc agagtattga ggatcctccg 300

acgttcggtg gaggcaccaa ggtggaaatc aaac 334

<210> 391
<211> 341
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 391
gaggtgcagc tggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc 60

tcctgtaagg gttctggata cagctttacc agctcctgga tcaactgggt gcgccagatg 120

cccgggaaag gcctggagtg gatggggaga atctatcctg gtgagggtga taccaactac 180

agcgggaact tcgaaggcca ggtcaccatc tcagccgaca agtccatcag caccgcctac 240

ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac accgccatgt attactgtac aagaggacta 300

gtcatggact actggggcca aggcaccctt gtcacagtct c 341

<210> 392
<211> 334
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 392
gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttgac tatgatggaa ttagctacat gcactggtac 120

caacagaaac ctggccaggc tcccaggctc ctcatctatg ctgcatccaa cgtgcagagt 180

ggcatcccag ccaggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcactct caccatcagc 240

agcctagagc ctgaagattt tgcagtttat tactgtcagc agagtattga ggatcctccg 300

acgttcggtg gaggcaccaa ggtggaaatc aaac 334

<210> 393
<211> 341
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 393
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata caccttcgac agctactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggagaa atccacccta ataatggtag cacaaactac 180

aacgagaagt tcaagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagatggact 300

ttgtttactt actggggcca agggactctg gtcactgtct c 341

<210> 394
<211> 341
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 394
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata caccttcacc agctactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggagaa atccacccta ataatggtag cacaaactac 180

aacgagaagt tcaagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagatggact 300

ttgtttactt actggggcca agggactctg gtcactgtct c 341

<210> 395
<211> 341
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 395
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata caccttcaac tactactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggagaa atccacccta ataatggtag cacaaactac 180

aacgagaagt tcaagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagatggact 300

ttgtttactt actggggcca agggactctg gtcactgtct c 341

<210> 396
<211> 341
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 396
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata caccttcaac agctactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggagaa atccacccta atgatggtag cacaaactac 180

aacgagaagt tcaagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagatggact 300

ttgtttactt actggggcca agggactctg gtcactgtct c 341

<210> 397
<211> 341
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 397
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata caccttcaac agctactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggagaa atccacccta atggtggtag cacaaactac 180

aacgagaagt tcaagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagatggact 300

ttgtttactt actggggcca agggactctg gtcactgtct c 341

<210> 398
<211> 341
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 398
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata caccttcaac agctactgga tgcactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggagaa atccacccta atagtggtag cacaaactac 180

aacgagaagt tcaagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagatggact 300

ttgtttactt actggggcca agggactctg gtcactgtct c 341

<210> 399
<211> 348
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: polynucleotit tổng hợp"

<400> 399
gaggtgcagc tggtggaatc cggaggcggc ctggtgcaac ctggaggatc cctcaggctg 60

tcctgtgccg cttccggatt caccttctcc gatgcctgga tggactgggt gaggcaggcc 120

cctggcaaag gactggaatg ggtgggcgag atcaggtcca aacccaacaa ccacgccacc 180

tactacgccg agtccgtgaa gggcaggttc accatctcca gggacgactc caagaactcc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaagacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcgctagg 300

accggcacct cctattgggg acagggcacc ctggtgaccg tgtcctcc 348

<210> 400
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự nhân tạo: đuôi 9xHis tổng hợp"

<400> 400
His His His His His His His His His
1 5

<210> 401
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự chưa biết

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự chưa biết: peptit epitop kháng thể"

<220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Xaa là axit amin bất kỳ

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> Xaa là axit amin bất kỳ

<400> 401
Gln Xaa Pro Xaa Ile Glu Glu
1 5

<210> 402
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự chưa biết

<220>

<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự chưa biết: peptit epitop kháng thể"

<400> 402
Leu Pro Phe Gln Pro Asp Pro
1   5

<210> 403
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự chưa biết

<220>
<221> nguồn
<223> /ghi chú="Mô tả trình tự chưa biết: peptit motip vùng bào tương đầu tận cùng C của SEZ6"

<400> 403
Asn Pro Thr Tyr
1