



(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)



1-0031407

(51)<sup>7</sup>

C07K 16/22; A61P 3/00; A61K 39/395; (13) B  
A61P 21/00

(21) 1-2012-03900

(22) 25/05/2011

(86) PCT/US2011/037837 25/05/2011

(87) WO/2011/150008 01/12/2011

(30) 61/348,559 26/05/2010 US; 61/372,882 12/08/2010 US

(45) 25/03/2022 408

(43) 27/05/2013 302A

(73) REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. (US)

777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, USA

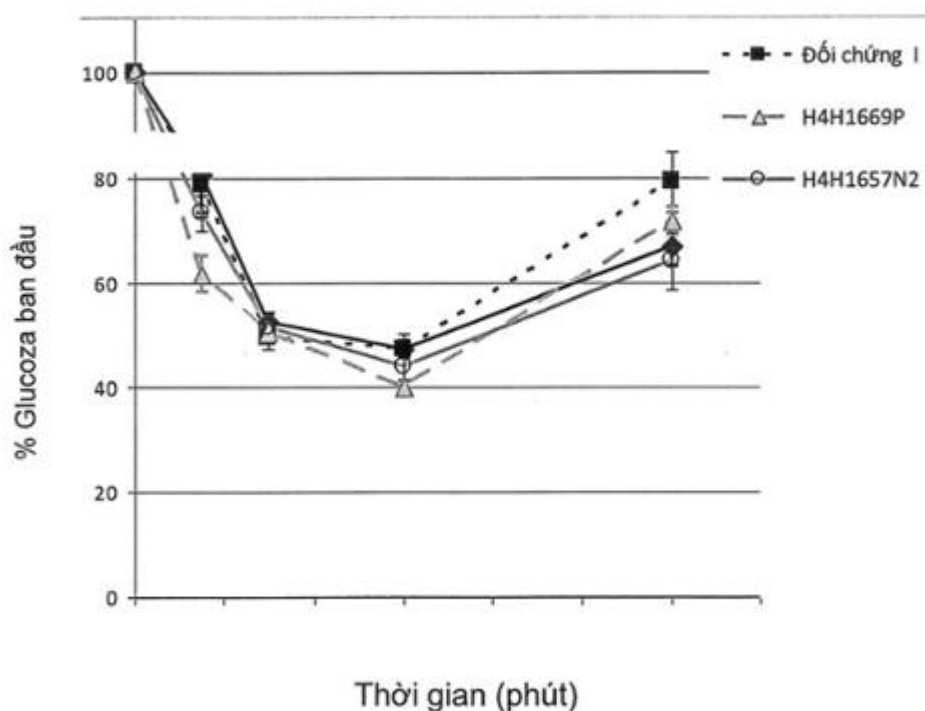
(72) STITT, Trevor (US); LATRES, Esther (US).

(74) Công ty TNHH T&T INVENMARK Sở hữu trí tuệ Quốc tế (T&T INVENMARK CO., LTD.)

(54) KHÁNG THỂ KHÁNG GDF8 NGƯỜI VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

(57) Sáng chế đề xuất kháng thể người được phân lập hoặc được biến đổi phù hợp với người hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng gắn kết đặc hiệu với yếu tố biệt hóa và tăng trưởng-8 (GDF8) và ức chế hoạt tính GDF8. Các kháng thể và mảnh kháng thể theo sáng chế sáng chế có thể được sử dụng để điều trị rối loạn hoặc tình trạng bệnh sẽ được cải thiện hoặc nâng cao bằng cách ức chế GDF8.

Thử nghiệm dung nạp insulin sau khi điều trị bằng kháng thể



### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến kháng thể, và các mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, đặc hiệu với các yếu tố yếu tố biệt hóa và tăng trưởng-8 (GDF8).

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Yếu tố biệt hóa và tăng trưởng-8 (GDF8), cũng được biết là myostatin, là một yếu tố trong siêu họ TGF- $\beta$  của các yếu tố tăng trưởng. GDF8 là chất điều hòa âm tính của khối cơ xương, được biểu hiện mức độ cao trong sự phát triển và cơ xương của người trưởng thành.

GDF8 được bảo tồn ở mức độ cao qua các loài, và các trình tự axit amin của GDF8 chuột và người là giống nhau (trình tự axit nucleic GDF8 người và trình tự axit amin trong SEQ ID NO:338-339) (McPherron et al. 1977 Nature 387:83-90).

Một số các bệnh ở người là có liên quan đến sự mất hoặc sự hỏng của mô cơ, ví dụ, bệnh loạn dưỡng cơ, chứng teo cơ, hội chứng teo cơ, chứng nhược cơ tuổi già và chứng suy mòn, và chất ức chế GDF8 là có thể ứng dụng để điều trị các bệnh hoặc rối loạn này.

Kháng thể kháng GDF8 và phương pháp điều trị được bộc lộ trong, ví dụ, US 6,096,506, US 7,320,789, US 7,807,159, WO 2007/047112, WO 2005/094446, US 2007/0087000, US 7,261,893, và WO 2010/070094.

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Sáng chế đề xuất kháng thể người hoặc được biến đổi phù hợp với người và mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể người hoặc được biến đổi phù hợp với người gắn kết đặc hiệu yếu tố biệt hóa và tăng trưởng 8 của người (GDF8). Các kháng thể này được đặc trưng bởi sự gắn kết với GDF8 với ái lực cao và bởi khả năng trung hòa hoạt tính GDF8. Các kháng thể này có thể là có chiều dài đầy đủ (ví dụ, kháng thể IgG1 hoặc IgG4) hoặc có thể chỉ bao gồm phần gắn kết kháng nguyên (ví dụ, mảnh Fab, F(ab')<sub>2</sub> hoặc scFv), và có thể được điều biến để tác động đến các nhóm chức, ví dụ, làm giảm chức năng hiệu ứng còn lại (Reddy et al. (2000) J. Immunol. 164:1925-1933).

Theo một phương án, kháng thể theo sáng chế bao gồm trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 360, và 376, hoặc trình tự về cơ bản giống hệt với nó.

Theo một phương án, kháng thể theo sáng chế bao gồm trình tự axit amin vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 322, 368, và 384 hoặc trình tự về cơ bản giống hệt với nó.

Theo một phương án, kháng thể theo sáng chế bao gồm trình tự axit amin HCVR và trình tự axit amin LCVR, trong đó trình tự cặp HCVR/LCVR được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 114/322, 360/368, và 376/384.

Sáng chế cũng mô tả kháng thể người hoặc được biến đổi cho phù hợp với người hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể bao gồm trình tự axit amin vùng xác định bổ thể của chuỗi nặng 3 (HCDR3) và trình tự axit amin CDR3 của chuỗi nhẹ (LCDR3), trong đó trình tự axit amin HCDR3 được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 296, 312, 366, và 382, hoặc trình tự về cơ bản giống hệt với nó, và trình tự axit amin LCDR3 được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 304, 320, 328, 374, và 390, hoặc trình tự về cơ bản giống hệt với nó. Theo phương án khác, kháng thể hoặc mảnh của nó bao gồm cặp trình tự axit amin HCDR3/LCDR3 được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:8/16, 24/32, 40/48, 56/64, 72/80, 88/96, 104/112, 120/128, 136/144, 152/160, 168/176, 184/192, 200/208, 216/224, 232/240, 248/256, 264/272, 280/288, 296/304, 312/320, 120/328, 366/374, và 382/390.

Theo một phương án có liên quan, kháng thể hoặc mảnh của nó còn bao gồm trình tự axit amin CDR1 (HCDR1) và CDR2 (HCDR2) của chuỗi nặng và trình tự axit amin CDR1 (LCDR1) và CDR2 (LCDR2) của chuỗi nhẹ, trong đó trình tự axit amin HCDR1 được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 362, và 378, hoặc trình tự về cơ

bản giống hệt với nó; trình tự axit amin HCDR2 được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 364, và 380, hoặc trình tự về cơ bản giống hệt với nó; trình tự axit amin LCDR1 được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 324, 370, và 386 hoặc trình tự về cơ bản giống hệt với nó; và trình tự axit amin LCDR2 được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 326, 372, và 388 hoặc trình tự về cơ bản giống hệt với nó. Theo phương án khác, HCDR1, HCDR2 và HCDR3 được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:36/38/40, 116/118/120, 228/230/232, 362/364/366, và 378/380/382; và LCDR1, LCDR2 và LCDR3 được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:44/46/48, 124/126/128, 236/238/240, 370/372/374, và 386/388/390. Theo phương án khác nữa, các CDR chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 36/38/40/44/46/48 (ví dụ 21-E5), 116/118/120/124/126/128 (ví dụ 8D12), 228/230/232/236/238/240 (ví dụ 1A2), 362/364/366/370/372/374 (ví dụ H4H1657N2), và 378/380/382/386/388/390 (ví dụ H4H1669P).

Theo một phương án có liên quan, sáng chế bao gồm kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể gắn kết đặc hiệu GDF8, trong đó kháng thể hoặc mảnh kháng thể bao gồm vùng CDR chuỗi nặng và chuỗi nhẹ nằm trong trình tự vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 114/322, 360/368, và 376/384. Phương pháp và kỹ thuật xác định các CDR nằm trong HCVR và trình tự axit amin LCVR đã được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này và có thể được sử dụng để xác định các CDR nằm trong các trình tự axit amin HCVR và/hoặc LCVR đặc hiệu bộc lộ trong đây. Các quy ước ví dụ có thể được sử dụng để xác định ranh giới của các CDR bao gồm, *ví dụ*, định nghĩa Kabat, định nghĩa Chothia, và định nghĩa AbM. Trong các thuật ngữ thông thường, định nghĩa Kabat là dựa trên sự biến đổi trình tự, định nghĩa Chothia là dựa trên vị trí của vùng thắt nút của cấu trúc, và định nghĩa AbM là sự kết hợp giữa phương pháp Kabat và Chothia. Xem, *ví dụ*, Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani *et al.*, *J. Mol. Biol.* 273:927-948 (1997); và Martin *et al.*, *Proc.*



*Natl. Acad. Sci. USA* 86:9268-9272 (1989). Dữ liệu phổ biến cũng có sẵn để xác định các trình tự CDR nằm trong kháng thể.

Sáng chế cũng đề xuất các phân tử axit nucleic mã hóa các kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên theo sáng chế. Các vector biểu hiện tái tổ hợp mang các axit nucleic mã hóa kháng thể theo sáng chế, và các tế bào chủ mà các vector này được đưa vào đó, cũng nằm trong phạm vi của sáng chế, cũng như các phương pháp tạo ra kháng thể theo sáng chế bằng cách nuôi cấy tế bào chủ theo sáng chế.

Theo một phương án, kháng thể theo sáng chế bao gồm HCVR được mã hóa bởi trình tự nucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:1, 17, 33, 49, 65, 81, 97, 113, 129, 145, 161, 177, 193, 209, 225, 241, 257, 273, 289, 305, 359, và 375, hoặc trình tự về cơ bản giống hệt có độ tương đồng ít nhất 95% với chúng.

Theo một phương án, kháng thể theo sáng chế bao gồm LCVR được mã hóa bởi trình tự nucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:9, 25, 41, 57, 73, 89, 105, 121, 137, 153, 169, 185, 201, 217, 233, 249, 265, 281, 297, 313, 321, 367, và 383 hoặc trình tự về cơ bản giống hệt có độ tương đồng ít nhất 95% với chúng.

Theo một phương án, kháng thể theo sáng chế bao gồm trình tự axit amin HCVR và trình tự axit amin LCVR, trong đó trình tự cặp HCV/LCVR được mã hóa bởi cặp phân tử axit nucleic được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1/9, 17/25, 33/41, 49/57, 65/73, 81/89, 97/105, 113/121, 129/137, 145/153, 161/169, 177/185, 193/201, 209/217, 225/233, 241/249, 257/265, 273/281, 289/297, 305/313, 113/321, 359/367, và 375/383.

Sáng chế cũng mô tả kháng thể người hoặc được biến đổi cho phù hợp với người hoặc mảnh kháng thể bao gồm HCDR3 được mã hóa bởi trình tự nucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:7, 23, 39, 55, 71, 87, 103, 119, 135, 151, 167, 183, 199, 215, 231, 247, 263, 279, 295, 311, 365, và 381, hoặc trình tự về cơ bản giống hệt có độ tương đồng ít nhất 95% với chúng và LCDR3 được mã hóa bởi trình tự nucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:15, 31, 47, 63, 79, 95, 111, 127, 143, 159, 175, 191, 207, 223, 239, 255, 271, 287, 303, 319, 327, 373, và 389, hoặc trình tự về cơ bản giống hệt có độ tương đồng ít nhất 95% với chúng. Theo một phương án, tập hợp HCDR3/LCDR3 được mã hóa bởi cặp trình tự nucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:7/15, 23/31, 39/47, 55/63, 71/79, 87/95, 103/111, 119/127, 135/143,

151/159, 167/175, 183/191, 199/207, 215/223, 231/239, 247/255, 263/271, 279/287, 295/303, 311/319, 119/327, 365/373, và 381/389.

Theo một phương án có liên quan, kháng thể hoặc mảnh kháng thể còn bao gồm HCDR1 và HCDR2, và LCDR1 và LCDR2, trong đó HCDR1 này được mã hóa bởi trình tự nucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:3, 19, 35, 51, 67, 83, 99, 115, 131, 147, 163, 179, 195, 211, 227, 243, 259, 275, 291, 307, 361, và 377, hoặc trình tự về cơ bản giống hệt có độ tương đồng ít nhất 95% với chúng, HCDR2 được mã hóa bởi trình tự nucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:5, 21, 37, 53, 69, 85, 101, 117, 133, 149, 165, 181, 197, 213, 229, 245, 261, 277, 293, 309, 363, và 379, hoặc trình tự về cơ bản giống hệt có độ tương đồng ít nhất 95% với chúng, LCDR1 được mã hóa bởi trình tự nucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:11, 27, 43, 59, 75, 91, 107, 123, 139, 155, 171, 187, 203, 219, 235, 251, 267, 283, 299, 315, 323, 369, và 385 hoặc a trình tự về cơ bản giống hệt có độ tương đồng ít nhất 95% với chúng, và LCDR2 được mã hóa bởi trình tự nucleotit được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:13, 29, 45, 61, 77, 93, 109, 125, 141, 157, 173, 189, 205, 221, 237, 253, 269, 285, 301, 317, 325, 371, và 387, hoặc trình tự về cơ bản giống hệt có độ tương đồng ít nhất 95% với chúng. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh kháng thể bao gồm các CDR chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được mã hóa bằng tập hợp trình tự axit nucleic trong SEQ ID NO:35/37/39/43/45/47, 115/117/119/123/125/127, 227/229/231/235/237/239, 361/363/365/369/371/373, hoặc 377/379/381/385/387/389.

Sáng chế cũng mô tả kháng thể được phân lập hoặc mảnh kháng thể gắn kết đặc hiệu GDF8, bao gồm các CDR chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được chọn từ nhóm bao gồm (a) HCDR1 bao gồm trình tự axit amin có công thức  $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8$  (SEQ ID NO:329), trong đó  $X^1$  là Gly;  $X^2$  là Phe;  $X^3$  là Thr;  $X^4$  là Phe;  $X^5$  là Ser;  $X^6$  là Ala hoặc Ser;  $X^7$  là Phe hoặc Tyr;  $X^8$  là Gly hoặc Ala; (b) HCDR2 bao gồm trình tự axit amin có công thức  $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8$  (SEQ ID NO:330), trong đó  $X^1$  là Ile;  $X^2$  Gly hoặc Ser;  $X^3$  là Tyr hoặc Gly;  $X^4$  Ser hoặc Asp;  $X^5$  là Gly;  $X^6$  là Gly;  $X^7$  là Ser hoặc Asn; và  $X^8$  là Ala hoặc Glu; (c) HCDR3 bao gồm trình tự axit amin có công thức  $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8 - X^9 - X^{10} - X^{11} - X^{12} - X^{13} - X^{14}$  (SEQ ID NO:331), trong đó  $X^1$  là Ser hoặc Ala;  $X^2$  là Thr hoặc Lys;  $X^3$  là Asp hoặc Ile;  $X^4$  là Gly hoặc Ser;  $X^5$  là Ala hoặc His;  $X^6$  là Trp hoặc Tyr;  $X^7$  là Lys hoặc Asp;  $X^8$  là Met hoặc Ile;  $X^9$  là Ser hoặc Leu;  $X^{10}$  là Gly hoặc Ser;  $X^{11}$  là Leu hoặc Gly;  $X^{12}$  là Asp

hoặc Met;  $X^{13}$  là Val hoặc Asp;  $X^{14}$  là Val hoặc không có; (d) LCDR1 bao gồm trình tự axit amin có công thức  $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6$  (SEQ ID NO:332), trong đó  $X^1$  là Gln;  $X^2$  là Asp hoặc Gly;  $X^3$  là Ile;  $X^4$  là Ser;  $X^5$  là Asp hoặc Asn; và  $X^6$  là Tyr hoặc Trp; (e) LCDR2 bao gồm trình tự axit amin có công thức  $X^1 - X^2 - X^3$  (SEQ ID NO:333), trong đó  $X^1$  là Thr hoặc Ala;  $X^2$  là Thr hoặc Ala; và  $X^3$  là Ser; và (f) vùng LCDR3 bao gồm trình tự axit amin có công thức  $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8 - X^9$  (SEQ ID NO:334), trong đó  $X^1$  là Gln;  $X^2$  là Lys hoặc Gln;  $X^3$  là Ala hoặc Tyr;  $X^4$  là Asp hoặc Asn;  $X^5$  là Ser;  $X^6$  là Ala hoặc Phe;  $X^7$  là Pro;  $X^8$  là Leu; và  $X^9$  là Thr.

Phương pháp tạo ra các trình tự liên ứng nêu trên (SEQ ID NO: 329-334) được minh họa trong Fig. 4A và 4B.

Sáng chế cũng mô tả kháng thể người đầy đủ hoặc được biến đổi cho phù hợp với người hoặc mảnh kháng thể gắn kết GDF8 với ái lực (được biểu diễn là hằng số phân ly, " $K_D$ ") khoảng 1nM hoặc thấp hơn, như được đo bởi thử nghiệm hấp thụ plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE™). Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế biểu hiện giá trị  $K_D$  là khoảng 700pM hoặc thấp hơn; khoảng 500pM hoặc thấp hơn; khoảng 320pM hoặc thấp hơn; khoảng 160pM hoặc thấp hơn; khoảng 100pM hoặc thấp hơn; khoảng 50pM hoặc thấp hơn; khoảng 10pM hoặc thấp hơn; hoặc khoảng 5pM hoặc thấp hơn.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể đơn dòng người hoàn toàn hoặc được biến đổi cho phù hợp với người (mAb) gắn kết đặc hiệu và ức chế GDF8 người và biểu hiện giá trị  $IC_{50}$  thấp hơn hoặc bằng khoảng 10nM; khoảng 5nM hoặc thấp hơn; khoảng 3nM hoặc thấp hơn; khoảng 2nM hoặc thấp hơn; khoảng 1nM hoặc thấp hơn; khoảng 500pM hoặc thấp hơn; hoặc khoảng 200pM hoặc thấp hơn, như được đo bằng thử nghiệm luciferaza kích thích GDF8. Như trình bày trong phần thí nghiệm sau đây, một số kháng thể kháng GDF8 theo sáng chế sẽ ức chế hoạt tính của các protein có họ gần, như GDF11, với giá trị  $IC_{50}$  cao hơn nhiều so với GDF8 trong thử nghiệm sinh học luciferaza. Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể biểu hiện ít nhất khoảng 10 lần, ít nhất khoảng 50 lần, ít nhất khoảng 100 lần, ít nhất khoảng 200 lần, ít nhất khoảng 500 lần, ít nhất khoảng 1000 lần, hoặc ít nhất giá trị  $IC_{50}$  cao hơn khoảng 1500 lần đối với sự ức chế hoạt tính GDF11 tương ứng so với GDF8.

Sáng chế bao gồm kháng thể kháng GDF8 có mô hình glycosyl hóa được điều chỉnh. Theo một số ứng dụng, việc điều chỉnh để loại các vị trí glycosyl hóa không mong muốn có thể là hữu dụng, hoặc kháng thể thiếu gốc fucosa có mặt trên chuỗi oligosaccarit, ví dụ, làm tăng chức năng độc tính tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC-kháng thể dependent cellular cytotoxicity) (xem Shield et al. (2002) JBC 277:26733). Theo các ứng dụng khác, việc điều chỉnh galactosyl hóa có thể được thực hiện để điều chỉnh độc tính tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC-complement dependent cytotoxicity).

Sáng chế bao gồm kháng thể kháng GDF8 gắn kết đặc hiệu các epitop của GDF8 và có khả năng ức chế hoạt tính sinh học của GDF8. Theo phương án đầu tiên, kháng thể theo sáng chế gắn kết epitop của protein GDF8 trưởng thành (SEQ ID NO:340) nằm trong axit amin từ khoảng 1 đến khoảng 109; từ khoảng 1 đến khoảng 54; từ khoảng 1 đến khoảng 44; từ khoảng 1 đến khoảng 34; từ khoảng 1 đến khoảng 24; và từ khoảng 1 đến khoảng 14. Theo phương án thứ hai, kháng thể theo sáng chế gắn kết một hoặc nhiều epitop protein GDF8 trưởng thành (SEQ ID NO:340) nằm trong các axit amin từ khoảng 35 đến khoảng 109; từ khoảng 45 đến khoảng 109; từ khoảng 55 đến khoảng 109; từ khoảng 65 đến khoảng 109; từ khoảng 75 đến khoảng 109; từ khoảng 85 đến khoảng 109; từ khoảng 92 đến khoảng 109; hoặc từ khoảng 95 đến khoảng 109. Theo phương án thứ ba, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể gắn kết nằm trong epitop của protein GDF8 trưởng thành của người từ gốc axit amin khoảng 48 đến khoảng 72; từ khoảng 48 đến khoảng 69; từ khoảng 48 đến khoảng 65; từ khoảng 52 đến khoảng 72; từ khoảng 52 đến khoảng 65; hoặc từ khoảng 56 đến khoảng 65.

Theo một phương án có liên quan, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó cạnh tranh về gắn kết đặc hiệu với GDF8 với kháng thể khác bao gồm tổ hợp trình tự axit amin HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3 trong SEQ ID NO:36/38/40/44/46/48, 116/118/120/124/126/128, 228/230/232/236/238/240, 362/364/366/370/372/374, hoặc 378/380/382/386/388/390. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên theo sáng chế cạnh tranh về sự gắn kết đặc hiệu GDF8 với kháng thể khác bao gồm cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR trong SEQ ID NO:2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 114/322, 360/368, hoặc 376/384. Theo phương án liên quan khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó nhận diện epitop trên GDF8,

epitop này được nhận diện bởi kháng thể khác bao gồm tổ hợp trình tự axit amin HCDR/LCDR trong SEQ ID NO: 36/38/40/44/46/48, 116/118/120/124/126/128, 228/230/232/236/238/240, 362/364/366/370/372/374, hoặc 378/380/382/386/388/390. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên theo sáng chế nhận diện epitop trên GDF8 mà GDF8 được nhận diện bởi kháng thể khác bao gồm cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR trong SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 114/322, 360/368, hoặc 376/384.

Sáng chế cũng mô tả chế phẩm bao gồm người hoặc được biến đổi phù hợp với người tái tổ hợp kháng thể kháng GDF8 người và chất mang chấp nhận được. Vẫn nằm trong sáng chế, sáng chế đề xuất các vector và tế bào chủ bao gồm các vector chứa các phân tử axit nucleic mã hóa kháng thể kháng GDF8 người theo sáng chế, cũng như các phương pháp sản xuất các kháng thể mới, bao gồm nuôi tế bào chủ bao gồm axit nucleic mã hóa kháng thể kháng GDF8 theo sáng chế hoặc mảnh kháng thể, trong các điều kiện cho phép tạo ra protein và thu hồi protein để sản xuất.

Sáng chế cũng mô tả các phương pháp ức chế hoạt tính GDF8 bằng cách sử dụng kháng thể, hoặc phần gắn kết kháng nguyên của nó, theo sáng chế. Theo một phương án, phương pháp này bao gồm sử dụng kháng thể hoặc mảnh kháng thể theo sáng chế, cho đối tượng là người mắc bệnh có thể được cải thiện bằng cách ức chế hoạt tính GDF8. Theo các phương án được ưu tiên, đối tượng là người được điều trị bằng kháng thể hoặc mảnh kháng thể theo sáng chế cần thiết để cải thiện hiện tượng nội cân bằng glucoza, giảm lượng mỡ, tăng mức nhạy cảm insulin, cải thiện chức năng thận và/hoặc làm giảm sự tích tụ mỡ. Kháng thể hoặc mảnh kháng thể theo sáng chế là hữu dụng để điều trị, phòng hoặc ức chế bệnh hoặc tình trạng bệnh có đặc điểm là sự giảm xương, bao gồm chứng loãng xương, chứng tiền loãng xương, viêm xương khớp và chứng rạn xương, điều trị các triệu chứng chuyển hóa, chống lại sự suy giảm cơ do sử dụng liên tục glucocorticoid hoặc hormon steroid hoặc sự giảm xương liên quan đến chứng chứng loạn dưỡng cơ, chứng teo cơ, hội chứng teo cơ, chứng nhược cơ tuổi già và chứng suy mòn.

Các mục tiêu và thuận lợi khác sẽ được nêu rõ trong phần Mô tả chi tiết sáng chế.

### Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1. Nhuộm màu miễn dịch sự thủy phân protein giới hạn lên GDF8 người bằng proteinaza K. Gel là 18% SDS-PAGE không khử với 0,2 $\mu$ g GDF8 được nạp trong mỗi vệt, và 2 $\mu$ g/ml kháng thể hoặc là đối chứng I (A), 1A2 (B) hoặc 21-E9 (C). Vệt 1: thời gian cắt 10 phút, 1 $\mu$ g GDF8, 0 $\mu$ g Proteinaza K; Vệt 2: thời gian cắt 10 phút, GDF8 1 $\mu$ g, 1 $\mu$ g Proteinaza K; Vệt 3: thời gian cắt 10 phút, 1 $\mu$ g GDF8, 6 $\mu$ g Proteinaza K; Vệt 4: thời gian cắt 45 phút, 1 $\mu$ g GDF8, 0 $\mu$ g Proteinaza K; Vệt 5: thời gian cắt 45 phút, GDF8 1 $\mu$ g, 1 $\mu$ g Proteinaza K; Vệt 6: thời gian cắt 45 phút, 1 $\mu$ g GDF8, 6 $\mu$ g Proteinaza K.

Fig.2. Nhuộm màu miễn dịch sự thủy phân protein giới hạn lên GDF8 người với các liều cao Proteinaza K. Gel là 18% SDS-PAGE không khử với 0,2 $\mu$ g GDF8 được nạp lên mỗi vệt, và 2 $\mu$ g/ml hoặc đối chứng I (A) hoặc 1A2 (B). Vệt 1: thời gian cắt 16 giờ, 0 $\mu$ g GDF8, 96 $\mu$ g Proteinaza K; Vệt 2: thời gian cắt 16 giờ, GDF8 4 $\mu$ g, 0 $\mu$ g Proteinaza K; Vệt 3: thời gian cắt 16 giờ, 4 $\mu$ g GDF8, 24 $\mu$ g Proteinaza K; Vệt 4: thời gian cắt 16hr, 4 $\mu$ g GDF8, 96 $\mu$ g Proteinaza K; Vệt 5: thời gian cắt 1 giờ, GDF8 4 $\mu$ g, 24 $\mu$ g Proteinaza K; Vệt 6: thời gian cắt 1 giờ, 4 $\mu$ g GDF8, 96 $\mu$ g Proteinaza K; Vệt 7: thời gian cắt 10 phút, GDF8 0 $\mu$ g, 0 $\mu$ g Proteinaza K; Vệt 8: thời gian cắt 10 phút, 4 $\mu$ g GDF8, 24 $\mu$ g Proteinaza K.

Fig. 3A và 3B. Biểu đồ minh họa mức phần trăm glucoza ban đầu theo thời gian ở chuột được đưa vào thử nghiệm dung nạp insulin trước (Fig. 3A) và sau (Fig. 3B) khi điều trị bằng kháng thể.

Fig. 4A và 4B. Sắp xếp của các trình tự axit amin của CDR chuỗi nặng (Fig. 4A) và CDR chuỗi nhẹ (Fig. 4B) từ kháng thể kháng GDF8 ví dụ H4H1657N2 và H4H1669P, minh họa các trình tự liên ứng chung giữa các trình tự này.

### Mô tả chi tiết sáng chế

Trước khi mô tả các phương pháp theo sáng chế, cần hiểu rằng sáng chế không bị giới hạn ở các phương pháp cụ thể, và các điều kiện thí nghiệm được mô tả, do các phương pháp và điều kiện này có thể thay đổi. Cũng cần hiểu rằng thuật ngữ sử dụng trong đây là nhằm mục đích chỉ mô tả các phương án cụ thể, và không nhằm giới hạn sáng chế, do phạm vi của sáng chế sẽ bị hạn chế bởi bộ yêu cầu bảo hộ.

Như sử dụng trong bản mô tả và yêu cầu bảo hộ, dạng đơn “một”, bao gồm cả số nhiều trừ khi được chú thích. Do đó ví dụ, nói đến “một phương pháp” sẽ có nghĩa là một hoặc nhiều phương pháp, và/hoặc các bước của kiểu được mô tả trong đây và/hoặc sẽ rõ ràng với các chuyên gia trong lĩnh vực này khi đọc bản mô tả.

Trừ khi được chú thích khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học sử dụng trong đây có nghĩa như được hiểu thông thường bởi các chuyên gia trong lĩnh vực sáng chế. Như sử dụng trong đây, thuật ngữ "khoảng," khi sử dụng đối với một giá trị số được nêu cụ thể, có nghĩa là giá trị này có thể khác với giá trị đã nêu không quá 1%. Ví dụ, như sử dụng trong đây, thuật ngữ "khoảng 100" bao gồm 99 và 101 và tất cả các giá trị ở giữa hai giá trị này (ví dụ, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, v.v.).

Mặc dù có thể sử dụng phương pháp hoặc nguyên liệu bất kỳ tương tự hoặc tương đương với các phương pháp hoặc nguyên liệu được mô tả trong đây trong thực hành hoặc thử nghiệm của sáng chế, các phương pháp và nguyên liệu ưu tiên được mô tả sau đây.

#### Định nghĩa

“Yếu tố biệt hóa tăng trưởng người 8”, “GDF8” và “myostatin” được sử dụng thay thế cho nhau để chỉ protein được mã hóa bằng trình tự axit nucleic trong SEQ ID NO:338 và protein này có trình tự axit amin trong SEQ ID NO:339 (tiền peptit) và 340 (protein trưởng thành).

Thuật ngữ "kháng thể", như sử dụng trong đây, là để chỉ các phân tử globulin miễn dịch bao gồm bốn chuỗi polypeptit, hai chuỗi nặng (H) và hai chuỗi nhẹ (L) nối với nhau bằng các liên kết disulfit, cũng như các đa phân tử của chúng (ví dụ, IgM). Mỗi chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng (viết tắt trong đây là HCVR hoặc  $V_H$ ) và vùng cố định của chuỗi nặng. Vùng cố định của chuỗi nặng bao gồm ba vùng,  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  và  $C_{H3}$ . Mỗi chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ (viết tắt trong đây là LCVR hoặc  $V_L$ ) và vùng cố định chuỗi nhẹ. Vùng cố định chuỗi nhẹ bao gồm một vùng ( $C_{L1}$ ). Vùng  $V_H$  và  $V_L$  có thể được phân chia nhỏ hơn thành các vùng siêu biến đổi, được gọi là vùng xác định bổ thể (CDR), rải rác với các vùng được bảo tồn hơn, được gọi là các vùng khung (FR). Mỗi  $V_H$  và  $V_L$  được cấu tạo bởi ba CDR và bốn FR, sắp xếp từ đầu amin đến đầu tận cùng carboxy theo thứ tự sau: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Theo phương án khác của theo sáng chế, các FR của kháng thể kháng

GDF8 (hoặc phần gắn kết kháng nguyên của nó) có thể giống với trình tự mầm của người, hoặc có thể được biến đổi tự nhiên hoặc nhân tạo. Trình tự liên ứng axit amin có thể được xác định dựa trên phân tích liên kề nhau hai hoặc nhiều CDR.

Thuật ngữ "kháng thể," như sử dụng trong đây, cũng bao gồm mảnh gắn kết kháng nguyên của phân tử kháng thể nguyên vẹn. Các thuật ngữ "phần gắn kết kháng nguyên" của kháng thể, "mảnh gắn kết kháng nguyên" của kháng thể, và tương tự, như sử dụng trong đây, bao gồm polypeptit hoặc glycoprotein bất kỳ có trong tự nhiên, có thể thu được theo phương pháp enzym, tổng hợp, hoặc được điều chế biến đổi gen gắn kết đặc hiệu kháng nguyên để tạo ra phức. Mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể có thể có nguồn gốc, *ví dụ*, từ phân tử kháng thể nguyên vẹn bằng các kỹ thuật thích hợp bất kỳ như kỹ thuật cắt bằng thủy phân protein hoặc các kỹ thuật xử lý di truyền tái tổ hợp liên quan đến việc điều khiển và biểu hiện ADN mã hóa các vùng biến đổi và các vùng cố định tùy chọn. Các ADN đã được biết và/hoặc có sẵn từ, *ví dụ*, các nguồn trên thị trường, thư viện ADN (bao gồm, *ví dụ*, các thư viện kháng thể -thực khuẩn thể), hoặc có thể được tổng hợp. ADN có thể được sắp xếp trình tự và xử lý hóa học hoặc bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử, *ví dụ*, để sắp xếp một hoặc nhiều vùng biến đổi và/hoặc cố định thành cấu hình thích hợp, hoặc để đưa các codon, tạo các gốc cystein, biến đổi, bổ sung hoặc xóa các axit amin, v.v..

Các ví dụ không hạn chế của mảnh gắn kết kháng nguyên bao gồm: (i) các mảnh Fab; (ii) các mảnh  $F(ab')_2$ ; (iii) mảnh Fd; (iv) mảnh Fv; (v) phân tử Fv sợi đơn (scFv); (vi) mảnh dAb; và (vii) các đơn vị nhận diện tối thiểu chứa các gốc axit amin bất chước vùng siêu biến đổi của kháng thể (*ví dụ*, vùng xác định bổ thể (CDR-complementarity determining region) được phân lập). Các phân tử được thiết kế khác, như kháng thể kép, kháng thể ba phân tử, kháng thể bốn phân tử và kháng thể nhỏ, cũng bao gồm trong thuật ngữ "mảnh gắn kết kháng nguyên," như sử dụng trong đây.

Mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể đặc trưng sẽ bao gồm ít nhất một vùng biến đổi. Vùng biến đổi này có thể có cỡ hoặc hợp chất axit amin bất kỳ và thường sẽ bao gồm ít nhất một CDR liên kề với hoặc nằm trong khung với một hoặc nhiều trình tự khung. Trong mảnh gắn kết kháng nguyên có vùng V<sub>H</sub> liên kết với vùng V<sub>L</sub>, vùng V<sub>H</sub> và V<sub>L</sub> có thể được đặt vị trí tương ứng với một vùng khác theo cách sắp xếp thích hợp bất kỳ. Ví dụ, vùng biến đổi có thể là dime và chứa các dime V<sub>H</sub>-V<sub>H</sub>, V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub> hoặc



$V_L$ - $V_L$ . Cách khác, mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể có thể chứa vùng  $V_H$  hoặc  $V_L$  monome.

Theo một số phương án, mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể có thể chứa ít nhất một vùng biến đổi liên kết đồng hóa trị với ít nhất một vùng cố định. Các cấu hình ví dụ, không hạn chế của vùng cố định và vùng biến đổi có thể tìm thấy nằm trong mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể theo sáng chế bao gồm: (i)  $V_H$ - $C_H1$ ; (ii)  $V_H$ - $C_H2$ ; (iii)  $V_H$ - $C_H3$ ; (iv)  $V_H$ - $C_H1$ - $C_H2$ ; (v)  $V_H$ - $C_H1$ - $C_H2$ - $C_H3$ ; (vi)  $V_H$ - $C_H2$ - $C_H3$ ; (vii)  $V_H$ - $C_L$ ; (viii)  $V_L$ - $C_H1$ ; (ix)  $V_L$ - $C_H2$ ; (x)  $V_L$ - $C_H3$ ; (xi)  $V_L$ - $C_H1$ - $C_H2$ ; (xii)  $V_L$ - $C_H1$ - $C_H2$ - $C_H3$ ; (xiii)  $V_L$ - $C_H2$ - $C_H3$ ; và (xiv)  $V_L$ - $C_L$ . Trong cấu hình bất kỳ của vùng cố định và vùng biến đổi, bao gồm cấu hình ví dụ bất kỳ nêu trên, vùng cố định và vùng biến đổi có thể được liên kết trực tiếp với một vùng khác hoặc có thể được liên kết bởi một vùng bản lề hoặc vùng kết nối nguyên vẹn hoặc một phần. Vùng bản lề có thể bao gồm ít nhất 2 (ví dụ, 5, 10, 15, 20, 40, 60 hoặc hơn) axit amin tạo ra liên kết linh động hoặc bán linh động giữa các vùng cố định và/hoặc biến đổi liên kế trong phân tử polypeptit đơn. Hơn nữa, mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể theo sáng chế có thể bao gồm dime đồng phân tử hoặc dị dime (hoặc các đa phân tử khác) chứa các cấu hình vùng cố định và biến đổi bất kỳ được nêu trên liên kết không đồng hóa trị với một vùng khác và/hoặc với một hoặc nhiều vùng  $V_H$  hoặc  $V_L$  monome (ví dụ, bởi các liên kết disulfid).

Với các phân tử kháng thể nguyên vẹn, mảnh gắn kết kháng nguyên có thể đặc hiệu đơn hoặc đa đặc hiệu (ví dụ, đặc hiệu kép). Mảnh gắn kết kháng nguyên đa đặc hiệu của kháng thể đặc trưng sẽ bao gồm ít nhất hai vùng biến đổi khác nhau, trong đó mỗi vùng biến đổi có khả năng gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên riêng biệt hoặc với epitop khác trên cùng kháng nguyên. Định dạng kháng thể đa đặc hiệu bất kỳ, bao gồm các định dạng kháng thể đặc hiệu kép ví dụ được bộc lộ trong đây, có thể biến đổi phù hợp để sử dụng về mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể theo sáng chế bằng các kỹ thuật thông thường đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Các kháng thể theo sáng chế có thể có chức năng thông qua độc tính tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC -complement-dependent cytotoxicity) hoặc độc tính qua tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC-kháng thể-dependent cell-mediated cytotoxicity). "Độc tính tế bào phụ thuộc bổ thể" (CDC-Complement-dependent cytotoxicity) để chỉ sự phân giải các tế bào biểu hiện kháng nguyên bởi một kháng thể theo sáng chế trong sự có mặt của

bỏ thể. "Độc tính qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể" (ADCC) để chỉ phản ứng qua trung gian tế bào trong đó các tế bào gây độc tế bào không đặc hiệu biểu hiện các thụ thể Fc (FcR) (ví dụ, tế bào diệt tự nhiên (NK), bạch cầu trung tính, và đại thực bào) nhận dạng kháng thể đã liên kết trên tế bào đích và do đó dẫn tới ly giải tế bào đích. CDC và ADCC có thể được định lượng bằng các thử nghiệm đã biết và đã có trong lĩnh vực kỹ thuật này. (Xem, ví dụ, bằng sáng chế Mỹ số 5,500,362 và 5,821,337, và Clynes *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 95:652-656 (1998)).

Thuật ngữ "gắn kết đặc hiệu," hoặc tương tự, có nghĩa là kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó tạo ra phức với kháng nguyên tương đối ổn định trong các điều kiện sinh lý. Gắn kết đặc hiệu có đặc điểm là hằng số phân ly là  $1 \times 10^{-6}$  M hoặc thấp hơn. Các phương pháp để xác định liệu hai phân tử gắn kết đặc hiệu hay không đã biết rõ trong lĩnh vực này và bao gồm, ví dụ, sự thẩm tách cân bằng, phương pháp hấp thụ plasmon bề mặt, và tương tự. Ví dụ, một kháng thể "gắn kết đặc hiệu" GDF8 người, như sử dụng trong phạm vi sáng chế, bao gồm các kháng thể gắn kết GDF8 người hoặc mảnh của nó (ví dụ, peptit bao gồm ít nhất 6 axit amin liên tiếp trong SEQ ID NO:340) với giá trị  $K_D$  nhỏ hơn khoảng 1000nM, nhỏ hơn khoảng 500nM, nhỏ hơn khoảng 300nM, nhỏ hơn khoảng 200nM, nhỏ hơn khoảng 100nM, nhỏ hơn khoảng 90nM, nhỏ hơn khoảng 80nM, nhỏ hơn khoảng 70nM, nhỏ hơn khoảng 60nM, nhỏ hơn khoảng 50nM, nhỏ hơn khoảng 40nM, nhỏ hơn khoảng 30nM, nhỏ hơn khoảng 20nM, nhỏ hơn khoảng 10nM, nhỏ hơn khoảng 5nM, nhỏ hơn khoảng 4nM, nhỏ hơn khoảng 3nM, nhỏ hơn khoảng 2nM, nhỏ hơn khoảng 1nM hoặc nhỏ hơn khoảng 0.5nM, như đo được trong thử nghiệm hấp thụ plasmon bề mặt. (Xem, ví dụ, Ví dụ 3, trong bản mô tả). Một kháng thể được phân lập gắn kết đặc hiệu GDF8 người có thể, tuy nhiên, có tính phản ứng chéo với các kháng nguyên khác, như các phân tử GDF8 từ các loài khác.

Thuật ngữ kháng thể "ái lực cao" để chỉ các kháng thể có khả năng gắn kết với GDF8 với hằng số phân ly ( $K_D$ ) khoảng  $10^{-8}$  M hoặc thấp hơn, khoảng  $10^{-9}$  M hoặc thấp hơn, khoảng  $10^{-10}$  M hoặc thấp hơn, khoảng  $10^{-11}$  M hoặc thấp hơn, hoặc khoảng  $10^{-12}$  M hoặc thấp hơn, như đo được bởi phương pháp hấp thụ plasmon bề mặt, ví dụ, BIACORE™ hoặc ELISA ái lực-hòa tan.

Thuật ngữ "tốc độ phân ly chậm" hoặc "Koff" có nghĩa là kháng thể phân ly khỏi GDF8 với hằng số tốc độ là  $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  hoặc thấp hơn, tốt hơn là  $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  hoặc thấp

hơn, như được xác định bởi phương pháp hấp thụ plasmon bề mặt, ví dụ, BIACORE™.

Kháng thể “trung hòa” hoặc “ức chế”, có nghĩa là kháng thể mà sự gắn kết của nó với GDF8 gây ra sự ức chế hoạt tính sinh học của GDF8. Sự ức chế hoạt tính sinh học của GDF8 này có thể được đánh giá bằng cách đo một hoặc nhiều chất chỉ thị của hoạt tính sinh học GDF8. Các chất chỉ thị cho hoạt tính sinh học GDF8 có thể được đánh giá bằng một hoặc nhiều thử nghiệm *in vitro* hoặc *in vivo* chuẩn đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này (xem ví dụ sau đây).

Kháng thể kháng GDF8 người nguyên vẹn được bộc lộ trong đây có thể bao gồm một hoặc nhiều đoạn thể axit amin, đoạn lỏng và/hoặc đoạn xóa trong khung và/hoặc vùng CDR của vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ so với trình tự mầm tương ứng. Các đột biến này có thể dễ dàng xác định bằng cách so sánh trình tự axit amin được bộc lộ trong đây với các trình tự mầm đã có từ, ví dụ, các dữ liệu trình tự kháng thể đã công bố. Sáng chế bao gồm các kháng thể, và mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, có nguồn gốc từ trình tự axit amin bất kỳ được bộc lộ trong đây, trong đó một hoặc nhiều axit amin trong một hoặc nhiều khung và/hoặc vùng CDR được đột biến ngược thành các gốc mầm tương ứng hoặc thành đoạn thể axit amin bảo tồn (tự nhiên hoặc không tự nhiên) của các gốc mầm tương ứng (các thay đổi trình tự như vậy được gọi là "đột biến ngược trình tự mầm"). Các chuyên gia trong lĩnh vực này, bắt đầu từ các trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ và nặng được bộc lộ trong đây, có thể dễ dàng tạo ra nhiều kháng thể và mảnh gắn kết kháng nguyên chứa một hoặc nhiều đột biến ngược trình tự mầm riêng biệt hoặc tổ hợp của chúng. Theo một số phương án, tất cả các gốc khung và/hoặc CDR nằm trong vùng  $V_H$  và/hoặc  $V_L$  được đột biến ngược thành trình tự mầm. Theo các phương án khác, chỉ một số gốc được đột biến ngược thành trình tự mầm, ví dụ, chỉ các gốc bị đột biến trong 8 axit amin đầu tiên của FR1 hoặc nằm trong 8 axit amin cuối cùng của FR4, hoặc chỉ các gốc đột biến tìm thấy trong CDR1, CDR2 hoặc CDR3. Hơn nữa, các kháng thể theo sáng chế có thể chứa tổ hợp bất kỳ của hai hoặc nhiều đoạn đột biến ngược trình tự mầm nằm trong vùng khung và/hoặc CDR, tức là, trong đó một số gốc riêng biệt được đột biến ngược thành trình tự mầm trong khi một số gốc khác thì khác biệt với trình tự mầm được giữ lại. Khi thu được, các kháng thể và mảnh gắn kết kháng nguyên này chứa một hoặc nhiều đột biến ngược trình tự mầm có thể được kiểm tra dễ dàng về một hoặc nhiều đặc tính mong muốn như, tính đặc hiệu gắn kết được cải thiện, ái lực gắn kết tăng, đặc điểm sinh học đối kháng hoặc

chủ vận tăng lên hoặc được cải thiện (như trường hợp này có thể), tính sinh miễn dịch giảm, v.v.. Các kháng thể và mảnh gắn kết kháng nguyên thu được theo cách chung này là nằm trong phạm vi của sáng chế.

Sáng chế cũng bao gồm kháng thể kháng GDF8 chứa các biến thể của trình tự axit amin HCVR, LCVR, và/hoặc CDR bất kỳ được bộc lộ trong đây có một hoặc nhiều đoạn thể bảo tồn. Ví dụ, sáng chế bao gồm kháng thể kháng GDF8 có các trình tự axit amin HCVR, LCVR, và/hoặc CDR với, *ví dụ*, 10 hoặc ít hơn, 8 hoặc ít hơn, 6 hoặc ít hơn, 4 hoặc ít hơn, v.v.. đoạn thể axit amin bảo tồn tương ứng với trình tự axit amin HCVR, LCVR, và/hoặc CDR bất kỳ được bộc lộ trong đây. Theo một phương án, kháng thể bao gồm HCVR có trình tự axit amin được chọn từ SEQ ID NO:360 và 376 với 8 hoặc ít hơn đoạn thể axit amin bảo tồn. Theo phương án khác, kháng thể bao gồm HCVR có trình tự axit amin được chọn từ SEQ ID NO:360 và 376 với 6 hoặc ít hơn đoạn thể axit amin bảo tồn. Theo phương án khác, kháng thể bao gồm HCVR có trình tự axit amin được chọn từ SEQ ID NO:360 và 376 với 4 hoặc ít hơn đoạn thể axit amin bảo tồn. Theo phương án khác, kháng thể bao gồm HCVR có trình tự axit amin được chọn từ SEQ ID NO:360 và 376 với 2 hoặc ít hơn đoạn thể axit amin bảo tồn. Theo một phương án, kháng thể bao gồm LCVR có trình tự axit amin được chọn từ SEQ ID NO:368 và 384 với 8 hoặc ít hơn đoạn thể axit amin bảo tồn. Theo phương án khác, kháng thể bao gồm LCVR có trình tự axit amin được chọn từ SEQ ID NO:368 và 384 với 6 hoặc ít hơn đoạn thể axit amin bảo tồn. Theo phương án khác, kháng thể bao gồm LCVR có trình tự axit amin được chọn từ SEQ ID NO:368 và 384 với 4 hoặc ít hơn đoạn thể axit amin bảo tồn. Theo phương án khác, kháng thể bao gồm LCVR có trình tự axit amin được chọn từ SEQ ID NO:368 và 384 with 2 hoặc ít hơn đoạn thể axit amin bảo tồn.

Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh kháng thể theo sáng chế có thể được nối với gốc điều trị gốc có tác dụng điều trị ("thể liên hợp miễn dịch"), như độc tố tế bào, dược chất hóa trị liệu, và chất ức chế miễn dịch hoặc đồng vị phóng xạ.

"Kháng thể được phân lập," như sử dụng trong đây, có nghĩa là kháng thể đã được xác định và phân lập và/hoặc thu nhận từ ít nhất một thành phần trong môi trường tự nhiên của nó. Ví dụ, kháng thể đã được phân lập hoặc lấy ra từ ít nhất một thành phần của cơ quan, mô hoặc tế bào trong đó kháng thể tồn tại tự nhiên hoặc được sinh ra

tự nhiên là "kháng thể được phân lập" theo mục đích của sáng chế. Kháng thể được phân lập cũng bao gồm kháng thể *in situ* nằm trong tế bào tái tổ hợp, cũng như kháng thể đã được đưa vào ít nhất một bước tinh chế hoặc phân lập. Theo một số phương án, kháng thể được phân lập có thể về cơ bản là không có các nguyên liệu tế bào và/hoặc hóa chất khác.

Thuật ngữ "hấp thụ plasmon bề mặt", như sử dụng trong đây, để chỉ hiện tượng quang học cho phép phân tích các phản ứng đặc hiệu sinh học thời gian thực bằng cách phát hiện các biến đổi trong nồng độ protein trong chất nền cảm biến sinh học, ví dụ sử dụng hệ BIACORE™ (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden và Piscataway, N.J.).

Thuật ngữ " $K_D$ ", như sử dụng trong đây, là để chỉ hằng số phân ly cân bằng của phản ứng kháng thể-kháng nguyên cụ thể.

Thuật ngữ "epitop" bao gồm yếu tố quyết định, tốt hơn là yếu tố quyết định polypeptit, có khả năng gắn kết đặc hiệu với globulin miễn dịch hoặc thụ thể tế bào T. Theo một số phương án, các yếu tố quyết định epitop bao gồm các nhóm hoạt động hóa học bề mặt của các phân tử như axit amin, chuỗi bên của đường, các nhóm phosphoryl, hoặc nhóm sulfonyl, và, theo một số phương án, có thể có đặc điểm cấu trúc ba chiều riêng biệt, và/hoặc đặc điểm điện tích riêng biệt. Epitop là vùng của kháng nguyên gắn kết bởi kháng thể. Theo một số phương án, kháng thể được cho là gắn kết đặc hiệu một kháng thể khi nó ưu tiên nhận dạng kháng nguyên đích của nó trong hỗn hợp phức của protein và/hoặc các đại phân tử. Ví dụ, kháng thể được cho là gắn kết đặc hiệu kháng nguyên khi giá trị  $K_D$  thấp hơn hoặc bằng  $10^{-8}$  M, thấp hơn hoặc bằng  $10^{-9}$  M, hoặc thấp hơn hoặc bằng  $10^{-10}$  M.

Protein hoặc polypeptit là "về cơ bản tinh khiết," "về cơ bản đồng nhất" khi ít nhất khoảng 60 đến 75% mẫu thể hiện một loại polypeptit đơn nhất. Polypeptit hoặc protein này có thể là monome hoặc đa phân tử. Polypeptit hoặc protein về cơ bản tinh khiết đặc trưng sẽ bao gồm khoảng 50%, 60, 70%, 80% hoặc 90% trọng lượng/trọng lượng mẫu protein, thông thường tinh khiết khoảng 95%, và tốt hơn là trên 99%. Độ tinh khiết protein hoặc đồng nhất có thể được xác định bằng một số phương pháp đã biết trong lĩnh vực này, như điện di gel polyacrylamit của mẫu protein, sau đó hiện ảnh dải polypeptit đơn khi nhuộm màu gel bằng thuốc nhuộm đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật

này. Đối với một số mục đích, độ phân giải cao hơn có thể thu được bằng phương pháp HPLC hoặc phương pháp khác đã biết trong lĩnh vực tinh chế.

Thuật ngữ "chất tương tự polypeptit hoặc biến thể" như sử dụng trong đây để chỉ polypeptit bao gồm đoạn có ít nhất 25 axit amin có độ tương đồng về cơ bản với một phần của trình tự axit amin và có ít nhất một trong các đặc tính sau: (1) gắn kết đặc hiệu với GDF8 trong các điều kiện gắn kết ổn định, hoặc (2) có khả năng ức chế hoạt tính sinh học của GDF8. Đặc trưng, chất tương tự polypeptit hoặc biến thể bao gồm đoạn thể axit amin bảo tồn (hoặc đoạn lồng hoặc đoạn xóa) đối với trình tự có trong tự nhiên. Các chất tương tự đặc trưng có độ dài ít nhất 20 axit amin, ít nhất 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150 hoặc 200 axit amin hoặc dài hơn, và thường có thể càng dài như polypeptit trong tự nhiên chiều dài đầy đủ càng tốt.

Các đoạn thể axit amin được ưu tiên là các đoạn thể: (1) làm giảm độ nhạy cảm với sự thủy phân protein, (2) làm giảm độ nhạy cảm với sự oxy hóa, (3) thay đổi ái lực gắn kết để tạo ra phức protein, (4) thay đổi ái lực gắn kết, và (4) gây ra hoặc biến đổi các đặc tính hóa lý hoặc đặc điểm chức năng của các chất tương tự này. Các chất tương tự có thể bao gồm các đột biến khác nhau của trình tự khác trình tự peptit có trong tự nhiên. Ví dụ, các đoạn thể axit amin đơn hoặc nhiều axit amin (tốt hơn là đoạn thể axit amin bảo tồn) có thể được tạo ra trong trình tự có trong tự nhiên (tốt hơn là trong phần của polypeptit nằm ngoài (các) vùng tạo sự tiếp xúc nội phân tử. Đoạn thể axit amin bảo tồn về cơ bản không thay đổi đặc điểm cấu trúc của trình tự gốc (ví dụ, axit amin thay thế không nên nhằm để phá vỡ sự xoắn trong trình tự gốc, hoặc làm gián đoạn các dạng khác của cấu trúc bậc hai là đặc trưng của trình tự gốc). Ví dụ về các cấu trúc bậc một và bậc ba đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này được mô tả trong *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton 1984 W. H. Freeman and Company, New York; *Introduction to Protein Structure* (Branden & Tooze, eds., 1991, Garland Publishing, NY); và Thornton et al. 1991 *Nature* 354:105.

Các chất tương tự không phải là peptit thường được sử dụng trong lĩnh vực công nghiệp dược là các dược chất với các đặc điểm tương tự như các peptit khuôn. Các dạng của hợp chất không phải peptit được gọi là "chất giả peptit" hoặc "chất giống peptit" (xem, ví dụ, Fauchere (1986) *J. Adv. Drug Res.* 15:29; và Evans et al. (1987) *J. Med. Chem.* 30:1229. Các đoạn thể hệ thống chứa một hoặc nhiều axit amin của trình tự liên

ứng với D-axit amin cùng dạng (ví dụ, D-lysin ở vị trí của L-lysin) cũng có thể được sử dụng để tạo ra các peptit ổn định hơn. Ngoài ra, các peptit nhân tạo bao gồm trình tự liên ứng hoặc biến thể trình tự liên ứng về cơ bản giống hệt có thể được tạo ra bởi các phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này (Rizo et al. (1992) *Ann. Rev. Biochem.* 61:387), ví dụ, bằng cách bổ sung các gốc cystein nội có khả năng tạo các cầu disulfid nội phân tử sẽ đóng vòng peptit này.

Thuật ngữ "phần trăm tương đồng về trình tự" trong các trình tự axit nucleic là để chỉ các gốc trong hai trình tự giống nhau khi sắp xếp một cách phù hợp tối đa. So sánh sự giống nhau theo chiều dài của trình tự có thể là trên một đoạn duỗi ít nhất khoảng 9 nucleotit hoặc nhiều hơn, thông thường ít nhất khoảng 18 nucleotit, thường gặp hơn ít nhất khoảng 24 nucleotit, đặc trưng ít nhất khoảng 28 nucleotit, đặc trưng hơn ít nhất khoảng 32 nucleotit, và tốt hơn là ít nhất khoảng 36, 48 nucleotit hoặc nhiều hơn. Có một số các thuật toán khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật có thể sử dụng để xác định độ đồng nhất trình tự nucleotit. Ví dụ, trình tự polynucleotit có thể so sánh bằng FASTA, Gap hoặc Bestfit, là các chương trình trong gói Wisconsin phiên bản 10.0, Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wis. FASTA, bao gồm, ví dụ, các chương trình FASTA2 và FASTA3, cung cấp trình tự sắp xếp và phần trăm đồng nhất trình tự của các vùng trùng nhất giữa các trình tự đang xem xét và nghiên cứu (Pearson (1990) *Methods Enzymol.* 183:63-98 và (2000) *Methods Mol. Biol.* 132:185-219). Trừ khi được ghi chú khác, các thông số mặc định đối với một chương trình cụ thể hoặc thuật toán được sử dụng. Ví dụ, phần trăm đồng nhất trình tự giữa các trình tự axit nucleic có thể được xác định bằng FASTA với các thông số mặc định của nó (cỡ từ là 6 và hệ số NOPAM đối với ma trận tính điểm) hoặc sử dụng Gap với các thông số mặc định như được cung cấp trong GCG phiên bản 6.1.

Nhắc đến trình tự axit nucleic bao gồm bổ thể của nó trừ khi được nêu cụ thể khác. Do đó, nhắc đến phân tử axit nucleic có trình tự cụ thể nên được hiểu là bao gồm cả sợi bổ sung của nó, với trình tự bổ sung của nó. Thông thường, lĩnh vực kỹ thuật sử dụng thuật ngữ "phần trăm đồng nhất trình tự", "phần trăm tương tự trình tự" và "phần trăm tương đồng trình tự" thay thế cho nhau. Trong phạm vi sáng chế, các thuật ngữ này có cùng một nghĩa đối với các trình tự axit nucleic.

Thuật ngữ "về cơ bản tương giống nhau", hoặc "về cơ bản giống nhau về trình

tự," khi nói đến axit nucleic hoặc mảnh của nó, chỉ ra rằng, khi được sắp xếp tối ưu với các đoạn lồng nucleotit thích hợp hoặc đoạn xóa với axit nucleic khác (hoặc sợi bổ sung của nó), thì độ đồng nhất trình tự nucleotit ít nhất là khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 96%, ít nhất khoảng 97%, ít nhất khoảng 98% hoặc ít nhất khoảng 99% về các bazơ nucleotit, như đo được bởi thuật toán đã biết bất kỳ về độ đồng nhất trình tự, như FASTA, BLAST hoặc Gap, như bàn luận ở trên.

Khi sử dụng với polypeptit, thuật ngữ "về cơ bản giống nhau" hoặc "về cơ bản giống hệt" có nghĩa là hai trình tự peptit, khi được sắp xếp tối ưu, như bởi chương trình GAP hoặc BESTFIT sử dụng các trọng lượng đoạn cách mặc định, có chung ít nhất khoảng 80% độ đồng nhất trình tự, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 98% hoặc ít nhất khoảng 99% độ đồng nhất trình tự. Tốt hơn là, các vị trí gốc không giống hệt sẽ khác ở đoạn thể axit amin bảo tồn. "Đoạn thể axit amin bảo tồn" là một trong các gốc axit amin được thế bởi gốc axit amin khác có chuỗi bên (nhóm R) với các đặc điểm hóa học tương tự (ví dụ, điện tích hoặc tính kỵ nước). Nói chung, đoạn thể axit amin bảo tồn về cơ bản sẽ không thay đổi các đặc điểm chức năng của protein. Trong trường hợp hai hoặc nhiều trình tự axit amin khác nhau bởi đoạn thể bảo tồn, phần trăm đồng nhất trình tự hoặc độ tương đương có thể được điều chỉnh tăng lên để chính xác đối với bản chất bảo tồn của phép thế. Các phương thức để thực hiện sự điều chỉnh này đã được biết bởi các chuyên gia trong lĩnh vực này. Xem, ví dụ, Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24:307-331. Ví dụ về các nhóm axit amin có chuỗi bên với đặc điểm hóa học tương tự bao gồm 1) các chuỗi bên béo: glyxin, alanin, valin, leuxin và isoleuxin; 2) các chuỗi bên béo -hydroxyl: serin và threonin; 3) chuỗi bên chứa amit: asparagin và glutamin; 4) chuỗi bên thơm: phenylalanin, tyrosin, và tryptophan; 5) chuỗi bên bazơ: lysin, arginin, và histidin; và 6) chuỗi bên chứa lưu huỳnh là cystein và methionin. Các nhóm thể axit amin bảo tồn được ưu tiên là: valin-leuxin-isoleuxin, phenylalanin-tyrosin, lysin-arginin, alanin-valin, glutamate-aspartate, và asparagin-glutamin. Cách khác, phép thay thế bảo tồn là sự thay đổi bất kỳ có giá trị dương trong ma trận PAM250 log-xác suất được bộc lộ trong Gonnet et al. (1992) *Science* 256:1443-45. Sự thay thế "bảo tồn trung bình" là sự thay thế bất kỳ có giá trị không âm trong ma trận PAM250 log-xác suất.

Sự tương tự về trình tự đối với polypeptit, cũng được coi là độ đồng nhất trình tự, đặc trưng được đo bằng phần mềm phân tích trình tự. Phần mềm phân tích protein sẽ



làm khớp các trình tự tương tự bằng các phép đo độ tương tự gán cho các đoạn thể, đoạn xóa khác nhau và các điều chỉnh khác, bao gồm đoạn thể axit amin bảo tồn. Ví dụ, GCG chứa các chương trình "Gap" và "Bestfit" có thể sử dụng với các thông số mặc định để xác định độ tương đồng trình tự hoặc độ đồng nhất trình tự giữa các polypeptit họ gần, như các polypeptit tương đồng từ các loài khác nhau của sinh vật hoặc giữa protein kiểu dại và protein đột biến của nó. Xem, ví dụ, GCG Version 6.1. Các trình tự polypeptit cũng có thể được so sánh bằng FASTA sử dụng các thông số mặc định hoặc được khuyến cáo, chương trình trong GCG phiên bản 6.1. FASTA (ví dụ, FASTA2 và FASTA3) cung cấp trật tự sắp xếp và phần trăm đồng nhất trình tự của các vùng có đoạn lặp khớp nhất giữa các trình tự đang xem xét và nghiên cứu (Pearson (2000), *supra*). Thuật toán được ưu tiên khác khi so sánh trình tự theo sáng chế với dữ liệu chứa một lượng lớn các trình tự từ các sinh vật khác nhau là chương trình máy tính BLAST, đặc biệt 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.

Độ dài của trình tự polypeptit so sánh về độ tương đồng thường ít nhất là khoảng 16 gốc axit amin, ít nhất khoảng 20 gốc, ít nhất khoảng 24 gốc, ít nhất khoảng 28 gốc, hoặc ít nhất khoảng 35 gốc. Khi nghiên cứu dữ liệu chứa các trình tự từ số lượng lớn các sinh vật khác nhau, tốt hơn là so sánh các trình tự axit amin.

Thuật ngữ "lượng có hiệu quả" là nồng độ hoặc lượng của kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể gây ra mục đích được nêu cụ thể. "Lượng có hiệu quả" của kháng thể kháng GDF8 hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể của nó có thể được xác định theo kinh nghiệm. Hơn nữa, "lượng có hiệu quả điều trị" là nồng độ hoặc lượng kháng thể kháng GDF8 hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó có hiệu quả để đạt được hiệu quả điều trị nhất định. Lượng này cũng có thể được xác định theo kinh nghiệm.

#### Sản xuất kháng thể người

Phương pháp tạo ra các kháng thể đơn dòng, bao gồm các kháng thể đơn dòng người đầy đủ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các phương pháp đã biết có thể được sử dụng trong phạm vi sáng chế để tạo ra các kháng thể người gắn kết đặc hiệu với GDF8.

Sử dụng kỹ thuật VELOCIMMUNE™ hoặc kỹ thuật bất kỳ đã biết để tạo ra các kháng thể đơn dòng, kháng thể khả ái lực cao với GDF8 ban đầu được phân lập có vùng nặng của người và vùng hằng định của chuột. Theo phần thí nghiệm sau đây, các kháng thể có đặc điểm và được chọn về đặc tính mong muốn, bao gồm ái lực, tính chọn lọc, epitop, v.v. Các vùng cố định của chuột được thay thế bởi vùng cố định của người mong muốn để tạo ra kháng thể người đầy đủ theo sáng chế, ví dụ kiểu đại hoặc IgG1 hoặc IgG4 biến đổi. Trong khi vùng cố định được chọn có thể thay đổi theo mục đích sử dụng cụ thể, sự gắn kết với kháng nguyên ái lực cao và đặc điểm đặc hiệu đích có vùng biến đổi.

Nói chung, các kháng thể theo sáng chế có ái lực cao, đặc trưng có giá trị  $K_D$  từ  $10^{-12}$  đến  $10^{-9}$  M, khi được đo bằng cách gắn kết với kháng nguyên trên pha rắn hoặc trong pha lỏng. Các vùng cố định của chuột được thay thế bởi các vùng cố định của người mong muốn để tạo ra các kỹ thuật người đầy đủ theo sáng chế, ví dụ IgG1 kiểu đại (SEQ ID NO:335) hoặc IgG4 (SEQ ID NO:336), hoặc IgG1 hoặc IgG4 biến đổi (ví dụ, SEQ ID NO:337). Trong khi vùng cố định được chọn có thể thay đổi theo mục đích sử dụng cụ thể, sự gắn kết với kháng nguyên ái lực cao và các đặc điểm đặc hiệu đích có trong vùng biến đổi.

#### Tương đương sinh học

Kháng thể kháng GDF8 và mảnh kháng thể theo sáng chế bao gồm các protein có trình tự axit amin thay đổi so với các kháng thể được mô tả, nhưng vẫn giữ được khả năng gắn kết với GDF8 người. Các kháng thể biến thể và mảnh kháng thể như vậy bao gồm một hoặc nhiều đoạn thêm, đoạn xóa, hoặc đoạn thế axit amin so với trình tự gốc, nhưng biểu hiện hoạt tính sinh học về cơ bản tương đương với các kháng thể được mô tả. Như vậy, trình tự ADN mã hóa kháng thể kháng GDF8 theo sáng chế bao gồm các trình tự chứa một hoặc nhiều đoạn xóa, đoạn thêm, hoặc đoạn thế nucleotit so với trình tự bộc lộ, nhưng mã hóa kháng thể kháng GDF8 hoặc mảnh kháng thể về cơ bản tương đương sinh học với kháng thể kháng GDF8 hoặc mảnh kháng thể theo sáng chế. Ví dụ về các axit amin và trình tự ADN biến thể như vậy được bàn luận ở trên.

Hai protein gắn kết kháng nguyên, hoặc kháng thể, được xem là tương đương sinh học nếu, ví dụ, chúng là chất tương đương về mặt dược lực hoặc các dược chất thay thế mà tốc độ và mức độ hấp thụ của chúng không thể hiện sự khác biệt đáng kể

khi sử dụng ở cùng liều phân tử trong các điều kiện thí nghiệm tương tự, hoặc là liều đơn hoặc nhiều liều. Một số kháng thể sẽ được coi là tương đương hoặc được chất thay thế nếu chúng tương đương về mức độ hấp thụ nhưng không tương đương về tốc độ hấp thụ và còn có thể coi là tương đương sinh học nếu các khác biệt về tốc độ hấp thụ này là có dụng ý và được phản ánh trên nhãn, không cần thiết phải đạt được nồng độ được chất có hiệu quả trong cơ thể khi, ví dụ, sử dụng mãn tính, và được coi là không có ý nghĩa điều trị với sản phẩm thuốc cụ thể được nghiên cứu.

Theo một phương án, hai protein gắn kết kháng nguyên là tương đương sinh học nếu không có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt lâm sàng trong độ an toàn, độ tinh khiết, và hiệu lực của chúng.

Theo một phương án, hai protein gắn kết kháng nguyên là tương đương sinh học nếu một bệnh nhân có thể đổi một hoặc nhiều lần giữa sản phẩm mong muốn và sản phẩm sinh học mà không làm tăng dự đoán nguy cơ tác dụng phụ, bao gồm sự thay đổi có ý nghĩa lâm sàng trong tính sinh miễn dịch, hoặc hiệu lực bị giảm đi, so với việc điều trị liên tục mà không chuyển thuốc.

Theo một phương án, hai protein gắn kết kháng nguyên là tương đương sinh học nếu cả hai hoạt động theo một hoặc nhiều cơ chế hoạt động chung trong điều kiện hoặc các điều kiện sử dụng, ở mức độ mà các cơ chế này đã được biết.

Tương đương sinh học có thể được chứng minh bằng các phương pháp *in vivo* và *in vitro*. Phép đo tương đương sinh học bao gồm, ví dụ, (a) thử nghiệm *in vivo* ở người hoặc động vật có vú khác, trong đó nồng độ của kháng thể hoặc chất chuyển hóa của nó được đo trong máu, huyết tương, huyết thanh, hoặc các dịch sinh học khác là hàm theo thời gian; (b) thử nghiệm *in vitro* đã được hiệu chỉnh và được dự đoán một cách hợp lý về số liệu sinh khả dụng *in vivo* của người; (c) thử nghiệm *in vivo* ở người hoặc các động vật có vú khác trong đó hiệu quả dược học cấp tính thích hợp của kháng thể (hoặc đích của nó) được đo là hàm theo thời gian; và (d) trong thử nghiệm lâm sàng được kiểm soát chặt chẽ tạo ra độ an toàn, hiệu quả, hoặc sinh khả dụng hoặc tính tương đương sinh học của kháng thể.

Biến thể tương đương sinh học của kháng thể kháng GDF8 theo sáng chế có thể được xây dựng bằng cách, ví dụ, tạo ra các đoạn thể khác nhau về gốc hoặc trình tự hoặc xóa các gốc hoặc trình tự tận cùng hoặc bên trong không cần thiết cho hoạt tính

sinh học. Ví dụ, các gốc cystein không cần thiết cho hoạt tính sinh học có thể được bỏ đi hoặc thay thế bằng các axit amin khác để ngăn cản sự hình thành các cầu disulfite nội phân tử không cần thiết hoặc sai khi hoàn nguyên. Trong bản mô tả, các kháng thể tương đương sinh học có thể bao gồm kháng thể biến thể kháng GDF8 chứa các thay đổi axit amin điều chỉnh các đặc điểm glycosyl hóa của các kháng thể này, ví dụ, các đột biến làm giảm hoặc loại bỏ sự glycosyl hóa.

Xây dựng bản đồ epitop và các kỹ thuật có liên quan

Để sàng lọc các kháng thể gắn kết với epitop cụ thể (ví dụ, các kháng thể ức chế sự gắn kết của IgE với thụ thể ái lực cao của nó), thử nghiệm ức chế chéo thông thường như được mô tả trong Harlow và Lane (1990) *supra* có thể được thực hiện. Các phương pháp khác bao gồm các đột biến quét alanin, nhuộm màu peptit (Reineke (2004) *Methods Mol Biol* 248:443-63), hoặc kỹ thuật phân tích tách peptit. Ngoài ra, các phương pháp như phương pháp cắt epitop, chiết epitop và điều chỉnh hóa học các kháng nguyên có thể được sử dụng (Tomer (2000) *Protein Science* 9:487-496).

Thuật ngữ "epitop" để chỉ vị trí trên kháng nguyên mà tế bào B và/hoặc T đáp ứng tại đó. Các epitop tế bào B có thể được hình thành từ axit amin liên tiếp hoặc axit amin không liên tiếp gần kề nhau bởi sự gấp nếp protein. Epitop tạo thành từ axit amin liên tiếp đặc trưng được giữ lại khi tiếp xúc với các dung môi gây biến tính, trong đó epitop hình thành từ sự gấp nếp bậc ba đặc trưng là sẽ mất đi khi xử lý với các dung môi gây biến tính. Epitop đặc trưng bao gồm ít nhất 3, và thông thường hơn là, ít nhất 5 hoặc 8-10 axit amin trong cấu hình không gian duy nhất.

Phương pháp MAP (Modification-Assisted Profiling), cũng được biết là ASAP (lập profil kháng thể dựa trên cấu trúc kháng nguyên) là phương pháp phân loại một số lớn các kháng thể đơn dòng (mAb) kháng lại cùng kháng nguyên theo độ tương tự của profil gắn kết của mỗi kháng thể với các bề mặt kháng thể được biến đổi hóa học hoặc enzyme (US 2004/0101920). Mỗi tài liệu có thể phản ánh epitop đơn nhất hoặc là khác biệt hẳn hoặc trùng một phần với epitop đặc trưng của nhóm này. Kỹ thuật này cho phép lọc nhanh chóng các kháng thể giống hệt về mặt di truyền, sao cho việc xác định đặc điểm này có thể tập trung vào các kháng thể khác nhau về mặt di truyền. Khi sử dụng để sàng lọc thể lai, MAP có thể tạo điều kiện để xác định các dòng lai hiếm để tạo ra các mAb có đặc điểm mong muốn. MAP có thể được sử dụng để sắp xếp kháng thể

kháng GDF8 theo sáng chế thành các nhóm kháng thể gắn kết epitop khác nhau.

Sáng chế bao gồm kháng thể kháng GDF8 và mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể sẽ gắn kết epitop đặc hiệu của GDF8 người (SEQ ID NO:340) và có khả năng ức chế hoạt tính sinh học của GDF8. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó gắn kết trong epitop chứa các gốc axit amin từ 1 đến 109; từ 1 đến 54; từ 1 đến 44; từ 1 đến 34; từ 1 đến 24; và từ 1 đến 14. Theo phương án khác, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó gắn kết trong epitop gồm có gốc axit amin từ 65 đến 72; từ 35 đến 109; từ 45 đến 109; từ 55 đến 109; từ 65 đến 109; từ 75 đến 109; từ 85 đến 109; từ 92 đến 109; hoặc từ 95 đến 109. Theo phương án khác, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó gắn kết trong epitop bao gồm gốc axit amin từ 48 đến 72; từ 48 đến 69; từ 48 đến 65; từ 52 đến 72; từ 52 đến 65; hoặc từ 56 đến 65. Theo các phương án cụ thể, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó có thể gắn kết trong 2 hoặc nhiều epitop.

Sáng chế cũng bao gồm các kháng thể và mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng gắn kết GDF8 trưởng thành kiểu đại (SEQ ID NO:340) nhưng không gắn kết các peptit phân lập có trình tự ngắn hơn trình tự axit amin đầy đủ của SEQ ID NO:340. Ví dụ, sáng chế bao gồm kháng thể kháng GDF8 gắn kết GDF8 trưởng thành kiểu đại (SEQ ID NO:340) nhưng không gắn kết peptit phân lập bao gồm từ 10 đến 40 axit amin liên tiếp của SEQ ID NO:340. Sáng chế cũng bao gồm kháng thể kháng GDF8 không gắn kết epitop tuyến tính bất kỳ trong GDF8 trưởng thành kiểu đại. Theo một số phương án của sáng chế, kháng thể kháng GDF8 này gắn kết GDF8 trưởng thành kiểu đại của người bao gồm SEQ ID NO:340 nhưng không gắn kết một hoặc nhiều peptit GDF8 phân lập có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm axit amin 1-14, 1-18, 17-42, 48-65, 48-69, 48-72, 52-65, 52-72, 56-65, 56-72, 65-72, 73-90, 75-105 và 91-105, của SEQ ID NO:340. Theo một số phương án, kháng thể kháng GDF8 không gắn kết peptit GDF8 bất kỳ nêu trên. Các phương pháp để xác định liệu kháng thể nêu ra có khả năng gắn kết peptit GDF8 cụ thể đã được các chuyên gia trong lĩnh vực này biết rõ. Một phương pháp ví dụ được minh họa bởi Ví dụ 7 trong đây, trong đó các peptit GDF8 được gắn với các thể trung tâm, các kháng thể được bổ sung vào thể trung tâm kết nối với peptit này, và, sau đó là bước rửa, thể trung tâm gắn với kháng thể được phát hiện. Sự không có mặt cả các kháng thể gắn kết chỉ ra rằng các kháng thể không gắn kết với peptit cụ thể được thử nghiệm.

Sáng chế cũng bao gồm các kháng thể người được phân lập, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, gắn kết đặc hiệu với GDF8 trưởng thành kiểu đại của người (ví dụ, protein hoặc polypeptit bao gồm SEQ ID NO:340), nhưng không gắn kết với cấu trúc GDF8 khảm trong đó các axit amin nhất định của GDF8 được thay thế bởi (các) trình tự axit amin tương ứng từ protein cùng họ nhưng không giống hệt như TGF $\beta$ -1. Theo một ví dụ, cấu trúc khảm là GDF8/TGF $\beta$ -1 khảm trong đó các axit amin 48-72 của GDF8 trưởng thành được thay thế bởi trình tự axit amin tương ứng của TGF $\beta$ -1 (ví dụ, các axit amin 49-76 của TGF $\beta$ -1). Ví dụ về thể khảm như vậy đặc trưng là SEQ ID NO:352 (xem Ví dụ 4 và 6 trong bản mô tả). Do đó, theo một số phương án, các kháng thể theo sáng chế gắn kết đặc hiệu với GDF8 trưởng thành kiểu đại của người (SEQ ID NO:340) nhưng không gắn kết với cấu trúc GDF8/TGF $\beta$ -1 khảm của SEQ ID NO:352, chỉ ra rằng epitop mà các kháng thể này gắn vào bao gồm hoặc gồm có các axit amin đặt trong các góc từ 48 đến 72 của SEQ ID NO:340. Các thử nghiệm sinh học ức chế, như thử nghiệm nêu trong Ví dụ 4 trong đây, cũng có thể được sử dụng để gián tiếp khẳng định nếu kháng thể gắn kết GDF8 trưởng thành kiểu đại của người (SEQ ID NO:340) và không gắn kết cấu trúc GDF8/TGF $\beta$ -1 khảm, ví dụ, cấu trúc SEQ ID NO:352. Ví dụ, kháng thể ức chế hoạt tính sinh học của GDF8 trưởng thành kiểu đại của người nhưng không ức chế hoạt tính sinh học của GDF8/TGF $\beta$ -1 khảm dường như là gắn kết với phần GDF8 được thay thế bằng cấu trúc TGF $\beta$ -1 tương ứng trong cấu trúc khảm.

Tương tự, sáng chế cũng bao gồm các kháng thể người phân lập, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, ức chế hoạt động qua trung gian GDF8 trưởng thành kiểu đại trong thử nghiệm sinh học nhưng không ức chế hoạt tính của cấu trúc GDF8 khảm (ví dụ, GDF8/TGF $\beta$ -1 khảm trong đó các axit amin từ 48-72 của GDF8 trưởng thành được thay thế bởi trình tự axit amin tương ứng của TGF $\beta$ -1 (ví dụ, SEQ ID NO:352)). Thử nghiệm sinh học GDF8 ví dụ có thể được sử dụng trong phạm vi sáng chế theo sáng chế là thử nghiệm luciferaza kích thích GDF8 cảm ứng nêu trong Ví dụ 4 trong đây, mặc dù các thử nghiệm sinh học tương tự khác có khả năng định lượng hoạt tính tế bào của GDF8 cũng nằm trong phạm vi dự tính của sáng chế.

Sáng chế bao gồm kháng thể kháng GDF8 gắn kết với cùng epitop là kháng thể ví dụ bất kỳ được mô tả trong đây. Tương tự, sáng chế cũng bao gồm kháng thể kháng GDF8 cạnh tranh chéo với sự gắn kết GDF8 hoặc mảnh GDF8 với kháng thể ví dụ bất

kỳ cụ thể được mô tả trong đây.

Các chuyên gia trong lĩnh vực này có thể dễ dàng xác định liệu một kháng thể gắn kết với cùng epitop như, hoặc cạnh tranh về gắn kết với, kháng thể kháng GDF8 ví dụ bằng các sử dụng các phương pháp thông thường đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, để xác định nếu kháng thể thử nghiệm gắn kết với cùng epitop là kháng thể kháng GDF8 đối chứng của sáng chế, kháng thể đối chứng được để cho gắn kết với protein GDF8 hoặc peptit trong các điều kiện bão hòa. Tiếp theo, khả năng gắn kết với phân tử GDF8 của kháng thể thử nghiệm được đánh giá. Nếu kháng thể thử nghiệm có khả năng gắn kết với GDF8 sau khi gắn kết bão hòa với kháng thể kháng GDF8 đối chứng, có thể kết luận rằng kháng thể thử nghiệm gắn kết với epitop khác không phải là kháng thể kháng GDF8 đối chứng. Mặt khác, nếu kháng thể thử nghiệm không có khả năng gắn kết với phân tử GDF8 sau khi gắn kết bão hòa với kháng thể kháng GDF8 đối chứng, thì kháng thể thử nghiệm có thể gắn kết với cùng epitop như epitop đã được gắn kết bởi kháng thể kháng GDF8 đối chứng theo sáng chế. Thí nghiệm thông thường khác (ví dụ, đột biến peptit và các phân tích gắn kết) sau đó có thể được tiến hành để khẳng định liệu sự thiếu hụt gắn kết quan sát được của kháng thể thử nghiệm thực tế là do sự gắn kết với cùng epitop là kháng thể đối chứng hay không hoặc liệu sự ngăn cản không gian (hoặc hiện tượng khác) là có liên quan đến sự giảm gắn kết quan sát được. Các thí nghiệm kiểu này có thể được tiến hành bằng cách sử dụng các thử nghiệm ELISA, RIA, Biacore, đếm dòng tế bào hoặc thử nghiệm gắn kết kháng thể định tính hoặc định lượng khác bất kỳ đã biết trong lĩnh vực. Phù hợp với một số phương án của sáng chế, hai kháng thể gắn kết cùng một epitop (hoặc trùng) nếu, ví dụ, nồng độ vượt quá 1 lần, 5 lần, 10 lần, 20 lần hoặc 100 lần của một kháng thể sẽ ức chế sự gắn kết của kháng thể kia ít nhất 50% nhưng tốt hơn là 75%, 90% hoặc thậm chí 99% như đo được trong thử nghiệm gắn kết cạnh tranh (xem, ví dụ, Junghans et al., Cancer Res. 1990:50:1495-1502). Cách khác, hai kháng thể được cho là gắn kết với cùng epitop nếu về cơ bản tất cả các đột biến axit amin trong kháng nguyên sẽ làm giảm hoặc làm mất sự gắn kết của một kháng thể sẽ làm giảm hoặc mất sự gắn kết của epitop kia. Hai kháng thể được cho là có "epitop trùng" nếu chỉ một tập hợp con các đột biến axit amin làm giảm hoặc làm mất sự gắn kết của một kháng thể sẽ làm giảm hoặc làm mất sự gắn kết của epitop kia.

Để xác định liệu một kháng thể cạnh tranh gắn kết với kháng thể kháng GDF8 đối chứng, phương pháp gắn kết mô tả trên được tiến hành theo hai hướng: Theo hướng

đầu tiên, kháng thể đối chứng được để cho gắn kết với phân tử GDF8 trong các điều kiện bão hòa sau đó đánh giá sự gắn kết của kháng thể thử nghiệm với phân tử GDF8. Theo hướng thứ hai, kháng thể thử nghiệm được để cho gắn kết với phân tử GDF8 trong các điều kiện bão hòa sau đó đánh giá sự gắn kết của kháng thể đối chứng với phân tử GDF8. Nếu, theo cả hai hướng, chỉ kháng thể đầu tiên (bão hòa) có khả năng gắn kết với phân tử GDF8, thì kết luận rằng kháng thể thử nghiệm và kháng thể đối chứng cạnh tranh về gắn kết với GDF8. Sẽ rõ ràng với chuyên gia trong lĩnh vực này, một kháng thể cạnh tranh về gắn kết với kháng thể đối chứng có thể không cần thiết gắn kết với cùng epitop như kháng thể đối chứng, nhưng có thể ức chế về mặt không gian sự gắn kết của kháng thể đối chứng bằng cách gắn kết epitop trùng hoặc liền kề.

#### Tính chọn lọc loài và tính phản ứng chéo loài

Theo một số phương án của sáng chế, kháng thể kháng GDF8 gắn kết với GDF8 người nhưng không gắn kết với GDF8 từ các loài khác. Cách khác, kháng thể kháng GDF8 theo sáng chế, theo một số phương án, gắn kết với GDF8 người và với GDF8 từ một hoặc nhiều loài không phải là người. Ví dụ, kháng thể kháng GDF8 theo sáng chế có thể gắn kết với GDF8 người và có thể gắn kết hoặc không gắn kết, như trường hợp này có thể, với một hoặc nhiều GDF8 của chuột nhắt, chuột đồng, lợn nhí, chuột túi má, chuột nhảy, lợn, mèo, chó, thỏ, dê, cừu, bò, ngựa, lạc đà, khỉ đầu đỏ, khỉ đuôi sóc, khỉ nâu hoặc tinh tinh.

#### Các thể liên hợp miễn dịch

Sáng chế bao gồm kháng thể đơn dòng kháng GDF8 người hoặc được biến đổi phù hợp với người được liên hợp với gốc có tác dụng điều trị (“thể liên hợp miễn dịch”), như độc tố tế bào, dược chất hóa trị liệu, chất ức chế miễn dịch hoặc isotop phóng xạ. Các tác nhân độc tố tế bào bao gồm tác nhân bất kỳ gây độc cho tế bào. Ví dụ về các tác nhân độc tố tế bào thích hợp và tác nhân hóa trị liệu để tạo ra các thể liên hợp miễn dịch đã được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật này, xem ví dụ, WO 05/103081.

#### Các kháng thể đa đặc hiệu

Các kháng thể theo sáng chế có thể đặc hiệu đơn, đặc hiệu kép, hoặc đa đặc hiệu. Các kháng thể đa đặc hiệu có thể đặc hiệu với epitop khác nhau của một polypeptit đích hoặc có thể chứa các vùng gắn kết kháng nguyên đặc hiệu đối với nhiều hơn một polypeptit đích. Xem, ví dụ, Tutt et al., 1991, J. Immunol. 147:60-69; Kufer *et al.*,



2004, Trends Biotechnol. 22:238-244. Kháng thể kháng GDF8 theo sáng chế có thể liên kết với hoặc biểu hiện đồng thời với phân tử chức năng khác, ví dụ, peptit hoặc protein khác. Ví dụ, kháng thể hoặc mảnh của nó có thể được liên kết chức năng (ví dụ, bằng cách kết hợp hóa học, dung hợp di truyền, kết hợp không đồng hóa trị hoặc cách khác) với một hoặc nhiều gốc phân tử khác, như kháng thể hoặc mảnh kháng thể khác để tạo ra một kháng thể đặc hiệu kép hoặc đa đặc hiệu với tính đặc hiệu gắn kết thứ hai. Ví dụ, sáng chế bao gồm các kháng thể đặc hiệu kép trong đó một nhánh của globulin miễn dịch đặc hiệu với GDF8 người hoặc mảnh của nó, và nhánh khác của globulin miễn dịch này đặc hiệu với đích điều trị thứ hai hoặc được liên hợp với gốc có tác dụng điều trị.

Định dạng kháng thể đặc hiệu kép ví dụ thể được sử dụng trong phạm vi sáng chế bao gồm sử dụng vùng CH3 globulin miễn dịch (Ig) đầu tiên và vùng CH3 Ig thứ hai, trong đó vùng CH3 Ig đầu tiên và thứ hai khác nhau bởi ít nhất một axit amin, và trong đó sự khác ít nhất một axit amin sẽ làm giảm sự gắn kết của kháng thể đặc hiệu kép với Protein A so với kháng thể đặc hiệu kép không có sự khác biệt axit amin. Theo một phương án, vùng Ig CH3 đầu tiên gắn kết Protein A và vùng Ig CH3 domain chứa một đột biến sẽ làm giảm hoặc làm mất sự gắn kết Protein A như sự biến đổi H95R (theo cách đánh số IMGT exon; H435R theo đánh số EU). CH3 thứ hai có thể còn bao gồm biến đổi Y96F (by IMGT; Y436F by EU). Các biến đổi khác có thể thấy trong CH3 thứ hai bao gồm: D16E, L18M, N44S, K52N, V57M, và V82I (theo IMGT; D356E, L358M, N384S, K392N, V397M, và V422I theo EU) trong trường hợp kháng thể IgG1; N44S, K52N, và V82I (IMGT; N384S, K392N, và V422I theo EU) trong trường hợp các kháng thể IgG2; và Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q, và V82I (theo IMGT; Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q, và V422I theo EU) trong trường hợp kháng thể IgG4. Các biến đổi trên định dạng kháng thể đặc hiệu kép mô tả trên được dự tính là nằm trong lĩnh vực của sáng chế.

#### Sử dụng trong điều trị và các dược phẩm

Sáng chế đề xuất được phẩm bao gồm các kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng theo sáng chế. Việc sử dụng dược phẩm phù hợp với sáng chế sẽ được áp dụng với các chất mang thích hợp, tá dược, và tác nhân khác được đưa vào chế phẩm để tạo ra sự vận chuyển, phân phối, tính dung nạp cải thiện và tương tự. Vô số

chế phẩm thích hợp có thể được tìm thấy trong các công thức đã biết với các chuyên gia hóa dược: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Các chế phẩm này bao gồm, ví dụ, thuốc bột, hồ bột, thuốc mỡ, thạch, sáp, dầu, chất lỏng, tá dược lỏng chứa chất lỏng (cation hoặc anion) (như LIPOFECTIN™), thể liên hợp ADN, bột nhão hấp thụ khan, nhũ tương dầu trong nước và nước trong dầu, nhũ tương carbowax (polyetylen glycol với nhiều trọng lượng phân tử khác nhau), gel bán rắn, và hỗn hợp bán rắn chứa carbowax. Hỗn hợp bất kỳ đã nêu trên có thể thích hợp để điều trị và các liệu pháp phù hợp với sáng chế, với điều kiện là thành phần hoạt động trong chế phẩm không bị chế phẩm làm bất hoạt và chế phẩm này là có thể chấp nhận về mặt sinh lý và dung nạp được theo đường dùng. Cũng xem Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

Liều có thể thay đổi phụ thuộc vào tuổi và trọng lượng của đối tượng dùng thuốc, bệnh đích, tình trạng bệnh, đường dùng, và tương tự. Khi kháng thể theo sáng chế được sử dụng để điều trị các tình trạng bệnh khác nhau và các bệnh có liên quan đến GDF8, ví dụ, bệnh loạn dưỡng cơ, chứng teo cơ, hội chứng teo cơ, chứng nhược cơ tuổi già và chứng suy mòn, ở bệnh nhân trưởng thành, thuận lợi nếu sử dụng trong tĩnh mạch kháng thể theo sáng chế thông thường ở liều đơn là khoảng 0,01 đến 20mg/kg trọng lượng cơ thể, khoảng 0,1 đến 10mg/kg trọng lượng cơ thể, hoặc khoảng 0,1 đến 5mg/kg trọng lượng cơ thể. Phụ thuộc vào mức độ nặng của tình trạng bệnh, tần suất và thời gian điều trị có thể được điều chỉnh. Trong đường dùng qua đường miệng và đường dùng ngoài đường tiêu hóa khác, kháng thể có thể được sử dụng với liều tương ứng với liều được đưa ra trên. Khi tình trạng bệnh đặc biệt trầm trọng, liều này có thể tăng lên theo tình trạng bệnh đến lượng gây ra ra tác dụng phụ, nếu cần thiết.

Các hệ phân phối khác nhau đã được biết và áp dụng để sử dụng dược phẩm theo sáng chế, ví dụ, tạo nang trong liposom, vi hạt, vi nang, tế bào tái tổ hợp có khả năng biểu hiện virus đột biến, thực bào qua trung gian thụ thể (xem, ví dụ, Wu et al. (1987) J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Các phương pháp đưa thuốc vào bao gồm, nhưng không giới hạn ở, trong da, trong cơ, trong màng bụng, trong tĩnh mạch, dưới da, trong mũi, gây tê ngoài màng cứng, và đường miệng. Chế phẩm này có thể được sử dụng bằng đường thuận tiện bất kỳ, ví dụ bằng cách tiêm hoặc truyền, bằng cách hấp thu qua các mạch biểu mô hoặc niêm mạc da (ví dụ, niêm mạc miệng, niêm mạc trực tràng và niêm

mạc ruột, v.v.) và có thể được sử dụng cùng với các tác nhân tác động sinh học khác. Việc dùng thuốc có thể là toàn thân hoặc tại chỗ.

Dược phẩm cũng có thể được phân phối trong một tá dược lỏng, cụ thể là liposom (xem Langer (1990) Science 249:1527-1533).

Dược phẩm theo sáng chế có thể được tiêm dưới da hoặc trong tĩnh mạch bằng kim tiêm và xilanh chuẩn. Ngoài ra, đối với đường phân phối dưới da, thiết bị phân phối dạng bút sẵn có là ứng dụng để phân phối dược phẩm theo sáng chế. Thiết bị phân phối dạng bút như vậy có thể tái sử dụng hoặc sử dụng một lần. Thiết bị phân phối thuốc dạng bút tái sử dụng thường sử dụng một vỏ thuốc thay thế được chứa dược phẩm. Khi tất cả dược phẩm trong vỏ thuốc này đã được sử dụng và vỏ thuốc trống, vỏ thuốc trống này có thể dễ dàng bỏ đi và được thay thế bằng một vỏ thuốc khác chứa dược phẩm. The thiết bị phân phối thuốc dạng bút sau đó có thể sử dụng lại. Trong thiết bị phân phối thuốc dạng bút dùng một lần, không có vỏ thuốc thay thế được. Đúng hơn là, thiết bị phân phối thuốc dạng bút dùng một lần được nạp đầy trước dược phẩm được giữ trong một nguồn thuốc bên trong thiết bị này. Khi nguồn này hết dược phẩm, toàn bộ thiết bị được bỏ đi.

Một số thiết bị phân phối dạng bút và dạng bơm tiêm tự động có thể tái sử dụng được ứng dụng trong phương pháp phân phối dưới da dược phẩm theo sáng chế. Ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), bút DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland), bút HUMALOG MIX 75/25™, bút HUMALOG™, bút HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly và Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II và III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), bút BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™, và OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Germany), chỉ một số ít được nêu tên. Ví dụ về thiết bị phân phối thuốc dạng bút dùng một lần có ứng dụng trong phân phối dưới da dược phẩm theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở bút SOLOSTAR™ (sanofi-aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk), và KWIKPEN™ (Eli Lilly), bơm tiêm tự động SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN (Dey, L.P.), và bút HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park IL), chỉ một số ít được nêu tên.

Trong một số trường hợp, dược phẩm có thể được phân phối trong hệ giải phóng kiểm soát, ví dụ, bằng cách sử dụng bơm hoặc nguyên liệu polyme. Theo phương án khác, hệ giải phóng kiểm soát có thể được đặt gần đích của dược phẩm, do đó đòi hỏi chỉ một phần của liều toàn thân.

Ví dụ về dược phẩm để sử dụng qua đường miệng bao gồm dạng liều rắn hoặc lỏng, cụ thể, viên nén (bao gồm viên bao đường và viên nén bao phim), viên tròn, hạt, thuốc bột, viên nang (bao gồm viên nang mềm), sirô, nhũ tương, huyền phù, v.v.. Chế phẩm như vậy được sản xuất bằng các phương pháp đã được công bố rộng rãi và chứa tá dược lỏng, chất pha lỏng hoặc tá dược thường được sử dụng trong lĩnh vực bào chế dược phẩm. Ví dụ về tá dược lỏng hoặc tá dược cho viên nén là lactoza, tinh bột, sucroza, magie stearat, và tương tự.

Chế phẩm tiêm được có thể bao gồm các dạng liều để tiêm trong tĩnh mạch, dưới da, trong da và trong cơ, truyền nhỏ giọt, v.v.. Các chế phẩm tiêm được có thể được điều chế bằng các phương pháp đã biết rộng rãi. Ví dụ, các chế phẩm tiêm được có thể được điều chế, ví dụ, bằng cách hòa tan, tạo huyền phù hoặc nhũ hóa kháng thể hoặc muối của nó được mô tả trên trong môi trường nước vô khuẩn hoặc môi trường dầu thông dụng sử dụng trong thuốc tiêm. Với môi trường nước để tiêm, đó là, ví dụ, nước muối sinh lý, dung dịch đẳng trương chứa glucoza và các tác nhân hỗ trợ khác, v.v., có thể sử dụng kết hợp với tác nhân hòa tan thích hợp như rượu (ví dụ, etanol), rượu polyhydric (ví dụ, propylen glycol, polyetylen glycol), chất hoạt động bề mặt không ion hóa [ví dụ, polysorbat 80, HCO-50 (polyoxyetylen (50 mol) so cộng của dầu hải ly hydro hóa)], v.v.. Với môi trường dầu, sử dụng, ví dụ, dầu vừng, dầu đậu nành, v.v., có thể sử dụng kết hợp với tác nhân hòa tan như benzyl benzoat, rượu benzylic, v.v.. Do đó thuốc tiêm bào chế tốt hơn là được đóng vào một ống tiêm thích hợp.

Thuận lợi, dược phẩm để sử dụng qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa được mô tả trên được bào chế thành các dạng liều trong liều đơn vị thích hợp để chỉnh liều hoạt chất. Các dạng liều như vậy trong liều đơn vị bao gồm, ví dụ, viên nén, viên tròn, viên nang, thuốc tiêm (ống tiêm), thuốc đạn, v.v.. Lượng kháng thể trên thường nằm trong khoảng từ 5 đến 500mg trên mỗi dạng liều trong liều đơn vị; đặc biệt ở dạng tiêm, tốt hơn là kháng thể nêu trên được đưa vào với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 100 mg và nằm trong khoảng từ 10 đến 250mg đối với các dạng liều khác.

## Sử dụng điều trị của các kháng thể

Kháng thể theo sáng là hữu dụng để điều trị, phòng và/hoặc cải thiện bệnh hoặc tình trạng bệnh bất kỳ có liên quan đến hoạt tính GDF8. Cụ thể hơn, các kháng thể theo sáng chế là hữu dụng để điều trị tình trạng bệnh bất kỳ hoặc tình trạng đau có thể cải thiện bằng cách làm tăng độ căng cơ/trương lực cơ và/hoặc trọng lượng cơ và/hoặc chức năng cơ ở một đối tượng, hoặc bằng cách biến đổi có ưu tiên sự chuyển hóa (các quy trình carbohydrat, lipid và protein) bằng cách ức chế hoạt tính GDF8. Các bệnh, tình trạng bệnh và rối loạn ví dụ có thể được điều trị bởi kháng thể kháng GDF8 theo sáng chế bao gồm, nhưng không hạn chế ở, chứng nhược cơ tuổi già, chứng suy mòn (hoặc tự phát hoặc thứ phát sau tình trạng bệnh khác, *ví dụ*, ung thư, suy thận mãn tính, hoặc bệnh tắc nghẽn phổi mãn tính), chấn thương cơ, sự mòn cơ và chứng teo cơ, *ví dụ*, chứng teo cơ hoặc mòn cơ do hoặc liên quan đến việc tàn phế, bất động, nằm trên giường, chấn thương, điều trị bệnh hoặc can thiệp ngoại khoa (*ví dụ*, vỡ hông, thay thế xương hông, thay thế đầu gối, v.v.) hoặc trường hợp cần thiết lọc máu cơ học. Kháng thể kháng GDF8 theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị, phòng hoặc cải thiện các bệnh như bệnh ung thư, béo phì, bệnh tiểu đường, chứng viêm khớp, bệnh xơ cứng rải rác, bệnh loạn dưỡng cơ, xơ cứng cột bên teo cơ, bệnh Parkinson, chứng loãng xương, viêm xương khớp, chứng tiền loãng xương, hội chứng chuyển hóa (bao gồm, nhưng không giới hạn ở, bệnh béo phì, bệnh liên quan dinh dưỡng, teo cơ quan, bệnh tắc nghẽn phổi mãn tính, và chứng biếng ăn).

Sáng chế bao gồm các chế độ sử dụng điều trị bao gồm sử dụng kháng thể kháng GDF8 theo sáng chế kết hợp với ít nhất một hoạt chất điều trị nữa. Ví dụ không hạn chế về các hoạt chất điều trị khác bao gồm các chất đối kháng GDF8 khác (*ví dụ*, các chất ức chế GDF8 phân tử nhỏ hoặc các kháng thể GDF8 hoặc các phân tử gắn kết khác), các chất ức chế yếu tố tăng trưởng, chất ức chế miễn dịch, tác nhân kháng viêm, chất ức chế chuyển hóa, các chất ức chế enzym, và tác nhân gây độc tế bào/kìm tế bào. (Các) hoạt chất điều trị khác có thể được sử dụng trước, đồng thời, hoặc sau khi sử dụng kháng thể kháng GDF8 theo sáng chế.

## Sử dụng kháng thể để chẩn đoán

Kháng thể kháng GDF8 theo sáng chế cũng có thể được sử dụng để phát hiện và/hoặc định lượng GDF8 trong mẫu, *ví dụ*, với mục đích chẩn đoán. Ví dụ, kháng thể

kháng GDF8, hoặc mảnh của nó, có thể được sử dụng để chẩn đoán tình trạng bệnh hoặc bệnh có đặc trưng là sự biểu hiện bất thường (ví dụ, biểu hiện quá mức, biểu hiện thấp, không biểu hiện, v.v.) GDF8. Các thử nghiệm chẩn đoán ví dụ đối với GDF8 có thể bao gồm, ví dụ, cho tiếp xúc mẫu, thu được từ bệnh nhân, với kháng thể kháng GDF8 theo sáng chế, trong đó kháng thể kháng GDF8 được đánh dấu bởi một chất đánh dấu có thể phát hiện hoặc phân tử báo cáo. Cách khác, kháng thể kháng GDF8 không đánh dấu có thể được sử dụng trong ứng dụng chẩn đoán kết hợp với kháng thể thứ cấp tự nó được đánh dấu có thể phát hiện được. Chất đánh dấu có thể phát hiện hoặc phân tử báo cáo có thể là isotop phóng xạ, như  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ , hoặc  $^{125}\text{I}$ ; gốc huỳnh quang hoặc gốc phát quang hóa học như fluorescein isothioxyanat, hoặc rhodamin; hoặc enzym như phosphatase kiềm,  $\beta$ -galactosidaza, peroxidaza cá ngựa, hoặc luciferaza. Các thử nghiệm ví dụ cụ thể có thể được sử dụng để phát hiện hoặc định lượng GDF8 trong mẫu bao gồm thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (ELISA-enzyme-linked immunosorbent assay), thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA-radioimmunoassay), và sắp xếp tế bào được hoạt hóa huỳnh quang (FACS-fluorescence-activated cell sorting).

Các mẫu có thể được sử dụng trong các thử nghiệm chẩn đoán GDF8 theo sáng chế bao gồm mẫu mô hoặc mẫu dịch bất kỳ có thể thu được từ bệnh nhân chứa các lượng phát hiện được protein GDF8, hoặc các mảnh của nó, trong các điều kiện bình thường hoặc bị bệnh. Thông thường, các mức GDF8 trong mẫu cụ thể thu được từ bệnh nhân khỏe mạnh (ví dụ, bệnh nhân không mắc bệnh hoặc tình trạng bệnh liên quan đến các mức hoặc hoạt tính GDF8 bất thường) sẽ được đo để đầu tiên xác định mức ban đầu, hoặc mức chuẩn của GDF8. Mức ban đầu này của GDF8 sau đó có thể được so với mức GDF8 đo được trong các mẫu thu được từ các cá nhân nghi ngờ có bệnh hoặc tình trạng bệnh liên quan đến GDF8.

### Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1. Tạo ra các kháng thể người kháng GDF8 người.

Chuột có thể được gây miễn dịch bằng các phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực (xem, ví dụ, Harlow và Lane *supra*). Theo một phương án, kháng nguyên GDF8 được sử dụng trực tiếp, với tá được để kích thích đáp ứng miễn dịch, với chuột VELOCIMMUNE<sup>®</sup> chứa ADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ Ig nặng và kappa

người. Các tá được thích hợp bao gồm tá được Freund hoàn toàn hoặc không hoàn toàn, hệ tá được MPL+TDM (Sigma), hoặc RIBI (muramyl dipeptit) (xem O'Hagan 2000 Vaccine Adjuvant, bởi Human Press, Totawa, NJ). Đáp ứng miễn dịch kháng thể immune được theo dõi bằng thử nghiệm miễn dịch đặc hiệu kháng nguyên chuẩn. Khi đáp ứng miễn dịch mong muốn đạt được, theo một phương án, các tế bào B biểu hiện kháng thể được thu hoạch và dung hợp với tế bào u tủy của chuột để giữ khả năng sống của chúng và tạo ra các dòng tế bào lai. Các dòng tế bào lai được sàng lọc và lựa chọn để xác định các dòng tế bào sinh ra các kháng thể đặc hiệu kháng nguyên.

Cách khác, tế bào lai đặc hiệu kháng nguyên có thể được phân lập bởi cách đếm dòng tế bào. Ngắn gọn, sau khi dung hợp với tế bào u tủy, tế bào lai đã phân nhóm được cho phát triển trong 10 ngày trong môi trường HAT. Các tế bào sau đó được thu hoạch và nhuộm màu bởi GDF8 được đánh dấu biotin ở nồng độ 2µg/ml trong 1 giờ, sau đó bổ sung phycoerythrin-streptavidin. Các tế bào được đánh dấu huỳnh quang được sắp xếp bằng cách đếm dòng tế bào (tế bào đơn trong mỗi lỗ trong các đĩa 96 lỗ chứa môi trường tăng trưởng lai), nuôi cấy trong 8-10 ngày, và các môi trường được bổ sung dinh dưỡng sàng lọc sự có mặt của các kháng thể đơn dòng chức năng mong muốn.

Theo phương án khác, kháng thể kháng GDF8 sinh ra bằng cách phân lập trực tiếp các tế bào đơn nhân lách. Các kháng thể đặc hiệu kháng nguyên được phân lập trực tiếp từ các tế bào B được gây miễn dịch bởi kháng nguyên mà không dung hợp với tế bào u tủy, như mô tả trong tài liệu U.S. 2007/0280945A1. Các dòng tế bào CHO biểu hiện kháng thể tái tổ hợp ổn định được ổn định từ các thể tái tổ hợp thích hợp đã được phân lập.

#### Ví dụ 2. Phân tích sử dụng gen

Để phân tích cấu trúc của các kháng thể tạo ra, các axit nucleic mã hóa các vùng biến đổi của kháng thể được tách dòng vô tính và sắp xếp trình tự. Từ trình tự axit nucleic và trình tự axit amin dự đoán của các kháng thể, việc sử dụng gen được xác định đối với mỗi chuỗi kháng thể. Bảng 1 nêu việc sử dụng gen cho các kháng thể được chọn phù hợp với sáng chế. Các yếu tố xác định kháng thể (HCVR/LCVR): 21-E5 (SEQ ID NO:34/42); 21-B9 (SEQ ID NO:18/26); 21-E9 (SEQ ID NO:98/106); 21-A2 (SEQ ID NO:2/10); 22-D3 (SEQ ID NO:50/58); 22-E6 (SEQ ID NO:66/74); 22-G10 (SEQ ID NO:82/90); 1A2 (SEQ ID NO:226/234); 20B12 (SEQ ID NO:274/282); 58C8

(SEQ ID NO:242/250); 19F2 (SEQ ID NO:258/266); 8D12-1 (SEQ ID NO:114/122); 4E3-7 (SEQ ID NO:194/202); 9B11-12 (SEQ ID NO:162/170); 4B9 (SEQ ID NO:226/234); 1H4-5 (SEQ ID NO:210/218); 9B4-3 (SEQ ID NO:178/186); 3E2-1 (SEQ ID NO:290/298); 4G3-25 (SEQ ID NO:306/314); 4B6-6 (SEQ ID NO:130/138); H4H1657N2 (SEQ ID NO:360/368); H4H1669P (SEQ ID NO:376/384).

Bảng 1

| Kháng thể | Vùng biến đổi chuỗi nặng |      |    | Vùng biến đổi chuỗi nhẹ |    |
|-----------|--------------------------|------|----|-------------------------|----|
|           | VH                       | D    | JH | VK                      | JK |
| 21-E5     | 4-39                     | 3-22 | 5  | 1-17                    | 1  |
| 21-B9     | 4-39                     | 3-22 | 5  | 1-17                    | 1  |
| 21-E9     | 4-39                     | 3-22 | 5  | 1-17                    | 1  |
| 21-A2     | 3-23                     | 1-7  | 4  | 3-15                    | 4  |
| 22-D3     | 3-21                     | 5-5  | 4  | 1-17                    | 2  |
| 22-E6     | 4-39                     | 3-22 | 5  | 1-17                    | 1  |
| 22-G10    | 2-5                      | 1-7  | 4  | 1-16                    | 4  |
| 1A2       | 3-23                     | 1-7  | 3  | 3-15                    | 4  |
| 20B12     | 3-23                     | 6-13 | 6  | 3-15                    | 4  |
| 58C8      | 3-23                     | 1-7  | 3  | 3-15                    | 2  |
| 19F2      | 3-30                     | 1-26 | 4  | 2-28                    | 3  |
| 8D12-1    | 3-30                     | 1-7  | 4  | 2-137*                  | 5* |
| 4E3-7     | 3-23                     | 1-7  | 4  | 3-15                    | 4  |
| 9B11-12   | 3-23                     | 1-7  | 3  | 3-15                    | 4  |
| 4B9       | 3-23                     | 1-7  | 3  | 3-15                    | 4  |
| 1H4-5     | 3-30                     | 6-13 | 6  | 3-15                    | 4  |
| 9B4-3     | 3-23                     | 1-7  | 4  | 3-15                    | 4  |
| 3E2-1     | 4-34                     | 4-4  | 4  | 1-9                     | 4  |
| 3A4-3     | 3-21                     | 5-5  | 4  | 1-17                    | 1  |



|           |      |      |   |        |    |
|-----------|------|------|---|--------|----|
| 4G3-25    | 3-30 | 3-3  | 4 | 2-28   | 5  |
| 4B6-6     | 3-30 | 1-7  | 4 | 2-137* | 5* |
| H4H1657N2 | 3-23 | 2-21 | 6 | 1-27   | 4  |
| H4H1669P  | 3-33 | 3-9  | 6 | 1-12   | 4  |

Các cấu trúc đối chứng sử dụng trong các ví dụ sau

Các cấu trúc đối chứng khác nhau (kháng thể kháng GDF8 và các chất đối kháng GDF8 khác) được đưa vào trong các thí nghiệm sau đây với mục đích so sánh. Các cấu trúc đối chứng được thiết kế như sau: Đối chứng I: kháng thể kháng GDF8 người với các vùng biến đổi chuỗi nặng và nhẹ có các trình tự axit amin của các vùng tương ứng của "Myo29" (tức là, SEQ ID NOs: 16 và 18) như nêu trong tài liệu US 7,261,893; Đối chứng II: kháng thể kháng GDF8 người với các vùng biến đổi chuỗi nhẹ và nặng có trình tự axit amin của các vùng tương ứng của "2\_112\_K" (tức là, SEQ ID NO: 118 và 120) như nêu trong tài liệu US 2006/0263354; Đối chứng III: Cấu trúc dung hợp ActRIIB-Fc có trình tự axit amin trong SEQ ID NO:391; và Đối chứng IV: cấu trúc dung hợp ActRIIB-Fc biến thể, giống với Đối chứng III ngoại trừ với alanin ở vị trí 64 trong SEQ ID NO:391 [A64] được thay thế bằng arginin [R64]. (Không phải tất cả các cấu trúc đối chứng được sử dụng trong mọi Ví dụ).

Ví dụ 3. Xác định ái lực gắn kết kháng nguyên.

Hằng số cân bằng phân ly (giá trị  $K_D$ ) về gắn kết kháng nguyên với các kháng thể được chọn được xác định bằng động học bề mặt sử dụng thử nghiệm hấp thụ plasmon bề mặt cảm biến sinh học thời gian thực (BIACORE™ 2000). Mỗi kháng thể đã chọn được bắt giữ trên hoặc bề mặt kháng thể đa dòng IgG dê kháng chuột hoặc bề mặt kháng thể đa dòng kháng -hFc dê (Jackson Immuno Research Lab) được tạo ra thông qua việc kết hợp hóa học trực tiếp với chip BIACORE™ để tạo ra bề mặt bắt giữ kháng thể. Các dime đồng phân tử GDF8 người, dime đồng phân tử hGDF11, hoặc dime đồng phân tử hGDF5 ở nồng độ 25nM được tiêm lên trên bề mặt kháng thể bị bắt giữ, và sự gắn kết kháng nguyên kháng thể và sự phân ly được giám sát thời gian thực ở nhiệt độ phòng. Phân tích động học được tiến hành để tính toán  $K_D$ , hằng số tốc độ phân ly (kd), hằng số tốc độ kết hợp (ka) và thời gian bán thải của sự phân ly phức kháng nguyên/kháng thể (Bảng 2).

Bảng 2

| Kháng thể    | GDF8                |                         | GDF11               |                         |
|--------------|---------------------|-------------------------|---------------------|-------------------------|
|              | K <sub>D</sub> (nM) | T <sub>1/2</sub> (phút) | K <sub>D</sub> (nM) | T <sub>1/2</sub> (phút) |
| 21-E5        | 0,26                | 138                     | 0,12                | 116                     |
| 21-B9        | 0,12                | 126                     | 0,064               | 133                     |
| 21-E9        | 0,14                | 155                     | 0,07                | 221                     |
| 21-A2        | 0,40                | 78                      | 0,90                | 21                      |
| 22-D3        | 1,23                | 34                      | 1,09                | 21                      |
| 22-E6        | 0,26                | 148                     | 0,12                | 87                      |
| 22-G10       | 0,250               | 71                      | 0,73                | 50                      |
| 1A2          | 0,32                | 60                      | 0,30                | 28                      |
| 20B12        | 0,86                | 39                      | 2,08                | 2                       |
| 58C8         | 0,62                | 56                      | 0,44                | 30                      |
| 19F2         | 0,50                | 38                      | -                   | -                       |
| 8D12-1       | 0,66                | 95                      | 1,87                | 23                      |
| 4E3-7        | 1,89                | 27                      | 1,33                | 29                      |
| 9B11-12      | 1,45                | 39                      | 1,41                | 29                      |
| 4B9          | 0,55                | 55                      | 1,09                | 34                      |
| 1H4-5        | 0,95                | 54                      | 1,48                | 24                      |
| 9B4-3        | 1,18                | 50                      | 1,08                | 32                      |
| 3E2-1        | 2,55                | 45                      | 0,70                | 79                      |
| 3A4-3        | 1,07                | 137                     | 0,51                | 71                      |
| 4G3-25       | 3,90                | 25                      | 1,41                | 39                      |
| 4B6-6        | 0,95                | 121                     | 0,55                | 82                      |
| Đối chứng I  | 0,05                | 191                     | 0,08                | 136                     |
| Đối chứng II | 0,3                 | 41                      | -                   | -                       |

Thí nghiệm trên cũng được tiến hành với GDF8 áp dụng lên bề mặt bắt giữ kháng thể chứa các kháng thể nghiên cứu H4H1669P hoặc H4H1657N2. Số liệu sơ bộ thể hiện tốc độ phân ly rất chậm đối với cả hai kháng thể, gợi ý rằng  $K_D$  là 1-2pM hoặc thấp hơn.

Các giá trị  $K_D$  về gắn kết kháng nguyên với các kháng thể được chọn cũng được xác định như mô tả trên với đệm chạy được thay đổi không chứa BSA.

Bảng 3

| Kháng thể    | GDF8       |                  | GDF11      |                  |
|--------------|------------|------------------|------------|------------------|
|              | $K_D$ (nM) | $T_{1/2}$ (phút) | $K_D$ (nM) | $T_{1/2}$ (phút) |
| 1A2-mIgG     | 0,018      | 152              | 0,926      | 1                |
| 1A2-hIgG     | 0,006      | 340              | 0,640      | 6                |
| 8D12         | 0,016      | 840              | NB         |                  |
| Đối chứng I  | 0,002      | 1301             | 0,001      | 105              |
| Đối chứng II | 0,071      | 62               | 1,580      | 7                |

Các thí nghiệm gắn kết kháng nguyên bổ sung được tiến hành trong đó GDF8 và GDF11 được áp dụng lên bề mặt của kháng thể kháng GDF8 được chọn và các kháng thể đối chứng ở 25°C và 37°C. Hằng số cân bằng phân ly (giá trị  $K_D$ ) về sự gắn kết kháng nguyên với các kháng thể đã chọn được xác định bằng độc học bề mặt sử dụng thử nghiệm hấp thụ plasmon bề mặt cảm biến sinh học thời gian thực (BIAcore™ T100). Mỗi kháng thể hoặc đối chứng đã chọn bị bắt giữ trên bề mặt kháng thể đa dòng kháng hFc dê (Jackson Immuno Research Lab Cat# 109-005-098) được tạo thành thông qua việc kết hợp hóa học trực tiếp với chip cảm biến BIAcore™ CM5 để tạo thành bề mặt bắt giữ kháng thể. Các nồng độ khác nhau (2,5-0,625nM, 2 lần pha loãng) của dime đồng phân tử hGDF8 hoặc dime đồng phân tử hGDF11 (hoặc trong một số thí nghiệm, Activin A) được tiêm lên bề mặt bắt giữ kháng thể, và sự gắn kết kháng nguyên-kháng thể và phân ly được theo dõi về thời gian thực. Phân tích động học được tiến hành để tính toán  $K_D$ , hằng số tốc độ phân ly (kd), hằng số tốc độ kết hợp (ka) và thời gian bán thải phân ly của phức kháng nguyên/kháng thể. Kết quả được tổng kết trong Bảng 4. (NB = không quan sát thấy sự gắn kết).

Bảng 4

|                                   |                         | 25°C               |                              | 37°C               |                              |
|-----------------------------------|-------------------------|--------------------|------------------------------|--------------------|------------------------------|
| Chất ức chế                       | Kháng nguyên thử nghiệm | K <sub>D</sub> (M) | T <sub>1/2</sub> (thời gian) | K <sub>D</sub> (M) | T <sub>1/2</sub> (thời gian) |
| H4H1669P                          | GDF8                    | 3,93E-11           | 131                          | 5,84E-11           | 40                           |
|                                   | GDF11                   | NB                 | NB                           | NB                 | NB                           |
| H4H1657N2                         | GDF8                    | 2,83E-11           | 202                          | 3,79E-11           | 91                           |
|                                   | GDF11                   | NB                 | NB                           | NB                 | NB                           |
|                                   | Activin A               | NB                 | NB                           | không xác định     |                              |
| 1A2-hIgG1                         | GDF8                    | 6,23E-11           | 96                           | 4,62E-11           | 39                           |
|                                   | GDF11                   | NB                 | NB                           | NB                 | NB                           |
| Đối chứng I (Myo29)               | GDF8                    | 1,03E-11           | 273                          | 2,44E-11           | 70                           |
|                                   | GDF11                   | 1,46E-11           | 221                          | 2,74E-11           | 56                           |
|                                   | Activin A               | NB                 | NB                           | không xác định     |                              |
| Đối chứng III (ActRIIB-hFc [A64]) | GDF8                    | 3,07E-11           | 111                          | 6,40E-12           | 104                          |
|                                   | GDF11                   | 2,38E-11           | 132                          | 9,92E-12           | 53                           |
|                                   | Activin A               | 8,50E-12           | 196                          | không xác định     |                              |
| Đối chứng IV (ActRIIB-hFc [R64])  | GDF8                    | 2,13E-11           | 238                          | không xác định     |                              |
|                                   | GDF11                   | 3,00E-12           | 231                          |                    |                              |
|                                   | Activin A               | 3,00E-12           | 439                          |                    |                              |
| Kháng thể đối chứng âm isotyp     | GDF8                    | NB                 | NB                           | NB                 | NB                           |
|                                   | GDF11                   | NB                 | NB                           | NB                 | NB                           |
|                                   | Activin A               | NB                 | NB                           | không xác định     |                              |

Như thể hiện ở trên, các kháng thể H4H1669P, H4H1657N2, và 1A2-hIgG1 theo sáng chế tất cả đều biểu hiện sự gắn kết mạnh với GDF8 mà không gắn kết với GDF11. Ngược lại, các phân tử đối chứng thể hiện sự gắn kết với cả GDF8 và GDF11.

#### Ví dụ 4. Kháng thể phong bế đáp ứng Smad2/Luciferaza

Thử nghiệm luciferaza kích thích GDF8. Thử nghiệm sinh học này được phát triển để xác định khả năng của kháng thể kháng GDF8 được chọn để trung hòa chức năng tế bào qua trung gian GDF8 hoặc GDF11 *in vitro* sử dụng dòng tế bào A204 tạo ra (tế bào sácôm cơ vân của người, ATCC) chứa gen khởi đầu có thể đáp ứng với GDF8 hoặc GDF11 dẫn đến sự biểu hiện luciferaza. Sự ức chế hoạt tính luciferaza có thể đáp ứng GDF8 hoặc GDF11 được xác định như sau: Các tế bào được cấy lên trên đĩa 96 lỗ ở mật độ  $2 \times 10^4$  tế bào/lỗ trong môi trường và được ủ qua đêm ở 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Kháng thể protein (trong các nồng độ pha loãng dần từ 25nM trong môi trường tế bào) được bổ sung vào các lỗ A204/Smad2 tế bào thành 3 bản trên hai đĩa; GDF8 hoặc GDF11 (0,8nM) được bổ sung vào mỗi lỗ. Các đĩa được ủ ở 37°C, 5% CO<sub>2</sub> trong 6 giờ. Hoạt tính luciferaza như được xác định bằng cách bổ sung cơ chất BRIGHT-GLO® Substrate (Promega) và giá trị IC<sub>50</sub> được xác định (Bảng 5).

Bảng 5

| Kháng thể | IC <sub>50</sub> (nM) |       |
|-----------|-----------------------|-------|
|           | GDF8                  | GDF11 |
| 21-E5     | 8,50                  | 35    |
| 21-B9     | 0,62                  | 1,2   |
| 21-E9     | 0,99                  | 1,2   |
| 21-A2     | 9,70                  | >10   |
| 22-D3     | >20                   | >25   |
| 22-E6     | 2,20                  | 22,4  |
| 22-G10    | 10,50                 | >25   |
| 1A2       | 0,80                  | 1400  |
| 20B12     | >20                   | >25   |
| 58C8      | 1,80                  | >25   |
| 19F2      | >20                   | >25   |
| 8D12-1    | 2,40                  | >25   |

|             |       |       |
|-------------|-------|-------|
| 4E3-7       | 10,40 | >25   |
| 9B11-12     | 5,50  | >1000 |
| 4B9         | 0,47  | >25   |
| 3A4-3       | 3,10  | >20   |
| 4G3-25      | >25   | >25   |
| Đối chứng I | 0,62  | 0,94  |

Khả năng của kháng thể kháng GDF8 đã chọn để trung hòa chức năng tế bào qua trung gian GDF8 hoặc GDF11 còn được phân tích như mô tả trên với các nồng độ GDF8 hoặc GDF11 thay đổi. (Bảng 6). (nd = không xác định; NB = không gắn kết).

Bảng 6

| Kháng thể    | IC <sub>50</sub> (nM) |       |        |        |
|--------------|-----------------------|-------|--------|--------|
|              | GDF8                  |       | GDF11  |        |
|              | 0,5 nM                | 1 nM  | 0,4 nM | 0,8 nM |
| 1A2          | 0,196                 | 0,363 | ~ 600  | ~ 800  |
| 8D12         | 3,11                  | 5,55  | > 1000 | > 1000 |
| 21-E5        | 2,34                  | 2,98  | 6,9    | 10,5   |
| H4H1657N2    | 0,78                  | nd    | NB     | Nd     |
| H4H1669P     | 0,90                  | nd    | NB     | Nd     |
| Đối chứng I  | 0,172                 | 0,398 | 0,255  | 0,459  |
| Đối chứng II | 1,6                   | 4,15  | > 1000 | > 1000 |

Thử nghiệm sinh học mô tả trên được lặp lại với cấu trúc GDF8/TGFβ-1 khám là peptit hoạt hóa. Cụ thể, thể khám bao gồm GDF8 trưởng thành với các axit amin 48-72 thay thế bởi các axit amin tương ứng của TGFβ-1 như sử dụng trong thí nghiệm này (SEQ ID NO:352, cũng được gọi trong đây là "GDF8/TGFβ[48-72]"). Nó được tạo ra từ cấu trúc biểu hiện mã hóa gen dẫn đầu GDF8 người với trình tự TGFβ-1 người thay cho trình tự GDF8 tương ứng. Hoạt tính sinh học được đánh giá trong môi trường được bổ sung dinh dưỡng tạo ra bằng cách chuyển nạp tạm thời cấu trúc GDF8/TGFβ[48-72] trong tế bào CHO. Sự biểu hiện và xử lý được đánh giá bằng phương pháp phân tích

thẩm tách protein. Môi trường được bổ sung dinh dưỡng được cô đặc 20 lần, gia nhiệt đến 80°C trong 5 phút để bất hoạt tiền peptit liên kết với GDF8, và đánh giá hoạt tính trong các nồng độ pha loãng trong thử nghiệm sinh học. Trong khi nồng độ chính xác của protein khảm là không xác định trong các thí nghiệm này, nồng độ đặc trưng là nằm trong khoảng 1 – 10ug/ml trước khi cô. Như mô tả trên, các tế bào chứa gen khởi đầu đáp ứng với GDF8 dẫn đến biểu hiện luciferaza được cấy lên trên đĩa 96 lỗ. Các kháng thể đã chọn (trong nhiều nồng độ pha loãng lần lượt bắt đầu từ 100nM trong môi trường tế bào) được bổ sung vào lượng môi trường được bổ sung protein khảm GDF8/TGFβ[48-72] xác định để cho đáp ứng tối đa. Hỗn hợp này được ủ trước trong 45 phút và bổ sung vào các tế bào báo cáo. Hoạt tính luciferaza được đo và giá trị IC<sub>50</sub> values xấp xỉ được tính toán, như trình bày trong Bảng 7 sau đây. (NB = không ức chế).

Bảng 7

Sự ức chế kháng thể của hoạt tính sinh học GDF8/TGFβ[48-72]

| Kháng thể   | IC <sub>50</sub> (nM) |
|-------------|-----------------------|
| 1A2-hFc     | 0,357                 |
| 8D12-mFc    | NB                    |
| H2M1657N2   | NB                    |
| H1H1669P    | NB                    |
| Đối chứng I | 0,402                 |

Cấu trúc khảm GDF8/TGFβ[48-72] có thể hoạt hóa sự biểu hiện luciferaza trong thử nghiệm này, và 1A2-hFc và Đối chứng I có khả năng ức chế hoạt tính sinh học của cấu trúc này. Tuy nhiên, các kháng thể H2M1657N2 và H1H1669P không ức chế hoạt tính sinh học của cấu trúc khảm GDF8/TGFβ[48-72]. Do hai kháng thể này được thể hiện là ức chế hoạt tính sinh học của GDF8 kiểu đại trong hệ thử nghiệm này (xem Bảng 6), có thể kết luận là H2M1657N2 và H1H1669P có khả năng biểu hiện tác dụng sinh học nhất bằng cách tiếp xúc với epitop trong các axit amin 48-72 của GDF8.

Ví dụ 5. Nhuộm màu miễn dịch các mảnh hGDF8 sinh ra bởi sự cắt Proteinaza K

Phương pháp phân tích thẩm tách protein được sử dụng để xác định tính phản ứng miễn dịch của các mAb thử nghiệm và đối chứng mAb GDF8 người được cắt theo

cách thủy phân protein bởi proteinaza K. Các phản ứng enzym chứa 1 $\mu$ g GDF8 người và 0, 1 hoặc 6 $\mu$ g Proteinaza K được ủ trong hoặc 10 hoặc 45 phút trong đệm cắt protein. Các lượng tương đương chứa 20% lượng GDF8 có trong hỗn hợp phản ứng (200ng) được nạp vào trong 3 gel 18% SDS-PAGE không khử riêng biệt và thẩm tách điện phân trên các màng PVDF. Mỗi màng được ủ với kháng thể sơ cấp ở nồng độ 2 $\mu$ g/ml sau đó kháng thể thứ cấp được liên hợp với HRP. Được thể hiện trong Fig. 1A-C, là kết quả tính phản ứng miễn dịch được phát hiện lần lượt đối với đối chứng mAb I, 1A2 mAb và 21-E9 mAb. Các kết quả thể hiện sự giảm tính phản ứng GDF8 của mAb đối chứng (A) trong các vệt 3 và 6. Ngược lại, kháng thể 1A2 giữ tính phản ứng miễn dịch với mảnh GDF8 nhỏ có trọng lượng phân tử xấp xỉ 17-19kD (Fig. 1B).

Thí nghiệm này được lặp lại với thời gian phân cắt lên đến 10 phút, 1 giờ hoặc 16 giờ, trong sự có mặt của 0 hoặc 4 $\mu$ g GDF8, và 0, 24 hoặc 96 $\mu$ g Proteinaza K. Các kết quả (Fig. 2A-B) thể hiện rằng khi không có proteinaza K, cả mAb đối chứng và 1A2 là có tính phản ứng miễn dịch với GDF8 trưởng thành chiều dài đầy đủ (không bị cắt) (xem Fig. 2A-B, vệt 2 và 7). Trong sự có mặt của proteinaza K, tính phản ứng miễn dịch bị giảm đối với mAb đối chứng I ở tất cả các thời điểm. Ngược lại, mAb 1A2 giữ tính phản ứng miễn dịch với mảnh GDF8 người bị cắt (Fig. 2B, vệt 3-6 và 8). Các kết quả chỉ ra rằng 1A2 mAb là tính phản ứng miễn dịch với mảnh nhỏ hơn của GDF8 giữ được nguyên vẹn trong sự có mặt của proteinaza K, trong khi đó đối chứng mAb mất tính phản ứng miễn dịch với mảnh nhỏ hơn (17-19 kD).

Phương pháp phân tích thẩm tách protein được sử dụng để xác định tiếp epitop hGDF8 đối với kháng thể kháng hGDF8 được chọn. Sự điều chỉnh là trước kháng thể sơ cấp hGDF8 được ủ với màng, mỗi kháng thể kháng hGDF8 được ủ trước đó với sự vượt quá mol 1000 lần hoặc 50 lần mảnh peptit hGDF8 có 1-14 axit amin, 17-42 axit amin, 48-72 axit amin, hoặc 75-105 axit amin. Các kết quả thể hiện rằng việc ủ trước mảnh peptit 48-72 axit amin ở mức vượt mol 50 lần có khả năng ức chế sự gắn kết kháng thể 8D12 với hGDF8.

#### Ví dụ 6. Sự gắn kết kháng thể với thể khảm GDF8

12 tiền protein GDF8 được tạo ra. Bảng 8 trình bày cấu trúc protein GDF8 khảm trưởng thành. Protein GDF8 khảm bao gồm hai tập hợp: một tập hợp có các đoạn thể khác nhau trong trình tự GDF8 với các trình tự BMP2, tập hợp kia có các đoạn thể khác



nhau trong trình tự GDF8 với các trình tự TGF $\beta$ 1. Các protein khảm được sử dụng để kiểm tra và xác định vị trí gắn kết kháng thể.

Bảng 8

| Tên thể khảm | Mảnh GDF8 trưởng thành được thể | Cấu trúc GDF8 khảm trưởng thành             | SEQ ID NO: |
|--------------|---------------------------------|---------------------------------------------|------------|
| B1           | 1-15                            | BMP2.1-13.GDF8.16-109                       | 347        |
| T1           | 1-15                            | TGF $\beta$ 1.1-15.GDF8.16-109              | 348        |
| B17          | 17-42                           | GDF8.1-16.BMP2.15-42.GDF8.43-109            | 349        |
| T17          | 17-42                           | GDF8.1-16,TGF $\beta$ 1.17-43.GDF8.43-109   | 350        |
| B48          | 48-72                           | GDF8.1-47.BMP2.48-77.GDF8.73-109            | 351        |
| T48          | 48-72                           | GDF8.1-47.TGF $\beta$ 1.49-76.GDF8.73-109   | 352        |
| B65          | 65-72                           | GDF8.1-64.BMP2.68-77GDF8.73-109             | 353        |
| T65          | 65-72                           | GDF8.1-64.TGF $\beta$ 1.69-76.GDF8.73-109   | 354        |
| B75          | 75-105                          | GDF8.1-74.BMP2.80-110DGF8.106-109           | 355        |
| T75          | 75-105                          | GDF8.1-74.TGF $\beta$ 1.79-108.GDF8.106-109 | 356        |
| B91          | 91-105                          | GDF8.1-90.BMP2.96-110.GDF8.106-109          | 357        |
| T91          | 91-105                          | GDF8.1-90.TGF $\beta$ 1.95-10GDF8.106-109   | 358        |

Tiền protein GDF8 khảm khác nhau được chuyển nạp tạm thời trong dòng tế bào CHO.hFurin ổn định được thiết kế. phân tích thẩm tách protein tương tự như mô tả trên được sử dụng để phát hiện sự gắn kết của các kháng thể kháng hGDF8 khác nhau kháng mỗi GDF8 khảm. Ngắn gọn, 10 $\mu$ g chất nổi CHO được nạp lên trên mỗi vệt trong gel SDS-PAGE (khử hoặc không khử) và thẩm tách điện phân lên trên màng PVDF. Màng này sau đó được ủ với kháng thể kháng GDF8 ở nồng độ 2 $\mu$ g/ml sau đó tiếp xúc với kháng thể thứ cấp thích hợp liên hợp với HRP. Như trình bày trong Bảng 9, kháng thể 8D12 không có khả năng gắn kết hoặc B48 hoặc T48. Kết quả chỉ ra rằng axit amin 48 đến 72 của thành phần GDF8 trưởng thành trong sự gắn kết của kháng thể 8D12 đến GDF8.

Bảng 9

| GDF8 Protein  | Không khử   |      |              |     | Khử |     |
|---------------|-------------|------|--------------|-----|-----|-----|
|               | Đối chứng I | 8D12 | Đối chứng II | 1A2 | 4A7 | 8D2 |
| GDF8 kiểu đại | +           | +    | +            | +   | +   | +   |
| B48           | +           | -    | +            | +   | +   | -   |
| B65           | +           | +    | +            | +   | +   | +   |
| B91           | +           | +    | +            | +   | +   | +   |
| T48           | +           | -    | +            | +   | +   | -   |
| T65           | +           | +    | +            | +   | +   | +   |

Ví dụ 7. Sự gắn kết kháng thể với peptit hGDF8

14 peptit (bảng 10) được tạo ra từ hGDF8 trưởng thành (SEQ ID NO:340). Các peptit không biến đổi, các peptit biotinyl hóa tận cùng N (Đầu tận cùng N), hoặc peptit biotinyl hóa tận cùng C (Đầu tận cùng C) được sử dụng để thử nghiệm và xác định vị trí gắn kết kháng thể. hGDF8 chiều dài đầy đủ, hGDF11 và các peptit không biến đổi mỗi kháng thể độc lập được kết hợp amin vào thể trung tâm xMAP® Multi-Analyte COOH (hoặc hạt). Mỗi peptit biotinyl hóa được gắn kết với thể trung tâm xMAP® Multi-Analyte LumAvidin. Sau đó huyền phù chứa các hạt đã gắn kết peptit được phối hợp với một thể tích tương đương chất đệm ức chế (PBS, BSA1%, Tween20 0,05%, Natri azit 0,05%) và sau đó được phân bố vào trong đĩa lọc 96 lỗ (Millipore, MULTISCREEN® BV). Các kháng thể kháng hGDF8 thử nghiệm và đối chứng, ở 2,5µg/ml sau đó được bổ sung vào huyền phù chứa các hạt đã gắn kết peptit và được để cho gắn kết với các hạt ở RT, qua đêm. Các hạt đã được ủ kháng thể sau đó được rửa hai lần bằng PBST (PBS + Tween20 0,05%) và ủ với hoặc Phycoerythrin (PE) liên hợp với kháng hFC hoặc PE liên hợp với -conjugated anti-mFC antibodies ở RT trong 45 phút. Các hạt được rửa lại và tín hiệu gắn kết kháng thể với các peptit khác nhau được phát hiện bởi thiết bị LUMINEX® 100™ hoặc 200™. Như trình bày trong Bảng 10, kháng thể 8D12 kháng hGDF8 có thể gắn kết với các peptit 4, 5, 6, 7, 8, và 9. Ngược lại, kháng thể H4H1657N2 kháng hGDF8 không gắn kết peptit bất kỳ (không thể hiện số liệu).

Bảng 10

| Số. | Peptit | Biến đổi          | Đối<br>chứng I | Đối<br>chứng II | 21-E5 | 1A2 | 8D12  |
|-----|--------|-------------------|----------------|-----------------|-------|-----|-------|
| 1   | 1-14   | Không biến<br>đổi | -              | -               | -     | -   | -     |
|     |        | Đầu tận<br>cùng N | -              | -               | -     | -   | -     |
|     |        | Đầu tận<br>cùng C | -              | -               | -     | -   | -     |
| 2   | 1-18   | Không biến<br>đổi | -              | -               | -     | -   | -     |
|     |        | Đầu tận<br>cùng N | -              | -               | -     | -   | -     |
|     |        | Đầu tận<br>cùng C | -              | ++              | -     | +++ | +/-   |
| 3   | 17-42  | Không biến<br>đổi | -              | -               | -     | -   | -     |
|     |        | Đầu tận<br>cùng N | -              | -               | -     | -   | -     |
|     |        | Đầu tận<br>cùng C | -              | -               | -     | -   | -     |
| 4   | 48-65  | Không biến<br>đổi | -              | -               | -     | -   | +++   |
|     |        | Đầu tận<br>cùng C | -              | -               | -     | -   | +++++ |
| 5   | 48-69  | Không biến<br>đổi | -              | -               | -     | -   | +++   |
|     |        | Đầu tận<br>cùng C | -              | -               | -     | -   | +++++ |
| 6   | 48-72  | Không biến<br>đổi | -              | +               | +     | +   | +++   |
|     |        | Đầu tận<br>cùng N | -              | -               | -     | -   | +     |

|    |        |                   |   |     |   |   |       |
|----|--------|-------------------|---|-----|---|---|-------|
|    |        | Đầu tận<br>cùng C | - | -   | - | - | +++++ |
| 7  | 52-65  | Không biến<br>đổi | - | -   | - | - | +++   |
|    |        | Đầu tận<br>cùng C | - | -   | - | - | +++++ |
| 8  | 52-72  | Không biến<br>đổi | - | -   | - | - | ++    |
|    |        | Đầu tận<br>cùng C | - | -   | - | - | +++++ |
| 9  | 56-65  | Đầu tận<br>cùng C | - | -   | - | - | ++    |
| 10 | 56-72  | Không biến<br>đổi | - | -   | - | - | -     |
|    |        | Đầu tận<br>cùng C | - | -   | - | - | +     |
| 11 | 65-72  | Không biến<br>đổi | - | -   | - | - | -     |
|    |        | Đầu tận<br>cùng N | - | -   | - | - | -     |
|    |        | Đầu tận<br>cùng C | - | -   | - | - | -     |
| 12 | 73-90  | Không biến<br>đổi | - | -   | - | - | +/-   |
|    |        | Đầu tận<br>cùng N | - | +/- | - | + | +/-   |
|    |        | Đầu tận<br>cùng C | + | -   | - | - | +     |
| 13 | 75-105 | Không biến<br>đổi | - | -   | - | - | -     |
|    |        | Đầu tận<br>cùng N | - | -   | - | - | -     |
|    |        | Đầu tận<br>cùng C | - | -   | - | - | -     |

|    |        |                |   |   |   |   |   |
|----|--------|----------------|---|---|---|---|---|
| 14 | 91-105 | Không biến đổi | - | - | - | - | - |
|    |        | Đầu tận cùng N | - | - | - | - | - |
|    |        | Đầu tận cùng C | - | - | - | - | - |

Ví dụ 8. Hiệu quả của kháng thể kháng GDF8 người lên sự gắn kết của GDF8 với RIIB Activin

Đầu tiên, hGDF8 trưởng thành được kết hợp amin với các hạt Luminex®. Các hạt Luminex® được bao hGDF8 sau đó được ủ với các kháng thể kháng hGDF8, ở nồng độ 1,25µg/ml, trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Activin RIIB-mFc người sau đó được bổ sung vào hỗn hợp hạt -kháng thể và ủ thêm trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Các hạt sau đó được rửa và nhuộm màu bằng kháng thể đa dòng kháng mFc liên hợp với R-phycoerythrin (R-PE) và đo mật độ huỳnh quang trung bình (MFI-mean fluorescence intensity). Như trình bày trong Bảng 11, mặc dù mAb I đối chứng và kháng thể 21-E5 cả hai đều có thể ức chế sự gắn kết giữa hGDF8 và hActivin RIIB, mAb II đối chứng chỉ có khả năng ức chế một phần sự gắn kết. Kháng thể 1A2 không có khả năng ức chế sự gắn kết của hGDF8 với thụ thể của nó, Activin RIIB (Bảng 11, n = 3).

Bảng 11

| Kháng thể        | MFI   |
|------------------|-------|
| Đối chứng âm     | 4,560 |
| mAb I đối chứng  | 58    |
| mAb II đối chứng | 1,653 |
| 1A2-hIgG         | 4,037 |
| 21-E5-hIgG       | 275   |

Ví dụ 9. Biến thể của kháng thể 8D12

Biến thể của kháng thể 8D12 có LCVR được điều chỉnh được tạo ra bằng cách biến đổi một hoặc nhiều axit amin sau trong LCVR của 8D12: A7S hoặc T, A8P, 9PL, S18P, V19A, M21I, K27Q, F41Y, V42L, R44K, R55L hoặc T, M56G hoặc L, N58Y,

L59R, A75D, R79K, A105G, L109V, và L111I.

Ái lực gắn kết ( $K_D$ ) của kháng thể biến thể đối với hGDF8 được xác định bằng thử nghiệm cộng hưởng plasma bề mặt cảm biến sinh học thời gian thực (BIAcore™3000) mô tả trên trong các đệm chạy biến đổi không chứa BSA (Bảng 12).

Bảng 12

| Kháng thể | $K_D$ (nM) | $T_{1/2}$ (phút) |
|-----------|------------|------------------|
| 8D12      | 0,071      | 139              |
| 8D12-v2   | 0,520      | 25               |
| 8D12-v3   | 0,380      | 46               |

Sự gắn kết giữa kháng thể biến thể và peptit hGDF8 cũng được thử nghiệm như mô tả trên với Ví dụ 7. Kháng thể biến thể 8D12-v2 và 8D12-v3 thể hiện sự gắn kết mạnh với các peptit được biotinyl hóa Đầu tận cùng C 4, 5, 7, và 10.

Ví dụ 10. Hiệu quả của kháng thể kháng GDF8 lên khối lượng cơ xương

Hiệu lực của các mAb kháng GDF8 được chọn để gây ra sự phì đại cơ xương được xác định *in vivo*. Ngắn gọn, 20 chuột CB17 SCID, khoảng 9 tuần tuổi, được chia đều theo trọng lượng cơ thể thành 4 nhóm. mAb được chọn (đối chứng I, 1A2, 21-E5, 8D12, 1A2-hIgG, hoặc đối chứng II) được tiêm ở 3 liều tăng dần là 2,5mg/kg/liều, 5mg/kg/liều, và 10mg/kg/liều. Mảnh Fc của IgG người được sử dụng làm đối chứng âm. Các kháng thể được sử dụng trong màng bụng hai lần trong tuần đầu tiên và một lần một tuần trong ba tuần sau. Vào ngày 28, chuột được cho chết nhẹ nhàng và cân, và cơ xương chày trước (TA), cơ cơ bụng chân (GA), và cơ tứ đầu đùi (Quad), tim, lách, và thận, được giải phẫu và cân. Các mô được chuẩn hóa với trọng lượng cơ thể ban đầu, và phần trăm thay đổi trọng lượng so với đối chứng âm được tính toán. Sáu thí nghiệm riêng biệt được lặp lại với các kháng thể: Đối chứng I, 1A2, 21-E5, 8D12, 1A2-hIgG, và đối chứng II (Bảng 13-18). Ngoài ra, thí nghiệm này cũng được lặp lại với các liều tăng lên cao hơn kháng thể đối chứng I ở 10 mg/kg/liều, 30 mg/kg/liều, và 50 mg/kg/liều (Bảng 19). Kết quả là phần trăm tăng lên so với đối chứng âm  $\pm$  độ lệch chuẩn.

Bảng 13

|                    | Đối chứng I      |                   |                  | Đối chứng âm    |
|--------------------|------------------|-------------------|------------------|-----------------|
| Liều               | 2,5 mg/kg        | 5 mg/kg           | 10 mg/kg         | 10 mg/kg        |
| Trọng lượng cơ thể | $7,66 \pm 1,37$  | $9,92 \pm 1,82$   | $13,99 \pm 1,21$ | $0,00 \pm 1,41$ |
| Cơ TA              | $13,84 \pm 2,23$ | $16,99 \pm 2,16$  | $13,68 \pm 0,96$ | $0,00 \pm 2,71$ |
| Cơ GA              | $10,58 \pm 1,67$ | $11,31 \pm 2,44$  | $12,90 \pm 3,0$  | $0,00 \pm 3,36$ |
| Cơ tứ đầu đùi      | $14,79 \pm 1,55$ | $15,99 \pm 2,72$  | $20,84 \pm 2,09$ | $0,00 \pm 1,84$ |
| Tim                | $2,05 \pm 3,04$  | $2,96 \pm 2,96$   | $7,55 \pm 1,61$  | $0,00 \pm 2,45$ |
| Thận               | $3,53 \pm 1,39$  | $3,56 \pm 3,51$   | $5,66 \pm 4,59$  | $0,00 \pm 2,82$ |
| Lách               | $39,82 \pm 6,78$ | $45,26 \pm 19,10$ | $9,02 \pm 3,08$  | $0,00 \pm 5,47$ |

Bảng 14

|                    | 1A2              |                   |                  | Đối chứng âm    |
|--------------------|------------------|-------------------|------------------|-----------------|
| Liều               | 2,5 mg/kg        | 5 mg/kg           | 10 mg/kg         | 10 mg/kg        |
| Trọng lượng cơ thể | $6,08 \pm 1,08$  | $9,96 \pm 1,32$   | $9,92 \pm 1,09$  | $0,00 \pm 1,76$ |
| Cơ TA              | $15,56 \pm 1,54$ | $18,24 \pm 4,49$  | $20,69 \pm 3,13$ | $0,00 \pm 4,47$ |
| Cơ GA              | $20,49 \pm 1,84$ | $21,36 \pm 2,79$  | $24,36 \pm 3,46$ | $0,00 \pm 3,59$ |
| Cơ tứ đầu đùi      | $26,92 \pm 3,07$ | $30,15 \pm 3,56$  | $33,09 \pm 4,46$ | $0,00 \pm 4,05$ |
| Tim                | $3,70 \pm 1,31$  | $6,37 \pm 2,27$   | $12,42 \pm 2,70$ | $0,00 \pm 4,10$ |
| Thận               | $1,28 \pm 2,89$  | $2,89 \pm 3,30$   | $5,31 \pm 3,29$  | $0,00 \pm 4,39$ |
| Lách               | $-8,07 \pm 5,75$ | $-10,00 \pm 4,68$ | $9,68 \pm 9,19$  | $0,00 \pm 6,84$ |

Bảng 15

|                    | 21-E5            |                  |                  | Đối chứng âm    |
|--------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|
| Liều               | 2,5 mg/kg        | 5 mg/kg          | 10 mg/kg         | 10 mg/kg        |
| Trọng lượng cơ thể | $4,16 \pm 0,87$  | $4,14 \pm 2,82$  | $5,21 \pm 1,58$  | $0,00 \pm 1,15$ |
| Cơ TA              | $13,86 \pm 1,66$ | $14,01 \pm 2,41$ | $10,32 \pm 2,54$ | $0,00 \pm 1,65$ |

|               |                  |                  |                  |                 |
|---------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|
| Cơ GA         | $7,70 \pm 1,86$  | $12,94 \pm 1,10$ | $8,13 \pm 2,36$  | $0,00 \pm 1,41$ |
| Cơ tứ đầu đùi | $8,64 \pm 1,31$  | $13,57 \pm 1,79$ | $8,46 \pm 3,22$  | $0,00 \pm 1,94$ |
| Tim           | $-7,11 \pm 1,00$ | $-7,14 \pm 3,17$ | $-5,51 \pm 1,58$ | $0,00 \pm 2,23$ |
| Thận          | $-6,8 \pm 2,83$  | $-3,2 \pm 3,57$  | $-0,32 \pm 2,07$ | $0,00 \pm 3,93$ |
| Lách          | $29,81 \pm 9,83$ | $49,76 \pm 7,86$ | $10,85 \pm 6,63$ | $0,00 \pm 5,76$ |

Bảng 16

|                    | Kháng thể 8D12   |                  |                  | Đối chứng âm    |
|--------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|
| Liều               | 2,5 mg/kg        | 5 mg/kg          | 10 mg/kg         | 10 mg/kg        |
| Trọng lượng cơ thể | $10,06 \pm 0,86$ | $12,76 \pm 1,01$ | $11,41 \pm 1,35$ | $0,00 \pm 0,66$ |
| Cơ TA              | $17,99 \pm 1,53$ | $21,30 \pm 2,06$ | $22,11 \pm 3,20$ | $0,00 \pm 1,85$ |
| Cơ GA              | $21,14 \pm 1,19$ | $23,10 \pm 0,99$ | $23,40 \pm 3,72$ | $0,00 \pm 1,44$ |
| Cơ tứ đầu đùi      | $26,74 \pm 1,53$ | $31,00 \pm 1,61$ | $28,80 \pm 2,72$ | $0,00 \pm 0,94$ |
| Tim                | $-1,61 \pm 2,06$ | $3,63 \pm 1,93$  | $3,42 \pm 2,52$  | $0,00 \pm 1,08$ |
| Thận               | $-1,06 \pm 2,02$ | $-4,26 \pm 2,25$ | $-5,52 \pm 3,83$ | $0,00 \pm 3,66$ |
| Lách               | $4,33 \pm 6,34$  | $-9,04 \pm 2,64$ | $-1,85 \pm 6,26$ | $0,00 \pm 4,25$ |

Bảng 17

|                    | Kháng thể 1A2-hIgG |                   |                   | Đối chứng âm     |
|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| Liều               | 2,5 mg/kg          | 5 mg/kg           | 10 mg/kg          | 10 mg/kg         |
| Trọng lượng cơ thể | $6,73 \pm 1,51$    | $3,84 \pm 2,32$   | $7,45 \pm 2,91$   | $0,00 \pm 0,76$  |
| Cơ TA              | $15,62 \pm 2,4$    | $12,09 \pm 1,81$  | $10,91 \pm 3,33$  | $0,00 \pm 2,80$  |
| Cơ GA              | $16,29 \pm 1,02$   | $15,20 \pm 2,54$  | $15,67 \pm 3,60$  | $0,00 \pm 2,13$  |
| Cơ tứ đầu đùi      | $19,39 \pm 2,92$   | $20,03 \pm 2,54$  | $19,73 \pm 3,83$  | $0,00 \pm 1,98$  |
| Tim                | $5,91 \pm 3,81$    | $5,39 \pm 2,77$   | $3,52 \pm 3,16$   | $0,00 \pm 3,14$  |
| Thận               | $1,70 \pm 4,01$    | $1,20 \pm 1,73$   | $1,39 \pm 3,70$   | $0,00 \pm 3,27$  |
| Lách               | $-15,44 \pm 5,6$   | $-30,08 \pm 6,63$ | $-23,90 \pm 2,36$ | $0,00 \pm 11,32$ |



Bảng 18

|                    | Đối chứng II     |                  | Đối chứng âm    |
|--------------------|------------------|------------------|-----------------|
| Liều               | 2,5 mg/kg        | 5 mg/kg          | 5 mg/kg         |
| Trọng lượng cơ thể | $10,19 \pm 1,20$ | $10,83 \pm 1,58$ | $0,00 \pm 1,17$ |
| Cơ TA              | $14,70 \pm 3,28$ | $13,44 \pm 4,13$ | $0,00 \pm 3,87$ |
| Cơ GA              | $19,44 \pm 2,08$ | $14,35 \pm 3,36$ | $0,00 \pm 1,80$ |
| Cơ tứ đầu đùi      | $18,92 \pm 4,86$ | $13,00 \pm 2,18$ | $0,00 \pm 2,03$ |
| Tim                | $2,78 \pm 5,09$  | $2,71 \pm 6,72$  | $0,00 \pm 0,69$ |
| Thận               | $1,84 \pm 2,65$  | $0,41 \pm 3,04$  | $0,00 \pm 2,12$ |
| Lách               | $12,32 \pm 5,60$ | $8,41 \pm 3,38$  | $0,00 \pm 4,31$ |

Bảng 19

|                    | Đối chứng I      |                  |                  | Đối chứng âm    |
|--------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|
| Liều               | 10 mg/kg         | 30 mg/kg         | 50 mg/kg         | 10 mg/kg        |
| Trọng lượng cơ thể | $9,20 \pm 0,73$  | $13,62 \pm 1,38$ | $12,55 \pm 1,71$ | $0,00 \pm 1,18$ |
| Cơ TA              | $18,16 \pm 1,51$ | $25,58 \pm 3,14$ | $23,03 \pm 2,00$ | $0,00 \pm 3,81$ |
| Cơ GA              | $16,91 \pm 2,08$ | $23,72 \pm 3,14$ | $24,68 \pm 2,73$ | $0,00 \pm 3,58$ |
| Cơ tứ đầu đùi      | $20,77 \pm 1,01$ | $26,54 \pm 3,68$ | $25,67 \pm 3,32$ | $0,00 \pm 4,63$ |
| Tim                | $1,55 \pm 3,07$  | $3,11 \pm 2,58$  | $2,11 \pm 2,23$  | $0,00 \pm 1,96$ |
| Thận               | $3,09 \pm 1,90$  | $10,38 \pm 5,08$ | $8,89 \pm 3,59$  | $0,00 \pm 1,35$ |
| Lách               | $8,22 \pm 5,80$  | $6,90 \pm 5,87$  | $-0,74 \pm 1,85$ | $0,00 \pm 7,38$ |

Thí nghiệm tương tự được tiến hành sử dụng các kháng thể H4H1657N2 và H4H1669P và đối chứng sử dụng với chuột SCID. Cụ thể, chuột SCID đực ở 10 tuần tuổi được sử dụng kháng thể qua đường dưới da ở nồng độ 10 mg/kg theo sơ đồ dùng thuốc như sau: 2 lần vào tuần 1 và 1 lần/tuần vào tuần thứ 2 và 3. Tổng cộng thời gian điều trị là 28 ngày. Đối với thí nghiệm này, 5 chuột được cho dùng kháng thể đối chứng âm isotyp; 5 chuột được cho dùng kháng thể đối chứng I (Myo29); 6 chuột được cho dùng H4H1657N2; và 6 chuột được sử dụng H4H1669P. Kết quả được tổng kết trong

Bảng 20 và được biểu hiện là phần trăm tăng lên so với đối chứng âm  $\pm$  độ lệch chuẩn.

Bảng 20

|                    | Đối chứng isotyp | Đối chứng I      | H4H1657N2        | H4H1669P         |
|--------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Liều               | 10 mg/kg         | 10 mg/kg         | 10 mg/kg         | 10 mg/kg         |
| Trọng lượng cơ thể | $0,00 \pm 1,97$  | $14,52 \pm 2,68$ | $10,28 \pm 0,95$ | $10,70 \pm 1,26$ |
| Cơ TA              | $0,00 \pm 4,10$  | $17,47 \pm 3,09$ | $25,53 \pm 3,96$ | $13,77 \pm 2,01$ |
| Cơ GA              | $0,00 \pm 1,97$  | $19,46 \pm 2,92$ | $21,69 \pm 1,67$ | $13,39 \pm 1,30$ |
| Cơ tứ đầu đùi      | $0,00 \pm 3,59$  | $14,05 \pm 3,03$ | $22,15 \pm 3,47$ | $9,87 \pm 2,55$  |
| Tim                | $0,00 \pm 2,49$  | $9,42 \pm 1,63$  | $5,40 \pm 2,28$  | $12,70 \pm 2,67$ |
| Mô mỡ trắng        | $0,00 \pm 9,72$  | $25,14 \pm 19$   | $-8,05 \pm 7,53$ | $4,22 \pm 6,19$  |

Thí nghiệm tương tự cũng được tiến hành bằng cách sử dụng các kháng thể H4H1657N2 và H4H1669P và đối chứng được sử dụng với chuột C57. Cụ thể, chuột C57 đực 10 tuần tuổi được sử dụng kháng thể dưới da ở nồng độ 10mg/kg theo lịch biểu dùng thuốc sau: 2 lần mỗi tuần trong hai tuần. Đối với thí nghiệm này, 5 chuột được sử dụng kháng thể đối chứng isotyp âm; 5 chuột được sử dụng đối chứng I (Myo29); 5 chuột được sử dụng H4H1657N2; và 6 chuột được sử dụng H4H1669P. Kết quả được tổng kết trong Bảng 21 và được biểu diễn là phần trăm tăng lên so với đối chứng âm  $\pm$  độ lệch chuẩn.

Bảng 21

|                    | Đối chứng isotyp | Đối chứng I      | H4H1657N2        | H4H1669P          |
|--------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
| Liều               | 10 mg/kg         | 10 mg/kg         | 10 mg/kg         | 10 mg/kg          |
| Trọng lượng cơ thể | $0,00 \pm 0,92$  | $4,64 \pm 0,99$  | $5,11 \pm 0,73$  | $2,75 \pm 1,07$   |
| Cơ TA              | $0,00 \pm 4,26$  | $8,92 \pm 1,56$  | $14,92 \pm 3,09$ | $7,62 \pm 2,90$   |
| Cơ GA              | $0,00 \pm 2,39$  | $6,28 \pm 2,10$  | $14,20 \pm 1,77$ | $6,07 \pm 3,80$   |
| Cơ tứ đầu đùi      | $0,00 \pm 2,46$  | $3,53 \pm 2,11$  | $12,85 \pm 2,69$ | $1,24 \pm 1,74$   |
| Tim                | $0,00 \pm 2,28$  | $-3,18 \pm 2,70$ | $1,39 \pm 2,83$  | $2,45 \pm 3,95$   |
| Mô mỡ trắng        | $0,00 \pm 8,20$  | $19,05 \pm 7,72$ | $-5,23 \pm 8,34$ | $-4,53 \pm 10,28$ |

Sau đó, các thí nghiệm đáp ứng với liều được tiến hành bằng cách sử dụng các kháng thể H4H1657N2 và H4H1669P ở chuột SCID. Cụ thể, chuột SCID đực ở 10 tuần tuổi được sử dụng các kháng thể đối chứng qua đường dưới da ở liều 30mg/kg, và H4H1657N2 hoặc H4H1669P ở nồng độ 2,5, 10 hoặc 30 mg/kg, theo biểu đồ dùng thuốc sau: 2 lần một tuần vào tuần 1 và 1 lần mỗi tuần sau đó. Kết quả được tổng kết trong Bảng 22 và 23 và được biểu hiện là phần trăm tăng lên so với đối chứng âm  $\pm$  độ lệch chuẩn.

Bảng 22

|                    | Isotyp đối chứng | Đối chứng I      | H4H1657N2          |                   |                    |
|--------------------|------------------|------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| Liều               | 30 mg/kg         | 30 mg/kg         | 2,5 mg/kg          | 10 mg/kg          | 30 mg/kg           |
| Số lượng chuột (n) | 5                | 5                | 5                  | 5                 | 5                  |
| Trọng lượng cơ thể | $0,00 \pm 1,38$  | $7,46 \pm 2,44$  | $10,16 \pm 0,92$   | $6,51 \pm 0,91$   | $10,12 \pm 1,68$   |
| Cơ TA              | $0,00 \pm 2,55$  | $16,13 \pm 5,62$ | $22,22 \pm 2,75$   | $19,79 \pm 1,19$  | $24,10 \pm 3,62$   |
| Cơ GA              | $0,00 \pm 2,66$  | $13,50 \pm 5,20$ | $21,94 \pm 3,18$   | $21,84 \pm 2,94$  | $25,01 \pm 4,15$   |
| Cơ tứ đầu đùi      | $0,00 \pm 2,06$  | $16,89 \pm 4,11$ | $26,30 \pm 3,72$   | $26,28 \pm 2,39$  | $30,81 \pm 2,98$   |
| Tim                | $0,00 \pm 2,67$  | $3,23 \pm 3,29$  | $14,46 \pm 1,55$   | $2,70 \pm 1,51$   | $4,06 \pm 2,53$    |
| Mô mỡ trắng        | $0,00 \pm 13,91$ | $5,08 \pm 9,02$  | $-23,70 \pm 10,29$ | $-16,77 \pm 7,54$ | $-15,44 \pm 11,43$ |

Bảng 23

|                    | Đối chứng isotyp | Đối chứng I      | H4H1669P         |                  |                  |
|--------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Liều               | 30 mg/kg         | 30 mg/kg         | 2,5 mg/kg        | 10 mg/kg         | 30 mg/kg         |
| Số lượng chuột (n) | 5                | 5                | 5                | 5                | 5                |
| Trọng lượng cơ thể | 0,00 $\pm$ 1,47  | 13,77 $\pm$ 1,99 | 2,87 $\pm$ 1,66  | 5,72 $\pm$ 0,56  | 4,88 $\pm$ 1,11  |
| Cơ TA              | 0,00 $\pm$ 2,38  | 25,79 $\pm$ 2,37 | 7,82 $\pm$ 2,25  | 12,38 $\pm$ 2,56 | 11,86 $\pm$ 2,59 |
| Cơ GA              | 0,00 $\pm$ 2,12  | 22,82 $\pm$ 1,25 | 2,68 $\pm$ 2,06  | 12,46 $\pm$ 1,30 | 10,55 $\pm$ 3,33 |
| Cơ tứ đầu đùi      | 0,00 $\pm$ 3,08  | 25,69 $\pm$ 3,65 | 4,10 $\pm$ 2,32  | 12,27 $\pm$ 1,63 | 9,43 $\pm$ 2,67  |
| Tim                | 0,00 $\pm$ 0,91  | 7,78 $\pm$ 1,62  | -0,01 $\pm$ 3,31 | 5,37 $\pm$ 1,71  | 2,84 $\pm$ 4,73  |
| Mô mỡ trắng        | 0,00 $\pm$ 9,41  | 12,60 $\pm$ 8,08 | 9,00 $\pm$ 4,12  | -8,30 $\pm$ 3,71 | -1,23 $\pm$ 7,03 |

Trong một thí nghiệm riêng biệt, 5 nhóm có 6 chuột SCID đực ở 10 tuần tuổi được sử dụng kháng thể đối chứng isotyp âm dưới da ở liều 10 mg/kg, và H4H1657N2 ở liều 0,1, 0,75, 2,5, hoặc 10mg/kg, theo lịch biểu dùng thuốc như sau: 2 lần mỗi tuần vào tuần 1 và 1 lần mỗi tuần trong tổng cộng 28 ngày điều trị. Kết quả được tổng kết trong Bảng 24, biểu hiện là phần trăm tăng lên so với đối chứng âm  $\pm$  độ lệch chuẩn.

Bảng 24

|                    | Đối chứng isotyp | H4H1657N2       |                 |                  |                  |
|--------------------|------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|
| Liều               | 10 mg/kg         | 0,1 mg/kg       | 0,75 mg/kg      | 2,5 mg/kg        | 10 mg/kg         |
| Trọng lượng cơ thể | 0,00 $\pm$ 0,55  | 4,24 $\pm$ 0,42 | 2,84 $\pm$ 1,03 | 6,87 $\pm$ 1,21  | 7,23 $\pm$ 1,66  |
| Cơ TA              | 0,00 $\pm$ 3,89  | 3,10 $\pm$ 2,06 | 4,20 $\pm$ 3,78 | 18,63 $\pm$ 2,52 | 11,54 $\pm$ 2,15 |
| Cơ GA              | 0,00 $\pm$ 1,65  | 2,75 $\pm$      | 0,71 $\pm$      | 15,86 $\pm$      | 18,28 $\pm$      |

|               |                  |                  |                   |                   |                   |
|---------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|               |                  | 0,82             | 3,15              | 2,11              | 2,84              |
| Cơ tứ đầu đùi | $0,00 \pm 3,00$  | $0,84 \pm 1,69$  | $-0,62 \pm 1,75$  | $15,01 \pm 1,37$  | $16,87 \pm 2,85$  |
| Tim           | $0,00 \pm 2,24$  | $6,51 \pm 1,53$  | $1,35 \pm 2,85$   | $3,25 \pm 1,21$   | $3,08 \pm 2,66$   |
| Mô mỡ trắng   | $0,00 \pm 13,65$ | $-7,75 \pm 8,36$ | $-7,81 \pm 10,76$ | $-13,53 \pm 8,00$ | $-28,33 \pm 4,51$ |

Như trình bày trong Ví dụ này, các kháng thể H4H1657N2 và H4H1669P gây tăng có ý nghĩa trọng lượng cơ khi sử dụng cho chuột vượt quá một khoảng liều.

Ví dụ 11. Hiệu quả của kháng thể kháng GDF8 lên hiện tượng nội cân bằng glucoza

Kháng thể kháng GDF8 theo sáng chế được thử nghiệm hiệu quả của chúng lên hiện tượng nội cân bằng glucoza và độ nhạy cảm insulin ở mô hình chuột béo phì do chế độ ăn (DIO-diet-induced-obesity). Trong thí nghiệm này, chuột DIO thu được bằng cách cho chuột C57BL6 một chế độ ăn nhiều chất béo (45% kcal chất béo) trong 7 tuần bắt đầu từ lúc 9 tuần tuổi. Bắt đầu từ tuần thứ 8, các kháng thể được sử dụng ở mức độ 30mg/kg hai lần một tuần trong thêm 2 tuần, và nghiên cứu này được xác định một tuần sau đó (21 ngày sau khi điều trị). Các kháng thể sử dụng trong thí nghiệm này là H4H1669P và H4H1657N2, cũng như kháng thể đối chứng âm isotyp và đối chứng I (kháng thể kháng GDF8 tương ứng với Myo29). Thử nghiệm độ dung nạp insulin được tiến hành trước và sau khi điều trị kháng thể. Insulin (2 IU/kg) được sử dụng bằng cách tiêm trong màng bụng sau khi nhịn đói 4 giờ và đo mức glucoza. Kết quả được minh họa trong Fig. 3A (trước khi điều trị bằng kháng thể) và 3B (sau khi điều trị bằng kháng thể).

Như chứng minh trong thí nghiệm này, sự ức chế myostatin bằng cách sử dụng kháng thể kháng GDF8 cải thiện hiện tượng nội cân bằng glucoza ở chuột DIO. Sự khác biệt có ý nghĩa trong việc giảm mức glucoza đáp ứng với liều cao insulin được ghi lại giữa nhóm kháng thể kháng GDF8 (H4H1669P, H4H1657N2 hoặc đối chứng I), và nhóm kháng thể đối chứng isotyp.

Ví dụ 12. Sự ngăn ngừa chứng teo cơ *in vivo* bằng cách sử dụng H4H1657N2

Chuột C57 được sử dụng để xác định các đặc điểm *in vivo* của H4H1657N2

trong việc ngăn ngừa chứng teo cơ do cố định/bất động và sử dụng dexametason.

Trong ví dụ cố định, ba nhóm gồm 8 chuột C57 gây chết nhẹ nhàng, và khớp mắt cá chân bị bất động ở góc 90° với các nguyên liệu cố định trong 14 ngày. Nhóm thứ 4 được để yên và sử dụng làm nhóm đối chứng không bất động. Trong 14 ngày bất động, chuột được dùng kháng thể đối chứng âm isotyp; Đối chứng I (Myo29); hoặc H4H1657N2. Ba nhóm được tiêm dưới da kháng thể với liều 30 mg/kg, 2 lần mỗi tuần trong hai tuần, bắt đầu từ thời điểm bất động. Kết quả được tổng kết trong Bảng 25, thể hiện là phần trăm thay đổi so với đối chứng âm  $\pm$  độ lệch chuẩn. Các kết quả thể hiện là sau 14 ngày bất động, nhóm nhận sự điều trị bằng kháng thể H4H1657N2 thể hiện sự giảm ý nghĩa trong việc giảm cơ xương so với nhóm đối chứng isotyp.

Bảng 25 (Chứng teo cơ gây ra do bất động)

|       | Không bất động   | Bất động          |                   |                   |
|-------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|       | Đối chứng isotyp | Đối chứng isotyp  | Đối chứng I       | H4H1657N2         |
| Cơ TA | $0,00 \pm 1,74$  | $-32,97 \pm 4,98$ | $-23,36 \pm 5,80$ | $-13,77 \pm 4,23$ |
| Cơ GA | $0,00 \pm 1,85$  | $-24,34 \pm 4,95$ | $-7,64 \pm 0,97$  | $3,91 \pm 6,02$   |

Trong ví dụ dexametason, hai nhóm gồm 5 chuột C57 được gây mê và cắt bằng các bơm bơm thẩm thấu dưới da, việc cấy này sẽ phân phối dexametason với hàm lượng 1 $\mu$ g/g/ngày. Hai nhóm bổ sung được cấy bằng bơm thẩm thấu cung cấp nước muối và được sử dụng làm đối chứng. Bằng việc điều trị 14 ngày, hai nhóm chuột (một nhóm dùng nước muối và một dùng dexametason) được sử dụng kháng thể đối chứng âm isotyp; và hai nhóm chuột (một nhóm dùng nước muối và một nhóm dùng dexametason) được sử dụng kháng thể H4H1657N2. Kháng thể được tiêm dưới da ở nồng độ 30mg/kg, 2x mỗi tuần trong hai tuần. Việc điều trị kỹ thuật bắt đầu vào thời điểm cấy bơm. Các kết quả được tổng kết trong Bảng 26, thể hiện là phần trăm thay đổi so với đối chứng âm  $\pm$  độ lệch chuẩn. So sánh nhóm dexametason nhận kháng thể H4H1657N2 so với nhóm nhận đối chứng isotyp chỉ ra rằng việc điều trị bằng kháng thể H4H1657N2 ngăn chặn sự giảm trọng lượng cơ do dùng dexametason.

Bảng 26 (Chứng teo cơ gây ra bởi dexametason)

|         | Điều trị bằng nước muối |                  | Điều trị bằng dexametason |                  |
|---------|-------------------------|------------------|---------------------------|------------------|
|         | Đối chứng isotyp        | H4H1657N2        | Đối chứng isotyp          | H4H1657N2        |
| Cơ TA   | $0,00 \pm 2,73$         | $14,63 \pm 1,35$ | $-17,78 \pm 2,11$         | $3,25 \pm 2,09$  |
| Cơ GA   | $0,00 \pm 3,02$         | $20,73 \pm 1,38$ | $-18,97 \pm 2,11$         | $-5,08 \pm 2,07$ |
| Cơ Quad | $0,00 \pm 3,91$         | $20,46 \pm 2,40$ | $-23,94 \pm 2,68$         | $-4,26 \pm 2,34$ |

Ví dụ 13. Tính đặc hiệu của H4H1657N2 *in vivo*

Để xác định tính đặc hiệu của H4H1657N2 *in vivo*, chuột C57BL6 được tiêm được chất, và huyết thanh từ chuột được điều trị được đưa vào quang phổ khối lượng dựa trên thí nghiệm "câu" phối tử. Ngắn gọn, được chất (H4H1657N2, đối chứng IV hoặc đối chứng âm isotyp) được tiêm nhiều lần (Ngày 0, D3, D7, D10) trong giai đoạn 14 ngày vào chuột C57BL6. Động vật được gây chết nhẹ nhàng vào D14 và huyết thanh được ủ với các hạt kháng Fc người. Các hạt được rửa và nguyên liệu gắn kết được rửa giải với đệm nạp SDS-PAGE. Nguyên liệu rửa giải được đưa vào SDS-PAGE và các phiên gel tương ứng với khoảng trọng lượng phân tử là 5-20 kDa được tiến hành. Các mẫu được tiến hành đo quang phổ khối lượng bằng các điều kiện khử, alkyl hóa và trypsin hóa chuẩn. Các chất phân cắt được tách trên cột nano C18 và được chấm màu tự động lên trên các đích Bruker Anchor. Phân tích MALDI-MS (MS/MS) (Bruker Ultraflextreme) được tiến hành trong mô hình tự động, sử dụng LC-WARP (Bruker Daltonics). Phổ khối lượng được tìm kiếm bằng MASCOT (Matrix Science) và kết quả được đánh giá so với đối chứng isotyp. Các protein rửa giải được nêu trong Bảng 27.

Bảng 27

| Kháng thể được sử dụng: | H4H1657N2 | Đối chứng IV         |
|-------------------------|-----------|----------------------|
| (Các) protein rửa giải: | GDF8      | GDF8                 |
|                         |           | GDF11                |
|                         |           | Inhibin beta chuỗi A |
|                         |           | Inhibin beta chuỗi B |
|                         |           | Inhibin beta chuỗi C |

Như trình bày trong Bảng 27, chỉ chuột GDF8 được xác định là đối tác gắn kết đối với H4H1657N2 bởi thí nghiệm này. (Trình tự của GDF8 chuột và người là giống nhau.) Ngược lại, đối chứng IV gắn kết nhiều phối tử khác của họ phối tử TGF beta bên cạnh GDF8, bao gồm, *ngoài các kháng thể khác*, GDF11. Thí nghiệm này khẳng định tính đặc hiệu của H4H1657N2 đối với GDF8 trong phạm vi *in vivo*.

Sáng chế không bị hạn chế phạm vi bởi các phương án cụ thể được mô tả trong đây. Thực tế, nhiều biến đổi khác nhau của sáng chế ngoài các phương án được mô tả trong đây sẽ được các chuyên gia trong lĩnh vực này biết rõ từ bản mô tả và hình vẽ đi kèm. Các điều chỉnh này được dự tính là nằm trong phạm vi của sáng chế.



## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể người được phân lập hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó gắn kết đặc hiệu với, hoặc ức chế hoạt tính sinh học của GDF8 người trưởng thành kiểu đại bao gồm SEQ ID NO:340, nhưng không gắn kết với, hoặc ức chế hoạt tính sinh học của cấu trúc GDF8/TGF $\beta$ 1 khảm có các axit amin 48-72 của GDF8 ở người trưởng thành được thay thế bằng trình tự axit amin tương ứng của TGF $\beta$ 1, trong đó cấu trúc GDF8/TGF $\beta$ 1 khảm bao gồm trình tự axit amin trong SEQ ID NO:352, và trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên bao gồm: (a) trình tự axit amin HCDR1/HCDR2/HCDR3 bao gồm SEQ ID NO: 362/364/366 tương ứng; và (b) trình tự axit amin LCDR1/LCDR2/LCDR3 bao gồm SEQ ID NO: 370/372/374 tương ứng.
2. Kháng thể người được phân lập hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên bao gồm: (a) CDR chuỗi nặng (HCDR1, HCDR2 và HCDR3) từ vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin SEQ ID NO:360; và (b) CDR chuỗi nhẹ (LCDR1, LCDR2 và LCDR3) từ vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin SEQ ID NO: 368.
3. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó theo điểm 1 hoặc 2, trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên này bao gồm cặp trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ (HCVR/LCVR) SEQ ID NO: 360/368.
4. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên không gắn kết epitop mạch thẳng nằm trong GDF8 trưởng thành kiểu đại (SEQ ID NO:340).
5. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên không gắn kết các peptit GDF8 được phân lập có trình tự axit amin chứa axit amin 1-14, 1-18, 17-42, 48-65, 48-69, 48-72, 52-65, 52-72, 56-65, 56-72, 65-72, 73-90, 75-105 và 91-105, trong SEQ ID NO:340.
6. Dược phẩm bao gồm kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên theo điểm bất kỳ từ điểm 1 đến 5 và chất mang hoặc chất pha loãng được dụng.

## DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

<120> Kháng thể kháng GDF8 người và dược phẩm chứa kháng thể này

<130> 6073A-WO

<140> Được gán

<141> Được nộp kèm theo đây

<150> 61/348,559

<151> 2010-05-26

<150> 61/372,882

<151> 2010-08-12

<160> 391

<170> FastSEQ cho Windows phiên bản 4.0

<210> 1

<211> 366

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 1

```

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttaac acctatgcc taagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggtctggaatg ggtctcaact attactggta gtgggtataa cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgtat 240
ctacagatga gcagcctgag agccgaggac acggccgtat ttactgtgc gaaagactct 300
cggataaact ggaattacgg aatttttgac tactggggcc aggaaccac ggtcaccgtc 360
tcctca                                     366

```

<210> 2

<211> 122

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 2

```

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

```

<210> 3  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 3  
 ggattcacct ttaacaccta tgcc

24

<210> 4  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 4  
 Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala  
 1 5

<210> 5  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 5  
 attactggta gtggttataa caca

24

<210> 6  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 6  
 Ile Thr Gly Ser Gly Tyr Asn Thr  
 1 5

<210> 7  
 <211> 45  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 7  
 gcgaaagact ctcggtataa ctggaattac ggaatttttg actac

45

<210> 8  
 <211> 15  
 <212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 8

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Lys | Asp | Ser | Arg | Tyr | Asn | Trp | Asn | Tyr | Gly | Ile | Phe | Asp | Tyr |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |

<210> 9

<211> 324

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 9

|            |            |            |            |            |            |     |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----|
| gacatccaga | tgacccagtc | tccagccacc | ctgtctgtgt | ctccagggga | aagagccacc | 60  |
| ctctcctgca | gggccagtca | gagtgttagc | agcaacttag | cctggtacca | tcagaaacct | 120 |
| ggccaggctc | ccaggctcct | catctatggt | gtatccacca | gggccactgg | tatcccagcc | 180 |
| aggttcagtg | gcaatgggtc | tgggacagag | ttcactctca | ccatcagcag | cctgcagtct | 240 |
| gaagattttg | cagtttatta | ctgtcagcag | cataataact | ggccgctcac | tttcggcgga | 300 |
| gggaccaagg | tgagatcaa  | acga       |            |            |            | 324 |

<210> 10

<211> 108

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 10

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

<210> 11

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 11

cagagtgtta gcagcaac

18

<210> 12

<211> 6

<212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 12  
 Gln Ser Val Ser Ser Asn  
 1 5

<210> 13  
 <211> 9  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 13  
 ggtgtatcc

9

<210> 14  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 14  
 Gly Val Ser  
 1

<210> 15  
 <211> 27  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 15  
 cagcagcata ataactggcc gctcact

27

<210> 16  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 16  
 Gln Gln His Asn Asn Trp Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 17  
 <211> 375  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 17

```

caggtgcagc tgggtgcagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc aatagtaatt actactgggg ctggatccgc 120
cagccccag ggaaggggct ggagtggatt gggactacct attatagtgg gaccacctac 180
tacaaccctg ccctcaagag tcgagtcacc atatccgtag acacgtccaa gaaccagttc 240
tccctgaagc tgagctctgt gaccgccgca gacacggctg tgtattactg tgcgagagat 300
tattatgata gtagtggtta ttattacaac tggttcgatc cctggggcca gggaaccacg 360
gtcaccgtct cctca 375

```

&lt;210&gt; 18

&lt;211&gt; 125

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 18

```

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

```

&lt;210&gt; 19

&lt;211&gt; 30

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 19

```

ggtggctcca tcagcaatag taattactac 30

```

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 20

```

Gly Gly Ser Ile Ser Asn Ser Asn Tyr Tyr
 1           5           10

```

&lt;210&gt; 21

<211> 21  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 21  
 acctattata gtgggaccac c

21

<210> 22  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 22  
 Thr Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr  
 1 5

<210> 23  
 <211> 51  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 23  
 gcgagagatt attatgatag tagtggttat tattacaact gggtc gatcc c

51

<210> 24  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 24  
 Ala Arg Asp Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr Asn Trp Phe Asp  
 1 5 10 15  
 Pro

<210> 25  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 25  
 gacatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc gggcaagtca ggacattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaagcgccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcagtctca cactcagcag cctgcagcct 240  
 gaagattttg caacttattt ctgtctacag catcatattt acccgtggac gttcggccaa 300  
 gggaccaagc tggagatcaa acga 324

<210> 26  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 26  
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asp  
 20 25 30  
 Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Leu Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Leu Gln His His Ile Tyr Pro Trp  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 100 105

<210> 27  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 27  
 caggacatta gaaatgat

18

<210> 28  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 28  
 Gln Asp Ile Arg Asn Asp  
 1 5

<210> 29  
 <211> 9  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 29  
 gctgcatcc

9

<210> 30  
 <211> 3  
 <212> PRT



<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 30

Ala Ala Ser

1

<210> 31

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 31

ctacagcatc atatttaccc gtggacg

27

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 32

Leu Gln His His Ile Tyr Pro Trp Thr

1

5

<210> 33

<211> 375

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 33

caagttcagc tgggtggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60  
acctgcactg tctatgggtg ctccatcagc agtggttaatt actactgggg ctggatccgc 120  
cagccccag ggaagggact ggagtggatt gggactatct attatagtgg aagcgctac 180  
tacaaccctg ccctcaagag tcgagtcacc atgtccgtag acacgtccaa gaaccagttc 240  
tccctgaaac tgagctctgt gaccgccgca gacacggctg tttattactg tgtgagagat 300  
tactatgata gtagtggta ttattacaac tggttcgacc cctggggcca gggaaccacg 360  
gtcaccgtct cctca 375

<210> 34

<211> 125

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 34

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Tyr Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly

20

25

30

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

<210> 35  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 35  
 ggtggctcca tcagcagtg taattactac 30

<210> 36  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 36  
 Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly Asn Tyr Tyr  
   1                                  5                                  10

<210> 37  
 <211> 21  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 37  
 atctattata gtggaagcgc c 21

<210> 38  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 38  
 Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ala  
   1                                  5

<210> 39  
 <211> 51

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 39

gtgagagatt actatgatag tagtgggtcat tattacaact gggttcgaccc c 51

&lt;210&gt; 40

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 40

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Arg | Asp | Tyr | Tyr | Asp | Ser | Ser | Gly | His | Tyr | Tyr | Asn | Trp | Phe | Asp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Pro |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 41

&lt;211&gt; 324

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 41

|            |            |            |             |             |             |     |
|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|-----|
| gccatccaga | tgacccagtc | tccatcctcc | ctgtctgcat  | ctgtaggaga  | cagagtcacc  | 60  |
| atcacttgcc | gggcaagtca | ggacattaga | catgatttag  | gctgggtatca | gcagaaacca  | 120 |
| gggaaagccc | ctaagcgct  | gatctatgct | gcattccagtt | tgcaaagtgg  | gggtcccatca | 180 |
| aggttcagcg | gcagtggatc | tgggacagaa | ttcactctca  | caatcagcag  | cctgcagcct  | 240 |
| gaagattttg | caacttatta | ctgtctacag | cataatactt  | acccgtggac  | gttcgggcca  | 300 |
| gggaccaagg | tgagatcaa  | acga       |             |             |             | 324 |

&lt;210&gt; 42

&lt;211&gt; 108

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 42

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

<210> 43  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 43  
 caggacatta gacatgat

18

<210> 44  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 44  
 Gln Asp Ile Arg His Asp  
 1 5

<210> 45  
 <211> 9  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 45  
 gctgcatcc

9

<210> 46  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 46  
 Ala Ala Ser  
 1

<210> 47  
 <211> 27  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 47  
 ctacagcata atacttaccc gtggacg

27

<210> 48  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 48

Leu Gln His Asn Thr Tyr Pro Trp Thr  
 1 5

&lt;210&gt; 49

&lt;211&gt; 357

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 49

caggtgcagc tgggtgcagtc tgggggaggc ctgggtcaagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatagca tgaactgggt cgcgcaggct 120  
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcatcc attagtagta gtagtagtta catatactac 180  
 gcagactcag tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcaactgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatcgt 300  
 ggatacacct ttgggggttga ctactggggc caggggaacca cggtcaccgt ctctca 357

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 119

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 50

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

&lt;210&gt; 51

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 51

ggattcacct tcagtagcta tagc

24

&lt;210&gt; 52

<211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 52  
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser  
 1 5

<210> 53  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 53  
 attagtagta gtagtagtta cata

24

<210> 54  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 54  
 Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile  
 1 5

<210> 55  
 <211> 36  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 55  
 gcgagagatc gtggatacac ctttgggggtt gactac

36

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

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 56  
 Ala Arg Asp Arg Gly Tyr Thr Phe Gly Val Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 57  
 <211> 324  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 57

```
gccatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgtagac ttttggccag 300
gggaccaagg tggagatcaa acga                                     324
```

&lt;210&gt; 58

&lt;211&gt; 108

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 58

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

&lt;210&gt; 59

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 59

cagggcatta gaaatgat

18

&lt;210&gt; 60

&lt;211&gt; 6

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 60

```
Gln Gly Ile Arg Asn Asp
 1           5
```

&lt;210&gt; 61

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 61  
gctgcatcc

9

<210> 62

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 62  
Ala Ala Ser  
1

<210> 63

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 63  
ctacagcata atagttaccc gtacact

27

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 64  
Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr  
1 5

<210> 65

<211> 375

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 65  
caggtgcagc tgggtgcagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60  
acctgcactg tctctgggtgg ctccatcacc acttatagtt actactgggg ctggatccgc 120  
cagccccag ggaaggggct ggagtggatt gggactatcc atcatagtgg gagcacctac 180  
tacaaccgct ccctcaagag tcgagtcacc atatccgtag acacgtccaa gaaccagttc 240  
tccctgacac tgagttctgt gaccgcgcga gacacggctg tgtattactg tgcgagagac 300  
tactatgata gtagtgggta ttattataac tgggttcgacc cctggggcca gggaaccatg 360  
gtcaccgtct cctca 375

<210> 66

<211> 125



&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 66

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

&lt;210&gt; 67

&lt;211&gt; 30

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 67

ggtggctcca tcatacactta tagttactac

30

&lt;210&gt; 68

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 68

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Gly | Ser | Ile | Ile | Thr | Tyr | Ser | Tyr | Tyr |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |

&lt;210&gt; 69

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 69

atccatcata gtgggagcac c

21

&lt;210&gt; 70

&lt;211&gt; 7

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 70

|     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ile | His | His | Ser | Gly | Ser | Thr |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |

&lt;210&gt; 71

&lt;211&gt; 51

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 71

|            |            |             |            |            |   |    |
|------------|------------|-------------|------------|------------|---|----|
| gcgagagact | actatgatag | tagtgggttat | tattataact | ggttcgaccc | c | 51 |
|------------|------------|-------------|------------|------------|---|----|

&lt;210&gt; 72

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 72

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Arg | Asp | Tyr | Tyr | Asp | Ser | Ser | Gly | Tyr | Tyr | Tyr | Asn | Trp | Phe | Asp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     |     | 15  |     |
| Pro |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 73

&lt;211&gt; 324

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 73

|            |            |            |            |            |            |     |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----|
| gccatccaga | tgacccagtc | tccatcctcc | ctgtctgcat | ctgtaggaga | cagagtcacc | 60  |
| atcacttgcc | gggcaagtca | gggcattaga | aatgatttag | gctggtatca | gcagaaacca | 120 |
| gggaaagccc | ctaagcgctt | gatctatgct | gcatccagtt | tgcaaagtgg | ggtcccatca | 180 |
| aggttcagcg | gcagtggatc | tgggacagaa | ttcactctca | caatcagcag | cctgcagcct | 240 |
| gaagattttg | caacttatta | ctgtctacag | cataatagtt | ccccgtggac | gttcggccaa | 300 |
| gggaccaagg | tgagatcaa  | acga       |            |            |            | 324 |

&lt;210&gt; 74

&lt;211&gt; 108

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 74

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 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 | Arg | Ala | Ser | Gln | Gly | Ile | Arg | Asn | Asp |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |

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

```
<210> 75
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>  
<223> Tổng hợp

18

```
<210> 76
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>  
<223> Tổng hợp

```
<400> 76
Gln Gly Ile Arg Asn Asp
  1             5
```

```
<210> 77
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>  
<223> Tổng hợp

9

```
<210> 78
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>  
<223> Tổng hợp

```
<400> 78
Ala Ala Ser
1
```

```
<210> 79
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
```

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 79

ctacagcata atagttcccc gtggacg

27

&lt;210&gt; 80

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 80

Leu Gln His Asn Ser Ser Pro Trp Thr

1

5

&lt;210&gt; 81

&lt;211&gt; 369

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 81

```

caggtgcact tgaaggagtc tggctctacg ctggtgaaac ccacacagac cctcacgctg 60
acctgcacct tctctgggtt ctactcagc actagtggag tgggtgtggg ctggatccgt 120
cagccccag gaaaggccct ggagtggctt gcactcattt attggaatga tgataagcgc 180
tacagcccat ctctgaagag caggctcacc atcaccaagg acacctcaa aaaccaggtg 240
gtccttaca tgaccaacat ggacctgtg gacacagcca catattactg tacacacacc 300
tcccgttata actggcacta cggcttcctt gactactggg gccagggaac cacggtcacc 360
gtctcctca                                     369

```

&lt;210&gt; 82

&lt;211&gt; 123

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 82

```

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

```

<210> 83  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 83  
 gggttctcac tcagcactag tggagtgggt

30

<210> 84  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 84  
 Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly  
 1 5 10

<210> 85  
 <211> 21  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 85  
 atttattgga atgatgataa g

21

<210> 86  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 86  
 Ile Tyr Trp Asn Asp Asp Lys  
 1 5

<210> 87  
 <211> 45  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 87  
 acacacacct cccgttataa ctggcactac ggcttccttg actac

45

<210> 88  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 88

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | His | Thr | Ser | Arg | Tyr | Asn | Trp | His | Tyr | Gly | Phe | Leu | Asp | Tyr |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     | 15  |     |

&lt;210&gt; 89

&lt;211&gt; 324

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 89

```

gccatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgctc gggcgagtc gggcattagc aattatttag cctgggtttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgccaacaa tataatagtt acccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggaaatcaa acga                                     324

```

&lt;210&gt; 90

&lt;211&gt; 108

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 90

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

&lt;210&gt; 91

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 91

cagggcatta gcaattat

18

&lt;210&gt; 92

&lt;211&gt; 6

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 92

Gln Gly Ile Ser Asn Tyr  
1 5

&lt;210&gt; 93

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 93

gctgcatcc

9

&lt;210&gt; 94

&lt;211&gt; 3

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 94

Ala Ala Ser  
1

&lt;210&gt; 95

&lt;211&gt; 27

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 95

caacaatata atagttaccc gctcact

27

&lt;210&gt; 96

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 96

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr  
1 5

&lt;210&gt; 97

&lt;211&gt; 375

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 97

```

gaggtgcagc tgggtgcagtt gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctgggtg ctccatcagc aatagtaatt actactgggg ctggatccgc 120
cagccccag ggaaggggct ggagtggatt gggactacct attatagtgg gaccacctac 180
tacaacccgt ccctcaagag tcgagtcacc atatccgtag acacgtccaa gaaccagttc 240
tccctgaagc tgagctctgt gaccgccgca gacacggctg tgtattactg tgcgagagat 300
tattatgata gtagtgggta ttattacaac tggttcgatc cctggggcca gggaaccacg 360
gtcaccgtct cctca 375

```

&lt;210&gt; 98

&lt;211&gt; 125

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 98

```

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

```

&lt;210&gt; 99

&lt;211&gt; 30

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 99

```

ggtggctcca tcagcaatag taattactac 30

```

&lt;210&gt; 100

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 100

```

Gly Gly Ser Ile Ser Asn Ser Asn Tyr Tyr
 1          5          10

```

&lt;210&gt; 101

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; ADN



<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 101

acctattata gtgggaccac c

21

<210> 102

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 102

Thr Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr

1

5

<210> 103

<211> 51

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 103

gcgagagatt attatgatag tagtggttat tattacaact gggtcgatcc c

51

<210> 104

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 104

Ala Arg Asp Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr Asn Trp Phe Asp

1

5

10

15

Pro

<210> 105

<211> 324

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 105

gccatccaga tgaccocagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
atcacttgcc gggcaagtca ggacattaga aatgatttag gctggatatca gcagaaacca 120  
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcagtctca cactcagcag cctgcagcct 240  
gaagattttg caacttattt ctgtctacag catcatattt acccgtggac gttcggccaa 300  
gggaccaagg tggagatcaa acga 324

<210> 106

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

<220>  
 <223> Tổng hợp

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

<210> 107  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 107  
 caggacatta gaaatgat

18

<210> 108  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 108  
 Gln Asp Ile Arg Asn Asp  
 1 5

<210> 109  
 <211> 9  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 109  
 gctgcatcc

9

<210> 110  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 110

Ala Ala Ser

1

&lt;210&gt; 111

&lt;211&gt; 27

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 111

ctacagcatc atatttaccc gtggacg

27

&lt;210&gt; 112

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 112

Leu Gln His His Ile Tyr Pro Trp Thr

1

5

&lt;210&gt; 113

&lt;211&gt; 355

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 113

|            |            |            |             |            |            |     |
|------------|------------|------------|-------------|------------|------------|-----|
| caggtgcagc | tggtggagtc | tggtggagtc | gtggtccagc  | ctgggaggtc | cctgagactc | 60  |
| tcctgtgcag | cctctggatt | caccttcagt | cgctatggca  | ttcactgggt | cgcgcaggct | 120 |
| ccaggcaagg | ggctggagtg | ggtggctgtt | atatcttatg  | atggaagtga | tgaatactat | 180 |
| gtagactccg | tgaagggccg | attcagcatc | tcccagagaca | attccaagaa | cacgctttat | 240 |
| ctacaaatga | acagtctgag | gcctgcggac | tcggctgttt  | attactgtgt | gaaaggagat | 300 |
| ctggaacttg | gttttgacta | ctggggccag | ggaaccctgg  | tcaccgtctc | ctcaa      | 355 |

&lt;210&gt; 114

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 114

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

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

<210> 115  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 115  
 ggattcacct tcagtcgcta tggc

24

<210> 116  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 116  
 Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Gly  
 1 5

<210> 117  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 117  
 atatcttatg atggaagtga tgaa

24

<210> 118  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 118  
 Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asp Glu  
 1 5

<210> 119  
 <211> 33  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 119

gtgaaaggag atctggaact tggttttgac tac

33

&lt;210&gt; 120

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 120

Val Lys Gly Asp Leu Glu Leu Gly Phe Asp Tyr

1

5

10

&lt;210&gt; 121

&lt;211&gt; 337

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 121

gatatgtga tgactcaggc tgcaccctct atacctgtca ttccaggaga gtcagtatcc 60  
 atgtcctgca ggtctagtaa gagtctcctg tacagtaatg gacataactta cgtgtattgg 120  
 tttgtgcaga ggccaggcca gtctcctcag ctccctgatat atcggatgtc caaccttgcc 180  
 tcaggagtcc cagacagggt cagtggcagt gggtcaggaa ctgctttcac actgagaatc 240  
 agtagagtgg aggctgagga tgtgggtgtt tattactgta tgcaaaatct agaatttccg 300  
 ctcacgttcg gtgctgggac caagctggag ctgaaac 337

&lt;210&gt; 122

&lt;211&gt; 112

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 122

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

&lt;210&gt; 123

&lt;211&gt; 33

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 123

aagagtctcc tgtacagtaa tggacatact tac

33

&lt;210&gt; 124

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 124

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Lys | Ser | Leu | Leu | Tyr | Ser | Asn | Gly | His | Thr | Tyr |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |

&lt;210&gt; 125

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 125

cggatgtcc

9

&lt;210&gt; 126

&lt;211&gt; 3

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 126

|     |     |     |
|-----|-----|-----|
| Arg | Met | Ser |
| 1   |     |     |

&lt;210&gt; 127

&lt;211&gt; 27

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 127

atgcaaaatc tagaatttcc gctcacg

27

&lt;210&gt; 128

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 128

Met Gln Asn Leu Glu Phe Pro Leu Thr  
1 5

<210> 129  
<211> 355  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 129  
caggtgcagc tgggtggaggc ggggggaggc gtgggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt cgctatggca ttcactgggt ccgccagggt 120  
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggctgtt atatcttatg atggaactga tgaatactat 180  
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tcccagagaca attccaagaa cacgctttat 240  
ctacaaatga acagtctgag acctgcggac tcggctgtat attactgtgc gaaaggagat 300  
ctggaacttg gttttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctcaa 355

<210> 130  
<211> 118  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

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

<210> 131  
<211> 24  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 131  
ggattcacct tcagtcgcta tggc

24

<210> 132  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 132

Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Gly  
1 5

<210> 133

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 133

atatcttatg atggaactga tgaa

24

<210> 134

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 134

Ile Ser Tyr Asp Gly Thr Asp Glu  
1 5

<210> 135

<211> 33

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 135

gcgaaaggag atctggaact tggttttgac tac

33

<210> 136

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 136

Ala Lys Gly Asp Leu Glu Leu Gly Phe Asp Tyr  
1 5 10

<210> 137

<211> 322

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 137



```

gccatccggt tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60
atcacttggtc gggcgagtca ggatattagt atttggttag cctgggtatca gcagagtcca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatcaatggt gcatcccggt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcaacgg tctgcagcct 240
gaagattttg taacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgatcac cttcgggcaa 300
gggacacgac tggcgaccaa ac 322

```

<210> 138  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 138  
 Ala Ile Arg Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ile Trp  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Ser Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Asn Val Ala Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Gly Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Val Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Ala Thr Lys  
 100 105

<210> 139  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 139  
 caggatatta gtatttgg 18

<210> 140  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 140  
 Gln Asp Ile Ser Ile Trp  
 1 5

<210> 141  
 <211> 9  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 141  
gttgcatcc

9

<210> 142  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 142  
Val Ala Ser  
1

<210> 143  
<211> 27  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 143  
caacaggcta acagtttccc gatcacc

27

<210> 144  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 144  
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile Thr  
1 5

<210> 145  
<211> 358  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 145  
caggtgcagc tgggtgcagtc tgggggaggc ctggtcaagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt catcttcaat acctatacca tgaattgggt ccgccaggct 120  
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcatcc atcactagtc gtgggtactta tatattctac 180  
tcagactcac ttaagggccg attcaccatt tccagagaca acgccaataa ctcaactgttt 240  
ctgcaaataga acagcctgag agtcgaagac acggctgttt attactgttc gagagatcgt 300  
ggatacacct ttggtcctga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcttcag 358

<210> 146  
<211> 119  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

&lt;400&gt; 146

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

&lt;210&gt; 147

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 147

ggattcatct tcaataccta tacc

24

&lt;210&gt; 148

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 148

Gly Phe Ile Phe Asn Thr Tyr Thr  
 1 5

&lt;210&gt; 149

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 149

atcactagtc gtggtactta tata

24

&lt;210&gt; 150

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 150

Ile Thr Ser Arg Gly Thr Tyr Ile

1

5

&lt;210&gt; 151

&lt;211&gt; 36

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 151

tcgagagatc gtggatacac ctttggctcct gactac

36

&lt;210&gt; 152

&lt;211&gt; 12

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 152

Ser Arg Asp Arg Gly Tyr Thr Phe Gly Pro Asp Tyr

1

5

10

&lt;210&gt; 153

&lt;211&gt; 322

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 153

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc gggcaagtca ggacattaga aatgatttag gotggatatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaagggcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240  
 gaagattttg caacttatca ctgtctacat tatgattttc atcctcggac gttcggccaa 300  
 gggaccaag tggaatcaa gc 322

&lt;210&gt; 154

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 154

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asp

20

25

30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Gly Leu Ile

35

40

45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50

55

60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65

70

75

80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr His Cys Leu His Tyr Asp Phe His Pro Arg

85

90

95

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

<210> 155  
<211> 18  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 155  
caggacatta gaaatgat 18

<210> 156  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 156  
Gln Asp Ile Arg Asn Asp  
1 5

<210> 157  
<211> 9  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 157  
gctgcatcc 9

<210> 158  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 158  
Ala Ala Ser  
1

<210> 159  
<211> 27  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 159  
ctacattatg attttcatcc tcggacg 27

<210> 160

<211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 160  
 Leu His Tyr Asp Phe His Pro Arg Thr  
 1 5

<210> 161  
 <211> 391  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 161  
 caggtgcaac tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatgccca tgcactgggt cggccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaactaa ttattactat 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatccc 300  
 ctatattacg atattttgac tggttattcc cccgactact actacggtat ggacgtctgg 360  
 ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca g 391

<210> 162  
 <211> 130  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 162  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Thr Asn Tyr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Asp Pro Leu Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Ser Pro Asp  
 100 105 110  
 Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val  
 115 120 125  
 Ser Ser  
 130

<210> 163  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 163

ggattcacct tcagtagcta tgcc

24

<210> 164

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 164

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1

5

<210> 165

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 165

atatggtatg atggaactaa ttat

24

<210> 166

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 166

Ile Trp Tyr Asp Gly Thr Asn Tyr

1

5

<210> 167

<211> 69

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 167

gcgagagatc ccctatatta cgatatatttg actgggttatt ccccgacta ctactacggt

60

atggacgtc

<210> 168

<211> 23

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 168

Ala Arg Asp Pro Leu Tyr Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Ser Pro Asp

1 5 10 15  
 Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val  
 20

<210> 169  
 <211> 322  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 169  
 gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgca gggccagtca gacttttagc agcaacttag cctggtacca gcagaaacct 120  
 ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tatcccagcc 180  
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcaactctca ccatcagcag cctgcagtct 240  
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataagt ggccgctcac tttcggcgga 300  
 gggaccaagg tggagatcaa ac 322

<210> 170  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 170  
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Phe Ser Ser Asn  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Lys Trp Pro Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 171  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 171  
 cagactttta gcagcaac 18

<210> 172  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp



<400> 172  
Gln Thr Phe Ser Ser Asn  
1 5

<210> 173  
<211> 9  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 173  
ggtgcatcc

9

<210> 174  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 174  
Gly Ala Ser  
1

<210> 175  
<211> 27  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 175  
cagcagtata ataagtggcc gctcact

27

<210> 176  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 176  
Gln Gln Tyr Asn Lys Trp Pro Leu Thr  
1 5

<210> 177  
<211> 367  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 177  
gaggtgcagc tggttgagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggagtc cctgagactc 60

```

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcc a tgaactgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctgggagtg ggtctcaact atcagtggtta gtgggtgggta tatatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataga acagcctgag agccgaagac acggccgtat atttctgtgc gaaagattcc 300
aggtataact ggaactacgg caattttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360
tcctcag 367

```

<210> 178  
 <211> 122  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 178  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Glu  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Asp Ser Arg Tyr Asn Trp Asn Tyr Gly Asn Phe Asp Tyr Trp  
 100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 179  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 179  
 ggattcacct ttagcagcta tgcc 24

<210> 180  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 180  
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala  
 1 5

<210> 181  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 181

atcagtggta gtggtgggta tata

24

<210> 182

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 182

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Ile

1

5

<210> 183

<211> 45

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 183

gcgaaagatt ccaggtataa ctggaactac ggcaattttg actac

45

<210> 184

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 184

Ala Lys Asp Ser Arg Tyr Asn Trp Asn Tyr Gly Asn Phe Asp Tyr

1

5

10

15

<210> 185

<211> 322

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 185

gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgca gggccagtcga gaatgttagc agcaacttag cctggaacaa gcagaaacct 120  
 ggccaggctc ccagactcct catctatgct acatccacca gggccactgg tgtcccagcc 180  
 aggttcagtg ccagtgggtc tgggacagac ttctgtctca ccatcaacag cctgcagtct 240  
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggctctcac tttcggcgga 300  
 gggaccaagg tggagatcaa ac 322

<210> 186

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 186

```

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

```

<210> 187

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 187

cagaatgtta gcagcaac

18

<210> 188

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 188

```

Gln Asn Val Ser Ser Asn
 1           5

```

<210> 189

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 189

gctacatcc

9

<210> 190

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 190

Ala Thr Ser

1

<210> 191  
 <211> 27  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 191  
 cagcagtata ataactggcc tctcact

27

<210> 192  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 192  
 Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 193  
 <211> 367  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 193  
 gaggtgcaac tgttggaatc tgggggagggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgtag cctctcgatt caccttcagc agcaatgccca tgagttgggt ccgccaggct 120  
 ccagggacgg ggctggagtg ggtctcagct attactggta gtggtagtag gacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgggtgat 240  
 ctgcaaataga acagcctgag aggcgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcaa 300  
 ggggttacct ggaactacgg agattttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360  
 tcctcag 367

<210> 194  
 <211> 122  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 194  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Arg Phe Thr Phe Ser Ser Asn  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Thr Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Thr Gly Ser Gly Ser Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |  |  |
| Ala | Lys | Asp | Gln | Gly | Gly | Thr | Trp | Asn | Tyr | Gly | Asp | Phe | Asp | Tyr | Trp |  |  |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |  |  |
| Gly | Gln | Gly | Thr | Leu | Val | Thr | Val | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |  |  |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |

<210> 195  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 195  
 cgattcacct tcagcagcaa tgcc

24

<210> 196  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 196  
 Arg Phe Thr Phe Ser Ser Asn Ala  
 1 5

<210> 197  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 197  
 attactggta gtggtagtag gaca

24

<210> 198  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 198  
 Ile Thr Gly Ser Gly Ser Arg Thr  
 1 5

<210> 199  
 <211> 45  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 199

gcgaaagatc aagggggtac ctggaactac ggagattttg actac

45

<210> 200

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 200

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Lys | Asp | Gln | Gly | Gly | Thr | Trp | Asn | Tyr | Gly | Asp | Phe | Asp | Tyr |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |

<210> 201

<211> 322

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 201

|            |            |            |            |            |            |     |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----|
| gaaatagtga | tgacgcagtc | tccagccacc | ctgtctgtgt | ctccagggga | aagagccacc | 60  |
| ctctcctgca | gggccagtc  | gagtggttag | agcaacttag | cctggtacca | gcagaaacct | 120 |
| ggccaggctc | ccaggctcct | catctatggt | gcatccacca | gggccactgg | tctcccagcc | 180 |
| aggttcagtg | gcagtggtgc | tgggacagac | ttcactctca | ccatcagcag | cctgcagtc  | 240 |
| gaagattttg | cagtttatta | ctgtcagcag | tataataact | ggcctctcac | tttcggcgga | 300 |
| gggaccaagg | tgagatcaa  | gc         |            |            |            | 322 |

<210> 202

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 202

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

<210> 203

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 203  
cagagtgtta gcagcaac

18

<210> 204  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 204  
Gln Ser Val Ser Ser Asn  
1 5

<210> 205  
<211> 9  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 205  
ggtgcatcc

9

<210> 206  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 206  
Gly Ala Ser  
1

<210> 207  
<211> 27  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 207  
cagcagtata ataactggcc tctcact

27

<210> 208  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 208  
Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Thr  
1 5



<210> 209  
 <211> 373  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 209  
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtacag cctctggatt caccttcagt agttatggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaggg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatttg atggaaaaaa taaatactat 180  
 gcagactccg tgaagggccg attcaccgtc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240  
 ctgcaaataa acagcctgag agctgaggac acggctctat attactgtgc gaaaaggata 300  
 gcagcaactg gttactacta cttctacggt ttggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360  
 accgtctcct cag 373

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

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 210  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Val Ile Ser Phe Asp Gly Lys Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Arg Ile Ala Ala Thr Gly Tyr Tyr Tyr Phe Tyr Gly Leu Asp  
 100 105 110  
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 211  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 211  
 ggattcacct tcagtagtta tggc 24

<210> 212  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 212

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly  
1 5

<210> 213  
<211> 24  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 213  
atatcatttg atggaaaaaa taaa 24

<210> 214  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 214  
Ile Ser Phe Asp Gly Lys Asn Lys  
1 5

<210> 215  
<211> 51  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 215  
gcgaaaagga tagcagcaac tggttactac tacttctacg gtttggacgt c 51

<210> 216  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 216  
Ala Lys Arg Ile Ala Ala Thr Gly Tyr Tyr Tyr Phe Tyr Gly Leu Asp  
1 5 10 15  
Val

<210> 217  
<211> 322  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 217  
gaaataatga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagaggcacc 60

```

ctctcctgca gggccagtca gagggttagt agcaacttag cctgggtacca gcagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccagtgg tatcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccgtcagcag cctgcagtct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa ac 322

```

<210> 218  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 218  
 Glu Ile Met Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Gly Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Val Ser Ser Leu Gln Ser  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 219  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 219  
 cagagtgtta gtagcaac 18

<210> 220  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 220  
 Gln Ser Val Ser Ser Asn  
 1 5

<210> 221  
 <211> 9  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 221

ggtgcatcc

9

&lt;210&gt; 222

&lt;211&gt; 3

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 222

Gly Ala Ser

1

&lt;210&gt; 223

&lt;211&gt; 27

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 223

cagcagtata ataactggcc gctcact

27

&lt;210&gt; 224

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 224

Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Thr

1

5

&lt;210&gt; 225

&lt;211&gt; 367

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 225

gaggttcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc cggggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt cacctctatc acctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgtta gtggtactaa tacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca agtccaagaa catgctgtat 240  
 ctgcaaataga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaagatctc 300  
 ctacataact ggaaatacgg gacttttgat atctggggcc aagggaacaat ggtcaccgct 360  
 tcttcag 367

&lt;210&gt; 226

&lt;211&gt; 122

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 226

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

&lt;210&gt; 227

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 227

ggattcacct ctatcaccta tgcc

24

&lt;210&gt; 228

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 228

Gly Phe Thr Ser Ile Thr Tyr Ala  
 1 5

&lt;210&gt; 229

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 229

attagtgtta gtggtactaa taca

24

&lt;210&gt; 230

&lt;211&gt; 8

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 230

Ile Ser Val Ser Gly Thr Asn Thr

1

5

&lt;210&gt; 231

&lt;211&gt; 45

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 231

gcgaaagatc tcctacataa ctggaaatac gggacttttg atatac

45

&lt;210&gt; 232

&lt;211&gt; 15

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 232

Ala Lys Asp Leu Leu His Asn Trp Lys Tyr Gly Thr Phe Asp Ile

1

5

10

15

&lt;210&gt; 233

&lt;211&gt; 322

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 233

gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgca gggccagtca gagggttgac agcaacttag tctggtacca acaaaaacct 120  
 ggccagggttc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tatcccagcc 180  
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccacgagcag cctgcagtct 240  
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataagt ggccgctcac tttcggcgga 300  
 gggaccaagg tggagatcaa ac 322

&lt;210&gt; 234

&lt;211&gt; 107

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 234

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

1

5

10

15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Ser Asn

20

25

30

Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Val Pro Arg Leu Leu Ile

35

40

45

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50

55

60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser

65

70

75

80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Lys Trp Pro Leu

85

90

95

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

<210> 235  
<211> 18  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 235  
cagagtgttg acagcaac 18

<210> 236  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 236  
Gln Ser Val Asp Ser Asn  
1 5

<210> 237  
<211> 9  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 237  
ggtgcatcc 9

<210> 238  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 238  
Gly Ala Ser  
1

<210> 239  
<211> 27  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 239  
cagcagtata ataagtggcc gctcact 27

<210> 240

<211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 240  
 Gln Gln Tyr Asn Lys Trp Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 241  
 <211> 367  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 241  
 gaggttcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc cggggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt cacctctatc acctatgccg tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgtta gtggtactaa tacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca agtccaagaa catgctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaagatctc 300  
 ctacataact ggaaatacgg gacttttgat atctggggcc aagggacaat ggtcaccgtc 360  
 tcttcag 367

<210> 242  
 <211> 122  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 242  
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ser Ile Thr Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Val Ser Gly Thr Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ser Lys Asn Met Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Asp Leu Leu His Asn Trp Lys Tyr Gly Thr Phe Asp Ile Trp  
 100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 243  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp



<400> 243  
 ggattcacct ctatcaccta tgcc 24

<210> 244  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 244  
 Gly Phe Thr Ser Ile Thr Tyr Ala  
 1 5

<210> 245  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 245  
 attagtgtta gtggtactaa taca 24

<210> 246  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 246  
 Ile Ser Val Ser Gly Thr Asn Thr  
 1 5

<210> 247  
 <211> 45  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 247  
 gcgaaagatc tcctacataa ctggaaatac gggacttttg atatc 45

<210> 248  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 248  
 Ala Lys Asp Leu Leu His Asn Trp Lys Tyr Gly Thr Phe Asp Ile  
 1 5 10 15

<210> 249  
 <211> 325  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 249  
 gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgca gggccagtca gagggttagc agcaacttag cctggaacca gcagaaacct 120  
 ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccacggg tatcccagcc 180  
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcaactctca ccatcagcag cctgcagtct 240  
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataacaact ggcccatgta cacttttggc 300  
 caggggacca agctggagat caaac 325

<210> 250  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 250  
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Met  
 85 90 95  
 Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 251  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 251  
 cagagtgtta gcagcaac 18

<210> 252  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 252  
 Gln Ser Val Ser Ser Asn  
 1 5

<210> 253  
 <211> 9  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 253  
 ggtgcatcc

9

<210> 254  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 254  
 Gly Ala Ser  
 1

<210> 255  
 <211> 30  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 255  
 cagcagtata acaactggcc catgtacact

30

<210> 256  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 256  
 Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Met Tyr Thr  
 1 5 10

<210> 257  
 <211> 361  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 257  
 caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgaag cctctggatt caccttcagt agttctggca tgcactgggt ccgccaggct 120  
 ccaggcaagg ggctgcagtg ggtggctggt atatcatatg atggaaataa taaattttat 180  
 gaagactccg tgaagggccg attgaccatt tccagagaca attccaacaa cactctgtgg 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agttgaagac acggctgttt attactgtgc gaaatcagga 300  
 ggtagagtgg gagccgcctt tgccactactgg ggccagggaa ccctgggtcac cgtctcctca 360

g

361

<210> 258  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 258  
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Ser  
 20 25 30  
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Gln Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Lys Phe Tyr Glu Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Asn Asn Thr Leu Trp  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Ser Gly Gly Arg Val Gly Ala Ala Phe Ala Tyr Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 259  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 259  
 ggattcacct tcagtagttc tggc

24

<210> 260  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 260  
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Ser Gly  
 1 5

<210> 261  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 261  
 atatcatatg atggaaataa taaa

24

<210> 262  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 262  
 Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Lys  
 1 5

<210> 263  
 <211> 39  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 263  
 gcgaaatcag gaggtagagt gggagccgcc ttgacctac 39

<210> 264  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 264  
 Ala Lys Ser Gly Gly Arg Val Gly Ala Ala Phe Ala Tyr  
 1 5 10

<210> 265  
 <211> 337  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 265  
 gatattgtga acactcagtc tccactctct ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60  
 atctcctgca ggtctagtca ggcctcctg tatggtaatg gatacaacta ttggattgg 120  
 tacctgcaga agccagggca ctctccacag ctctgatct atttgggttc taatcggggc 180  
 tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaagatc 240  
 agcagagtgg aggctgaaga tgttggcatt tattactgca tgcaaactct acaaactcca 300  
 ttcactttcg gccctgggac caaatgtat atcaaac 337

<210> 266  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 266  
 Asp Ile Val Asn Thr Gln Ser 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 | Leu | Leu | Tyr | Gly |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Asn | Gly | Tyr | Asn | Tyr | Leu | Asp | Trp | Tyr | Leu | Gln | Lys | Pro | Gly | His | Ser |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Pro | Gln | Leu | Leu | Ile | Tyr | Leu | Gly | Ser | Asn | Arg | Gly | 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 | Ile | Tyr | Tyr | Cys | Met | Gln | Thr |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Leu | Gln | Thr | Pro | Phe | Thr | Phe | Gly | Pro | Gly | Thr | Lys | Met | Tyr | Ile | Lys |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |

<210> 267

<211> 33

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 267

cagagcctcc tgtatggtaa tggatacaac tat

33

<210> 268

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 268

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Ser | Leu | Leu | Tyr | Gly | Asn | Gly | Tyr | Asn | Tyr |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |

<210> 269

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 269

ttgggttct

9

<210> 270

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 270

|     |     |     |
|-----|-----|-----|
| Leu | Gly | Ser |
| 1   |     |     |

<210> 271

<211> 27

<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 271  
atgcaaaactc tacaaactcc attcact

27

<210> 272  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 272  
Met Gln Thr Leu Gln Thr Pro Phe Thr  
1 5

<210> 273  
<211> 376  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 273  
gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
tcctgtgcag gctctggaat caccttttagc agctatgcc tgcagctgggt ccgccaggct 120  
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta atgggtggta cacaaactac 180  
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca actccaagaa cacgctgtat 240  
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggcgcgtat attactgtgc gaaagaaaga 300  
atccttacca gcagctggac gaggtacggt attatggacg tctggggcca agggaccacg 360  
gtcaccgtct cctcag 376

<210> 274  
<211> 125  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 274  
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Ile Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30  
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ser Ala Ile Ser Gly Asn Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Lys Glu Arg Ile Leu Thr Ser Ser Trp Thr Arg Tyr Gly Ile Met  
100 105 110  
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120 125

<210> 275  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 275  
 ggaatcacct ttagcagcta tgcc 24

<210> 276  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 276  
 Gly Ile Thr Phe Ser Ser Tyr Ala  
 1 5

<210> 277  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 277  
 attagtggta atggtggtac caca 24

<210> 278  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 278  
 Ile Ser Gly Asn Gly Gly Thr Thr  
 1 5

<210> 279  
 <211> 54  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 279  
 gcgaaagaaa gaatccttac cagcagctgg acgaggtacg gtattatgga cgtc 54

<210> 280  
 <211> 18  
 <212> PRT



<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 280

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

<210> 281

<211> 322

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 281

gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctatgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgca gggccagtca gagggttagc agcaacttag cctggtacca gcagaaacct 120  
 ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tatcccagcc 180  
 aggttcagtg gcagtggtgc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240  
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggcctctcac tttcggcgga 300  
 gggaccaagt tagagatcaa ac 322

<210> 282

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 282

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

<210> 283

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 283

cagagtgtta gcagcaac

18

<210> 284  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 284  
 Gln Ser Val Ser Ser Asn  
 1 5

<210> 285  
 <211> 9  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 285  
 ggtgcatcc

9

<210> 286  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 286  
 Gly Ala Ser  
 1

<210> 287  
 <211> 27  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 287  
 cagcagtata ataactggcc tctcact

27

<210> 288  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 288  
 Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 289  
 <211> 358  
 <212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 289

```
caggtgcaac tacagcagtg gggcgagga ctgttgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctatgggtg gtccttcagt gggtactact ggagctggat ccgccagccc 120
ccaggaagg ggctggagtg gattggggaa atcaatcata gtggaaacac caactacaac 180
ccgtccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
aaactgaact ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtgtatt actgtgcgag aagagaggct 300
acagtaactc catactttga ctactggggc caggaaccc tggtcaccgt ctcctcag 358
```

<210> 290

<211> 119

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 290

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

<210> 291

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 291

ggtgggtcct tcagtgggta ctac

24

<210> 292

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 292

```
Gly Gly Ser Gly Ser Gly Tyr Tyr
 1          5
```

<210> 293  
 <211> 21  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 293  
 atcaatcata gtggaaacac c 21

<210> 294  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 294  
 Ile Asn His Ser Gly Asn Thr  
 1 5

<210> 295  
 <211> 39  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 295  
 gcgagaagag aggctacagt aactccatac tttgactac 39

<210> 296  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 296  
 Ala Arg Arg Glu Ala Thr Val Thr Pro Tyr Phe Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 297  
 <211> 322  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 297  
 gacatccagt tgaccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgct gggccagtc gggcattagc agttatcttag cctgggtatca gcaaaaacca 120  
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcaactctca caatcagcag cctgcagcct 240  
 gaagattttg caacttatta ctgtcaacag cttaatatgtt atccgctcac tttcggcgga 300  
 gggaccaagg tggagatcaa ac 322

<210> 298  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 298  
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 299  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 299  
 cagggcatta gcagttat

18

<210> 300  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 300  
 Gln Gly Ile Ser Ser Tyr  
 1 5

<210> 301  
 <211> 9  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 301  
 gctgcatcc

9

<210> 302  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 302

Ala Ala Ser

1

&lt;210&gt; 303

&lt;211&gt; 27

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 303

caacagctta atagttatcc gctcact

27

&lt;210&gt; 304

&lt;211&gt; 9

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 304

Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1

5

&lt;210&gt; 305

&lt;211&gt; 355

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 305

```

caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgtag tctctggatt caacttcagt aggaatggca tacactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggaatg ggtggcagtt atatcatatg atggaagaaa taaattttat 180
gtagagtccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaataga acagtctgag agttgaggac acggctgtat attactgtgc gaaatcctca 300
attggagggt tttttgaata ctgggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctcag 355

```

&lt;210&gt; 306

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 306

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Asn Phe Ser Arg Asn

20

25

30

Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35

40

45

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

<210> 307  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 307  
 ggattcaact tcagtaggaa tggc

24

<210> 308  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 308  
 Gly Phe Asn Phe Ser Arg Asn Gly  
 1 5

<210> 309  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 309  
 atatcatatg atggaagaaa taaa

24

<210> 310  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 310  
 Ile Ser Tyr Asp Gly Arg Asn Lys  
 1 5

<210> 311  
 <211> 33  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 311

gcgaaatcct caattggagg gttttttgaa tac

33

&lt;210&gt; 312

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 312

Ala Lys Ser Ser Ile Gly Gly Phe Phe Glu Tyr

1

5

10

&lt;210&gt; 313

&lt;211&gt; 337

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 313

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca ctcttgaga gccggcctcc 60  
 atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtaatg gatacaacta tttggattgg 120  
 tacctgcaga agccaggaca gtctccacaa ctcatgatct atttgggttc tcatcggggcc 180  
 tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240  
 agcagagtgg aggctgagga tgttgagtc tattactgca ttcaagttca acaaactccg 300  
 atcaccttcg gccaaaggac acggctggag attaaac 337

&lt;210&gt; 314

&lt;211&gt; 112

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 314

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser 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 Leu Leu His Ser  
 20 25 30  
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser  
 35 40 45  
 Pro Gln Leu Met Ile Tyr Leu Gly Ser His Arg Ala 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 Ile Gln Val  
 85 90 95  
 Gln Gln Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

&lt;210&gt; 315

&lt;211&gt; 33

&lt;212&gt; ADN



<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 315

cagagcctcc tgcataagtaa tggatacaac tat

33

<210> 316

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 316

Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr  
1 5 10

<210> 317

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 317

ttgggttct

9

<210> 318

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 318

Leu Gly Ser  
1

<210> 319

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 319

attcaagttc aacaaactcc gatcacc

27

<210> 320

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 320  
 Ile Gln Val Gln Gln Thr Pro Ile Thr  
 1 5

<210> 321  
 <211> 337  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 321  
 gatattgtga tgactcagac tccactctcc tcacctgtca cccttgagaca gccggcctcc 60  
 atctcctgca ggtctagtca aagcctcgta cacagtgatg gaaacaccta cttgagttgg 120  
 cttcagcaga ggccaggcca gcctccaaga ctcctaattt acaagatttc taaccgggtc 180  
 tctgggggtcc cagacagatt cagtggcagt ggggcaggga cagatttcac actgaaaatc 240  
 agcaggggtgg aagctgagga tgtcgggggt tatttctgca tgcaagctac acaatttccg 300  
 tacacttttg gccagggggac caagctggag atcaaag 337

<210> 322  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 322  
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Ser Pro Val Thr Leu Gly  
 1 5 10 15  
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser  
 20 25 30  
 Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro  
 35 40 45  
 Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Phe Cys Met Gln Ala  
 85 90 95  
 Thr Gln Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 323  
 <211> 33  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 323  
 caaagcctcg tacacagtga tggaaacacc tac 33

<210> 324  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 324  
 Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr  
 1 5 10

<210> 325  
 <211> 9  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 325  
 aagatttct

9

<210> 326  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 326  
 Lys Ile Ser  
 1

<210> 327  
 <211> 27  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 327  
 atgcaagcta cacaatttcc gtacact

27

<210> 328  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 328  
 Met Gln Ala Thr Gln Phe Pro Tyr Thr  
 1 5

<210> 329  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<220>  
 <221> VARIANT

<222> (1)...(1)  
 <223> Xaa = Gly

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (2)...(2)  
 <223> Xaa = Phe

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (3)...(3)  
 <223> Xaa = Thr

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (4)...(4)  
 <223> Xaa = Phe

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (5)...(5)  
 <223> Xaa = Ser

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (6)...(6)  
 <223> Xaa = Ala or Ser

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (7)...(7)  
 <223> Xaa = Phe or Tyr

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (8)...(8)  
 <223> Xaa = Gly or Ala

<400> 329  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5

<210> 330  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (1)...(1)  
 <223> Xaa = Ile

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (2)...(2)  
 <223> Xaa = Gly or Ser

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (3)...(3)  
 <223> Xaa = Tyr or Gly

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (4)...(4)  
 <223> Xaa = Ser or Asp

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (5)...(5)  
 <223> Xaa = Gly

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (6)...(6)  
 <223> Xaa = Gly

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (7)...(7)  
 <223> Xaa = Ser or Asn

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (8)...(8)  
 <223> Xaa = Ala or Glu

<400> 330  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5

<210> 331  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (1)...(1)  
 <223> Xaa = Ser or Ala

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (2)...(2)  
 <223> Xaa = Thr or Lys

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (3)...(3)  
 <223> Xaa = Asp or Ile

<220>

<221> VARIANT  
<222> (4)...(4)  
<223> Xaa = Gly or Ser

<220>  
<221> VARIANT  
<222> (5)...(5)  
<223> Xaa = Ala or His

<220>  
<221> VARIANT  
<222> (6)...(6)  
<223> Xaa = Trp or Tyr

<220>  
<221> VARIANT  
<222> (7)...(7)  
<223> Xaa = Lys or Asp

<220>  
<221> VARIANT  
<222> (8)...(8)  
<223> Xaa = Met or Ile

<220>  
<221> VARIANT  
<222> (9)...(9)  
<223> Xaa = Ser or Leu

<220>  
<221> VARIANT  
<222> (10)...(10)  
<223> Xaa = Gly or Ser

<220>  
<221> VARIANT  
<222> (11)...(11)  
<223> Xaa = Leu or Gly

<220>  
<221> VARIANT  
<222> (12)...(12)  
<223> Xaa = Asp or Met

<220>  
<221> VARIANT  
<222> (13)...(13)  
<223> Xaa = Val or Asp

<220>  
<221> VARIANT  
<222> (14)...(14)  
<223> Xaa = Val or absent

<400> 331

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
1 5 10

<210> 332

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Gln

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Asp or Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Ile

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Asp or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Tyr or Trp

<400> 332

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
1 5

<210> 333

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Thr or Ala

<220>

<221> VARIANT  
 <222> (2)...(2)  
 <223> Xaa = Thr or Ala

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (3)...(3)  
 <223> Xaa = Ser

<400> 333  
 Xaa Xaa Xaa  
 1

<210> 334  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (1)...(1)  
 <223> Xaa = Gln

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (2)...(2)  
 <223> Xaa = Lys or Gln

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (3)...(3)  
 <223> Xaa = Ala or Tyr

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (4)...(4)  
 <223> Xaa = Asp or Asn

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (5)...(5)  
 <223> Xaa = Ser

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (6)...(6)  
 <223> Xaa = Ala or Phe

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (7)...(7)  
 <223> Xaa = Pro

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (8)...(8)



<223> Xaa = Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)...(9)

<223> Xaa = Thr

<400> 334

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
1 5

<210> 335

<211> 330

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 335

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Ser | Thr | Lys | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Pro | Leu | Ala | Pro | Ser | Ser | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Thr | Ser | Gly | Gly | Thr | Ala | Ala | Leu | Gly | Cys | Leu | Val | Lys | Asp | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Phe | Pro | Glu | Pro | Val | Thr | Val | Ser | Trp | Asn | Ser | Gly | Ala | Leu | Thr | Ser |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Val | His | Thr | Phe | Pro | Ala | Val | Leu | Gln | Ser | Ser | Gly | Leu | Tyr | Ser |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Leu | Ser | Ser | Val | Val | Thr | Val | Pro | Ser | Ser | Ser | Leu | Gly | Thr | Gln | Thr |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Tyr | Ile | Cys | Asn | Val | Asn | His | Lys | Pro | Ser | Asn | Thr | Lys | Val | Asp | Lys |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Lys | Val | Glu | Pro | Lys | Ser | Cys | Asp | Lys | Thr | His | Thr | Cys | Pro | Pro | Cys |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Pro | Ala | Pro | Glu | Leu | Leu | Gly | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro |
|     |     | 115 |     |     |     | 120 |     |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Lys | Phe | Asn | Trp |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     |     | 175 |     |
| Glu | Gln | Tyr | Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg | Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Leu |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn |
|     |     | 195 |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |     |
| Lys | Ala | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Ala | Lys | Gly |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln | Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Arg | Asp | Glu |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Thr | Lys | Asn | Gln | Val | Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro | Pro | Val | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr | Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | Gln | Gly | Asn |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val | Met | His | Glu | Ala | Leu | His | Asn | His | Tyr | Thr |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu | Ser | Pro | Gly | Lys |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 325 |     |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     |     |     |

<210> 336  
 <211> 327  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 336  
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 1 5 10 15  
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 20 25 30  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45  
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60  
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr  
 65 70 75 80  
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95  
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro  
 100 105 110  
 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
 115 120 125  
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
 130 135 140  
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
 145 150 155 160  
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
 165 170 175  
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
 180 185 190  
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
 195 200 205  
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
 210 215 220  
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys  
 225 230 235 240  
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 245 250 255  
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
 260 265 270  
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
 275 280 285  
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser  
 290 295 300  
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
 305 310 315 320  
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 325

<210> 337  
 <211> 327  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 337

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

&lt;210&gt; 338

&lt;211&gt; 1128

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 338

atgcaaaaac tgcaactctg tgtttatatt tacctgttta tgctgattgt tgctggtcca 60  
 gtggatctaa atgagaacag tgagcaaaaa gaaaatgtgg aaaaagaggg gctgtgtaat 120  
 gcatgtactt ggagacaaaa cactaaatct tcaagaatag aagcattaa gatacaaatc 180  
 ctacagtaaac ttcgtctgga aacagctcct aacatcagca aagatgttat agacaactt 240  
 ttaccctaaag ctctccact ccggaactg attgatcagt atgatgtcca gagggatgac 300  
 agcagcgatg gctctttgga agatgacgat tatcacgcta caacggaaac aatcattacc 360  
 atgcctacag agtctgattt tctaatagcaa gtggatggaa aacccaaatg ttgcttcttt 420  
 aaatttagct ctaaaataca atacaataaa gtagtaaagg ccaactatg gatataattg 480  
 agaccctgctg agactcctac aacagtgttt gtgcaaattc tgagactcat caaacctatg 540  
 aaagacggta caaggtatac tggaatccga tctctgaaac ttgacatgaa cccaggcact 600  
 ggtatttggc agagcattga tgtgaagaca gtgttgcaaa attggctcaa acaacctgaa 660  
 tccaacttag gcattgaaat aaaagcttta gatgagaatg gtcattgatc tgctgtaacc 720  
 ttcccaggac caggagaaga tgggctgaat ccgttttttag aggtcaaggt aacagacaca 780  
 ccaaaaagat ccagaaggga ttttggtctt gactgtgatg agcactcaac agaatacaga 840

```

tgctgtcggtt accctctaac tgtggatttt gaagcttttg gatgggattg gattatcgct 900
cctaaaagat ataaggccaa ttactgctct ggagagtgtg aatttgtatt ttacaaaaa 960
tatactcata ctcatctggt acaccaagca aaccccagag gttcagcagg cccttgctgt 1020
actcccacaa agatgtctcc aattaatatg ctatatTTTA atggcaaaga acaaataata 1080
tatgggaaaa ttccagcgat ggtagtagac cgctgtgggt gctcatga 1128

```

<210> 339

<211> 375

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 339

```

Met Gln Lys Leu Gln Leu Cys Val Tyr Ile Tyr Leu Phe Met Leu Ile
1      5      10      15
Val Ala Gly Pro Val Asp Leu Asn Glu Asn Ser Glu Gln Lys Glu Asn
20     25     30
Val Glu Lys Glu Gly Leu Cys Asn Ala Cys Thr Trp Arg Gln Asn Thr
35     40     45
Lys Ser Ser Arg Ile Glu Ala Ile Lys Ile Gln Ile Leu Ser Lys Leu
50     55     60
Arg Leu Glu Thr Ala Pro Asn Ile Ser Lys Asp Val Ile Arg Gln Leu
65     70     75     80
Leu Pro Lys Ala Pro Pro Leu Arg Glu Leu Ile Asp Gln Tyr Asp Val
85     90     95
Gln Arg Asp Asp Ser Ser Asp Gly Ser Leu Glu Asp Asp Asp Tyr His
100    105    110
Ala Thr Thr Glu Thr Ile Ile Thr Met Pro Thr Glu Ser Asp Phe Leu
115    120    125
Met Gln Val Asp Gly Lys Pro Lys Cys Cys Phe Phe Lys Phe Ser Ser
130    135    140
Lys Ile Gln Tyr Asn Lys Val Val Lys Ala Gln Leu Trp Ile Tyr Leu
145    150    155    160
Arg Pro Val Glu Thr Pro Thr Thr Val Phe Val Gln Ile Leu Arg Leu
165    170    175
Ile Lys Pro Met Lys Asp Gly Thr Arg Tyr Thr Gly Ile Arg Ser Leu
180    185    190
Lys Leu Asp Met Asn Pro Gly Thr Gly Ile Trp Gln Ser Ile Asp Val
195    200    205
Lys Thr Val Leu Gln Asn Trp Leu Lys Gln Pro Glu Ser Asn Leu Gly
210    215    220
Ile Glu Ile Lys Ala Leu Asp Glu Asn Gly His Asp Leu Ala Val Thr
225    230    235    240
Phe Pro Gly Pro Gly Glu Asp Gly Leu Asn Pro Phe Leu Glu Val Lys
245    250    255
Val Thr Asp Thr Pro Lys Arg Ser Arg Arg Asp Phe Gly Leu Asp Cys
260    265    270
Asp Glu His Ser Thr Glu Ser Arg Cys Cys Arg Tyr Pro Leu Thr Val
275    280    285
Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile Ile Ala Pro Lys Arg Tyr
290    295    300
Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Glu Cys Glu Phe Val Phe Leu Gln Lys
305    310    315    320
Tyr Pro His Thr His Leu Val His Gln Ala Asn Pro Arg Gly Ser Ala
325    330    335
Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser Pro Ile Asn Met Leu Tyr
340    345    350
Phe Asn Gly Lys Glu Gln Ile Ile Tyr Gly Lys Ile Pro Ala Met Val
355    360    365
Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser
370      375

```

<210> 340

<211> 109

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 340

```

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

```

&lt;210&gt; 341

&lt;211&gt; 1224

&lt;212&gt; ADN

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 341

```

atggtgctcg cggccccgct gctgctgggc ttcctgctcc tcgccctgga gctgcggccc 60
cgggggggagg cggccgaggg ccccgcgggc gcggcgggcg cggcgggcg gcgggcagcg 120
gcggggggtcg ggggggagcg ctccagccgg ccagccccgt ccgtggcgcc cgagccggac 180
ggctgccccg tgtgcgtttg gcggcagcac agccgcgagc tgcgcctaga gagcatcaag 240
tcgcagatct tgagcaaact gcggctcaag gaggcgccca acatcagccg cgaggtggtg 300
aagcagctgc tgcccaaggc gccgccgctg cagcagatcc tggacctaca cgacttcag 360
ggcgacgcgc tgcagcccga ggacttcctg gaggaggacg agtaccacgc caccaccgag 420
accgtcatta gcatggccca ggagacggac ccagcagtag agacagatgg cagccctctc 480
tgctgccatt ttcacttcag cccaaggtg atgttcacaa aggtactgaa ggcccagctg 540
tgggtgtacc tacggcctgt accccgcccc gccacagtct acctgcagat cttgcgacta 600
aaaccctaa ctggggaagg gaccgcaggg ggagggggcg gaggccggcg tcacatccgt 660
atccgctcac tgaagattga gctgcactca cgctcaggcc attggcagag catcgacttc 720
aagcaagtgc tacacagctg gttccgccag ccacagagca actggggcat cgagatcaac 780
gcctttgatc ccagtggcac agacctggt gtcacctccc tggggccggg agccgagggg 840
ctgcatccat tcatggagct tcgagtccta gagaacacaa aacgttcccg gcggaacctg 900
ggtctggact gcgacgagca ctcaagcgag tcccgcgtgt gccgatatcc cctcacagt 960
gactttgagg ctttcggctg ggactggatc atcgcaccta agcgctacaa ggccaactac 1020
tgctccggcc agtgcgagta catgttcagt caaaaatatc cgcataccca tttggtgcag 1080
caggccaatc caagaggctc tgctgggccc tgttgtagcc ccaccaagat gtccccaatc 1140
aacatgctct acttcaatga caagcagcag attatctacg gcaagatccc tggcatggtg 1200
gtggatcgct gtggctgctc ttaa                                     1224

```

&lt;210&gt; 342

&lt;211&gt; 407

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 342

```

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

```

```

Ser Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Lys Glu Ala Pro Asn Ile Ser
      85                      90                      95
Arg Glu Val Val Lys Gln Leu Leu Pro Lys Ala Pro Pro Leu Gln Gln
      100                    105                    110
Ile Leu Asp Leu His Asp Phe Gln Gly Asp Ala Leu Gln Pro Glu Asp
      115                    120                    125
Phe Leu Glu Glu Asp Glu Tyr His Ala Thr Thr Glu Thr Val Ile Ser
      130                    135                    140
Met Ala Gln Glu Thr Asp Pro Ala Val Gln Thr Asp Gly Ser Pro Leu
      145                    150                    155                    160
Cys Cys His Phe His Phe Ser Pro Lys Val Met Phe Thr Lys Val Leu
      165                    170                    175
Lys Ala Gln Leu Trp Val Tyr Leu Arg Pro Val Pro Arg Pro Ala Thr
      180                    185                    190
Val Tyr Leu Gln Ile Leu Arg Leu Lys Pro Leu Thr Gly Glu Gly Thr
      195                    200                    205
Ala Gly Gly Gly Gly Gly Gly Arg Arg His Ile Arg Ile Arg Ser Leu
      210                    215                    220
Lys Ile Glu Leu His Ser Arg Ser Gly His Trp Gln Ser Ile Asp Phe
      225                    230                    235                    240
Lys Gln Val Leu His Ser Trp Phe Arg Gln Pro Gln Ser Asn Trp Gly
      245                    250                    255
Ile Glu Ile Asn Ala Phe Asp Pro Ser Gly Thr Asp Leu Ala Val Thr
      260                    265                    270
Ser Leu Gly Pro Gly Ala Glu Gly Leu His Pro Phe Met Glu Leu Arg
      275                    280                    285
Val Leu Glu Asn Thr Lys Arg Ser Arg Arg Asn Leu Gly Leu Asp Cys
      290                    295                    300
Asp Glu His Ser Ser Glu Ser Arg Cys Cys Arg Tyr Pro Leu Thr Val
      305                    310                    315                    320
Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile Ile Ala Pro Lys Arg Tyr
      325                    330                    335
Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Gln Cys Glu Tyr Met Phe Met Gln Lys
      340                    345                    350
Tyr Pro His Thr His Leu Val Gln Gln Ala Asn Pro Arg Gly Ser Ala
      355                    360                    365
Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser Pro Ile Asn Met Leu Tyr
      370                    375                    380
Phe Asn Asp Lys Gln Gln Ile Ile Tyr Gly Lys Ile Pro Gly Met Val
      385                    390                    395                    400
Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser
      405

```

<210> 343

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 343

```

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

```

<210> 344  
 <211> 1503  
 <212> ADN  
 <213> Homo sapiens

<400> 344  
 atgagactcc ccaaactcct cacttttcttg ctttgggtacc tggcttggct ggacctggaa 60  
 ttcatctgca ctgtgttggg tgcccctgac ttggggccaga gaccccgagg gaccaggcca 120  
 ggattggcca aagcagaggc caaggagagg cccccctgg cccggaacgt cttcaggcca 180  
 ggggggtcaca gctatggtgg gggggccacc aatgccaatg ccagggcaaa gggaggcacc 240  
 gggcagacag gaggcctgac acagcccaag aaggatgaac caaaaaagct gccccccaga 300  
 ccgggcgggc ctgaacccaa gccaggacac cctcccaaaa caaggcaggc tacagcccgg 360  
 actgtgaccc caaaaggaca gcttcccga ggcaaggcac ccccaaaagc aggatctgtc 420  
 cccagctcct tcctgctgaa gaaggccagg gagcccgggc cccacgaga gccaaggag 480  
 ccgtttcgcc cccccccat cacacccac gagtacatgc tctcgctgta caggacgctg 540  
 tccgatgctg acagaaaagg aggcaacagc agcgtgaagt tggaggctgg cctggccaac 600  
 accatcacca gctttattga caaagggcaa gatgaccgag gtcccgtggt cagggaagcag 660  
 aggtacgtgt ttgacattag tgccctggag aaggatgggc tgctgggggc cgagctgagg 720  
 atcttgcgga agaagccctc ggacacggcc aagccagcgg cccccggagg cgggcgggct 780  
 gccagctga agctgtccag ctgccccagc ggccggcagc cggcctcctt gctggatgtg 840  
 cgctccgtgc caggcctgga cggatctggc tgggaggtgt tcgacatctg gaagctcttc 900  
 cgaaacttta agaactcggc ccagctgtgc ctggagctgg aggcctggga acggggcagg 960  
 gccgtggacc tccgtggcct gggcttcgac cgcgcgcgcc ggcaggtcca cgagaaggcc 1020  
 ctgttcctgg tgtttgccg caccaagaaa cgggacctgt tctttaatga gattaaggcc 1080  
 cgctctggcc aggacgataa gaccgtgtat gactacctgt tcagccagcg gcgaaaacgg 1140  
 cgggccccac tggccactcg ccagggcaag cgaccagca agaaccttaa ggctcgctgc 1200  
 agtcggaagg cactgcatgt caacttcaag gacatgggct gggacgactg gatcatcgca 1260  
 ccccttgagt acgaggcttt cactgcgag gggctgtgag agttcccatt gcgctcccac 1320  
 ctggagccca cgaatcatgc agtcattccag accctgatga actccatgga ccccgagtcc 1380  
 acaccacca cctgctgtgt gccacgcgg ctgagtccca tcagcatcct cttcattgac 1440  
 tctgccaaca acgtggtgta taagcagtat gaggacatgg tcgtggagtc gtgtggctgc 1500  
 agg 1503

<210> 345  
 <211> 501  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 345  
 Met Arg Leu Pro Lys Leu Leu Thr Phe Leu Leu Trp Tyr Leu Ala Trp  
 1 5 10 15  
 Leu Asp Leu Glu Phe Ile Cys Thr Val Leu Gly Ala Pro Asp Leu Gly  
 20 25 30  
 Gln Arg Pro Gln Gly Thr Arg Pro Gly Leu Ala Lys Ala Glu Ala Lys  
 35 40 45  
 Glu Arg Pro Pro Leu Ala Arg Asn Val Phe Arg Pro Gly Gly His Ser  
 50 55 60  
 Tyr Gly Gly Gly Ala Thr Asn Ala Asn Ala Arg Ala Lys Gly Gly Thr  
 65 70 75 80  
 Gly Gln Thr Gly Gly Leu Thr Gln Pro Lys Lys Asp Glu Pro Lys Lys  
 85 90 95  
 Leu Pro Pro Arg Pro Gly Gly Pro Glu Pro Lys Pro Gly His Pro Pro  
 100 105 110  
 Gln Thr Arg Gln Ala Thr Ala Arg Thr Val Thr Pro Lys Gly Gln Leu  
 115 120 125  
 Pro Gly Gly Lys Ala Pro Pro Lys Ala Gly Ser Val Pro Ser Ser Phe  
 130 135 140  
 Leu Leu Lys Lys Ala Arg Glu Pro Gly Pro Pro Arg Glu Pro Lys Glu  
 145 150 155 160  
 Pro Phe Arg Pro Pro Pro Ile Thr Pro His Glu Tyr Met Leu Ser Leu  
 165 170 175  
 Tyr Arg Thr Leu Ser Asp Ala Asp Arg Lys Gly Gly Asn Ser Ser Val

[illegible]

```
<210> 346
<211> 120
<212> PRT
<213> Homo sapiens
```

|           |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <400> 346 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Ala       | Pro | Leu | Ala | Thr | Arg | Gln | Gly | Lys | Arg | Pro | Ser | Lys | Asn | Leu | Lys |
| 1         |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ala       | Arg | Cys | Ser | Arg | Lys | Ala | Leu | His | Val | Asn | Phe | Lys | Asp | Met | Gly |
|           |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Trp       | Asp | Asp | Trp | Ile | Ile | Ala | Pro | Leu | Glu | Tyr | Glu | Ala | Phe | His | Cys |
|           |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Glu       | Gly | Leu | Cys | Glu | Phe | Pro | Leu | Arg | Ser | His | Leu | Glu | Pro | Thr | Asn |
|           | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| His       | Ala | Val | Ile | Gln | Thr | Leu | Met | Asn | Ser | Met | Asp | Pro | Glu | Ser | Thr |
| 65        |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Pro       | Pro | Thr | Cys | Cys | Val | Pro | Thr | Arg | Leu | Ser | Pro | Ile | Ser | Ile | Leu |
|           |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Phe       | Ile | Asp | Ser | Ala | Asn | Asn | Val | Val | Tyr | Lys | Gln | Tyr | Glu | Asp | Met |
|           |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Val       | Val | Glu | Ser | Cys | Gly | Cys | Arg |     |     |     |     |     |     |     |     |



115

120

<210> 347  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 347  
 Gln Ala Lys His Lys Gln Arg Lys Arg Leu Lys Ser Ser Cys Arg Tyr  
 1 5 10 15  
 Pro Leu Thr Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile Ile Ala  
 20 25 30  
 Pro Lys Arg Tyr Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Glu Cys Glu Phe Val  
 35 40 45  
 Phe Leu Gln Lys Tyr Pro His Thr His Leu Val His Gln Ala Asn Pro  
 50 55 60  
 Arg Gly Ser Ala Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser Pro Ile  
 65 70 75 80  
 Asn Met Leu Tyr Phe Asn Gly Lys Glu Gln Ile Ile Tyr Gly Lys Ile  
 85 90 95  
 Pro Ala Met Val Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser  
 100 105

<210> 348  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 348  
 Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys Phe Ser Ser Thr Glu Lys Asn Cys Cys  
 1 5 10 15  
 Arg Tyr Pro Leu Thr Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile  
 20 25 30  
 Ile Ala Pro Lys Arg Tyr Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Glu Cys Glu  
 35 40 45  
 Phe Val Phe Leu Gln Lys Tyr Pro His Thr His Leu Val His Gln Ala  
 50 55 60  
 Asn Pro Arg Gly Ser Ala Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser  
 65 70 75 80  
 Pro Ile Asn Met Leu Tyr Phe Asn Gly Lys Glu Gln Ile Ile Tyr Gly  
 85 90 95  
 Lys Ile Pro Ala Met Val Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser  
 100 105

<210> 349  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 349  
 Asp Phe Gly Leu Asp Cys Asp Glu His Ser Thr Glu Ser Arg Cys Cys  
 1 5 10 15

```

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

```

<210> 350  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

```

<400> 350
Asp Phe Gly Leu Asp Cys Asp Glu His Ser Thr Glu Ser Arg Cys Cys
  1                5                10                15
Val Arg Gln Leu Tyr Ile Asp Phe Arg Lys Asp Leu Gly Trp Lys Trp
      20                25                30
Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr His Ala Asn Phe Cys Ser Gly Glu Cys
      35                40                45
Glu Phe Val Phe Leu Gln Lys Tyr Pro His Thr His Leu Val His Gln
      50                55                60
Ala Asn Pro Arg Gly Ser Ala Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met
      65                70                75                80
Ser Pro Ile Asn Met Leu Tyr Phe Asn Gly Lys Glu Gln Ile Ile Tyr
      85                90                95
Gly Lys Ile Pro Ala Met Val Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser
      100                105                110

```

<210> 351  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

```

<400> 351
Asp Phe Gly Leu Asp Cys Asp Glu His Ser Thr Glu Ser Arg Cys Cys
  1                5                10                15
Arg Tyr Pro Leu Thr Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile
      20                25                30
Ile Ala Pro Lys Arg Tyr Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Glu Cys Pro
      35                40                45
Phe Pro Leu Ala Asp His Leu Asn Ser Thr Asn His Ala Ile Val Gln
      50                55                60
Thr Leu Val Asn Ser Val Asn Ser Lys Ile Pro Lys Ala Cys Cys Thr
      65                70                75                80
Pro Thr Lys Met Ser Pro Ile Asn Met Leu Tyr Phe Asn Gly Lys Glu
      85                90                95
Gln Ile Ile Tyr Gly Lys Ile Pro Ala Met Val Val Asp Arg Cys Gly
      100                105                110
Cys Ser

```

<210> 352  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 352  
 Asp Phe Gly Leu Asp Cys Asp Glu His Ser Thr Glu Ser Arg Cys Cys  
 1 5 10 15  
 Arg Tyr Pro Leu Thr Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile  
 20 25 30  
 Ile Ala Pro Lys Arg Tyr Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Glu Cys Pro  
 35 40 45  
 Tyr Ile Trp Ser Leu Asp Thr Gln Tyr Ser Lys Val Leu Ala Leu Tyr  
 50 55 60  
 Asn Gln His Asn Pro Gly Ala Ser Ala Ala Pro Cys Cys Thr Pro Thr  
 65 70 75 80  
 Lys Met Ser Pro Ile Asn Met Leu Tyr Phe Asn Gly Lys Glu Gln Ile  
 85 90 95  
 Ile Tyr Gly Lys Ile Pro Ala Met Val Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser  
 100 105 110

<210> 353  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 353  
 Asp Phe Gly Leu Asp Cys Asp Glu His Ser Thr Glu Ser Arg Cys Cys  
 1 5 10 15  
 Arg Tyr Pro Leu Thr Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile  
 20 25 30  
 Ile Ala Pro Lys Arg Tyr Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Glu Cys Glu  
 35 40 45  
 Phe Val Phe Leu Gln Lys Tyr Pro His Thr His Leu Val His Gln Ala  
 50 55 60  
 Asn Ser Val Asn Ser Lys Ile Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser  
 65 70 75 80  
 Pro Ile Asn Met Leu Tyr Phe Asn Gly Lys Glu Gln Ile Ile Tyr Gly  
 85 90 95  
 Lys Ile Pro Ala Met Val Val Asp Arg Cys Gly Cys Ser  
 100 105

<210> 354  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 354  
 Asp Phe Gly Leu Asp Cys Asp Glu His Ser Thr Glu Ser Arg Cys Cys  
 1 5 10 15  
 Arg Tyr Pro Leu Thr Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile

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

<210> 355  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

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

<210> 356  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

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

<210> 357

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

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 357  
 Asp Phe Gly Leu Asp Cys Asp Glu His Ser Thr Glu Ser Arg Cys Cys  
 1 5 10 15  
 Arg Tyr Pro Leu Thr Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile  
 20 25 30  
 Ile Ala Pro Lys Arg Tyr Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Glu Cys Glu  
 35 40 45  
 Phe Val Phe Leu Gln Lys Tyr Pro His Thr His Leu Val His Gln Ala  
 50 55 60  
 Asn Pro Arg Gly Ser Ala Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser  
 65 70 75 80  
 Pro Ile Asn Met Leu Tyr Phe Asn Gly Lys Glu Lys Val Val Leu Lys  
 85 90 95  
 Asn Tyr Gln Asp Met Val Val Glu Gly Cys Gly Cys Ser  
 100 105

<210> 358  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 358  
 Asp Phe Gly Leu Asp Cys Asp Glu His Ser Thr Glu Ser Arg Cys Cys  
 1 5 10 15  
 Arg Tyr Pro Leu Thr Val Asp Phe Glu Ala Phe Gly Trp Asp Trp Ile  
 20 25 30  
 Ile Ala Pro Lys Arg Tyr Lys Ala Asn Tyr Cys Ser Gly Glu Cys Glu  
 35 40 45  
 Phe Val Phe Leu Gln Lys Tyr Pro His Thr His Leu Val His Gln Ala  
 50 55 60  
 Asn Pro Arg Gly Ser Ala Gly Pro Cys Cys Thr Pro Thr Lys Met Ser  
 65 70 75 80  
 Pro Ile Asn Met Leu Tyr Phe Asn Gly Lys Lys Pro Lys Val Glu Gln  
 85 90 95  
 Leu Ser Asn Met Ile Val Arg Ser Cys Gly Cys Ser  
 100 105

<210> 359  
 <211> 360  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 359  
 gaggtgcagg tgttgaggatc tgggggagac ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt gcctatgccca tgacctgggt ccgccaggct 120  
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cgcatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacggtatat 240  
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatggg 300  
 gcctggaaaa tgtccggttt ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcat cgtctcctca 360

<210> 360  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 360  
 Glu Val Gln Val Leu Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ala Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Ala Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Asp Gly Ala Trp Lys Met Ser Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Thr Val Ile Val Ser Ser  
 115 120

<210> 361  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 361  
 ggattcacct ttagtgccta tgcc 24

<210> 362  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 362  
 Gly Phe Thr Phe Ser Ala Tyr Ala  
 1 5

<210> 363  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 363  
 attagtggta gtggtggtag cgca 24

<210> 364  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 364  
 Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Ala  
 1 5

<210> 365  
 <211> 39  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 365  
 gcgaaagatg gggcctggaa aatgtccggt ttggacgtc 39

<210> 366  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 366  
 Ala Lys Asp Gly Ala Trp Lys Met Ser Gly Leu Asp Val  
 1 5 10

<210> 367  
 <211> 321  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 367  
 gacatccaga tgacccagtc tccagcctcc ctgtctgcat ctgttggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgtc gggcgagtc ggacattagc gattatttag cctggtatca gcagaaacca 120  
 gggaaaattc ctaggctcct gatctatact acatccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180  
 cggttccgtg gcagtgggtc tgggacagat ttcactctca ccacgagcag cctgcagcct 240  
 gaagatgttg caacttatta ctgtcagaag tatgacagtg ccccgctcac tttcggcgga 300  
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 368  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 368  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

```

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asp Tyr
      20                      25                      30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ile Pro Arg Leu Leu Ile
      35                      40                      45
Tyr Thr Thr Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Arg 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 Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asp Ser Ala Pro Leu
      85                      90                      95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
      100                      105

```

<210> 369  
 <211> 18  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 369  
 caggacatta gcgattat

18

<210> 370  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 370  
 Gln Asp Ile Ser Asp Tyr  
 1 5

<210> 371  
 <211> 9  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 371  
 actacatcc

9

<210> 372  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 372  
 Thr Thr Ser  
 1

<210> 373  
 <211> 27



<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 373  
cagaagtatg acagtgcccc gctcact

27

<210> 374  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 374  
Gln Lys Tyr Asp Ser Ala Pro Leu Thr  
1 5

<210> 375  
<211> 363  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 375  
caggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctgggaagtc cctgcgactc 60  
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agttttggca tgcattgggt ccgccaggct 120  
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt attgggtatg atggaggtaa tgaatactat 180  
gccgactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgaat 240  
ctgcaaatga gcagcctgag agccgaagac acggctgtgt attattgttc gactataagt 300  
cattacgata ttttgagcgg tatggacgtc tggggccgag ggaccacggc caccgtctcc 360  
tca 363

<210> 376  
<211> 121  
<212> PRT  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Tổng hợp

<400> 376  
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Lys  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe  
20 25 30  
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ala Val Ile Gly Tyr Asp Gly Gly Asn Glu Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asn  
65 70 75 80  
Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ser Thr Ile Ser His Tyr Asp Ile Leu Ser Gly Met Asp Val Trp Gly  
100 105 110  
Arg Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 377  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 377  
 ggattcacct tcagtagttt tggc 24

<210> 378  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 378  
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly  
 1 5

<210> 379  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 379  
 attgggtatg atggaggtaa tgaa 24

<210> 380  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 380  
 Ile Gly Tyr Asp Gly Gly Asn Glu  
 1 5

<210> 381  
 <211> 42  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 381  
 tcgactataa gtcattacga tatttttgagc ggtatggacg tc 42

<210> 382  
 <211> 14  
 <212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 382

Ser Thr Ile Ser His Tyr Asp Ile Leu Ser Gly Met Asp Val  
1 5 10

<210> 383

<211> 324

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 383

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
atcaacttgtc gggcgagtca gggatttagc aactggtag cctgggtatca gcagaaacca 120  
gggaaagccc ctaagctcct gatctttgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
cggttcagcg gcagtgcac tgggacagat ttcaactctca ccatcaacag cctgcagcct 240  
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgcctcac tttcggcgga 300  
gggaccaagg tggagatcaa acga 324

<210> 384

<211> 108

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 384

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

<210> 385

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 385

cagggtatta gcaactgg

18

<210> 386

<211> 6

<212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 386  
 Gln Gly Ile Ser Asn Trp  
 1 5

<210> 387  
 <211> 9  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 387  
 gctgcatcc

9

<210> 388  
 <211> 3  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 388  
 Ala Ala Ser  
 1

<210> 389  
 <211> 27  
 <212> ADN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 389  
 caacaggcta acagtttccc gctcact

27

<210> 390  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Tổng hợp

<400> 390  
 Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Leu Thr  
 1 5

<210> 391  
 <211> 340  
 <212> PRT  
 <213> Trình tự nhân tạo

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Tổng hợp

&lt;400&gt; 391

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glu | Ala | Glu | Thr | Arg | Glu | Cys | Ile | Tyr | Tyr | Asn | Ala | Asn | Trp | Glu | Leu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Glu | Arg | Thr | Asn | Gln | Ser | Gly | Leu | Glu | Arg | Cys | Glu | Gly | Glu | Gln | Asp |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Lys | Arg | Leu | His | Cys | Tyr | Ala | Ser | Trp | Ala | Asn | Ser | Ser | Gly | Thr | Ile |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Glu | Leu | Val | Lys | Lys | Gly | Cys | Trp | Leu | Asp | Asp | Phe | Asn | Cys | Tyr | Asp |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Arg | Gln | Glu | Cys | Val | Ala | Thr | Glu | Glu | Asn | Pro | Gln | Val | Tyr | Phe | Cys |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Cys | Cys | Glu | Gly | Asn | Phe | Cys | Asn | Glu | Arg | Phe | Thr | His | Leu | Pro | Glu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Ala | Gly | Gly | Pro | Glu | Val | Thr | Tyr | Glu | Pro | Pro | Pro | Thr | Ala | Pro | Ser |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Asp | Lys | Thr | His | Thr | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Glu | Leu | Leu |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Gly | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Lys | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Tyr | Asn | Ser | Thr |
|     |     | 180 |     |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Tyr | Arg | Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Ala | Leu | Pro | Ala | Pro |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Ala | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Arg | Asp | Glu | Leu | Thr | Lys | Asn | Gln | Val |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Ser | Leu | Thr | Cys | Leu | Val | Lys | Gly | Phe | Tyr | Pro | Ser | Asp | Ile | Ala | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Glu | Trp | Glu | Ser | Asn | Gly | Gln | Pro | Glu | Asn | Asn | Tyr | Lys | Thr | Thr | Pro |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Pro | Val | Leu | Asp | Ser | Asp | Gly | Ser | Phe | Phe | Leu | Tyr | Ser | Lys | Leu | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Val | Asp | Lys | Ser | Arg | Trp | Gln | Gln | Gly | Asn | Val | Phe | Ser | Cys | Ser | Val |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Met | His | Glu | Ala | Leu | His | Asn | His | Tyr | Thr | Gln | Lys | Ser | Leu | Ser | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ser | Pro | Gly | Lys |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

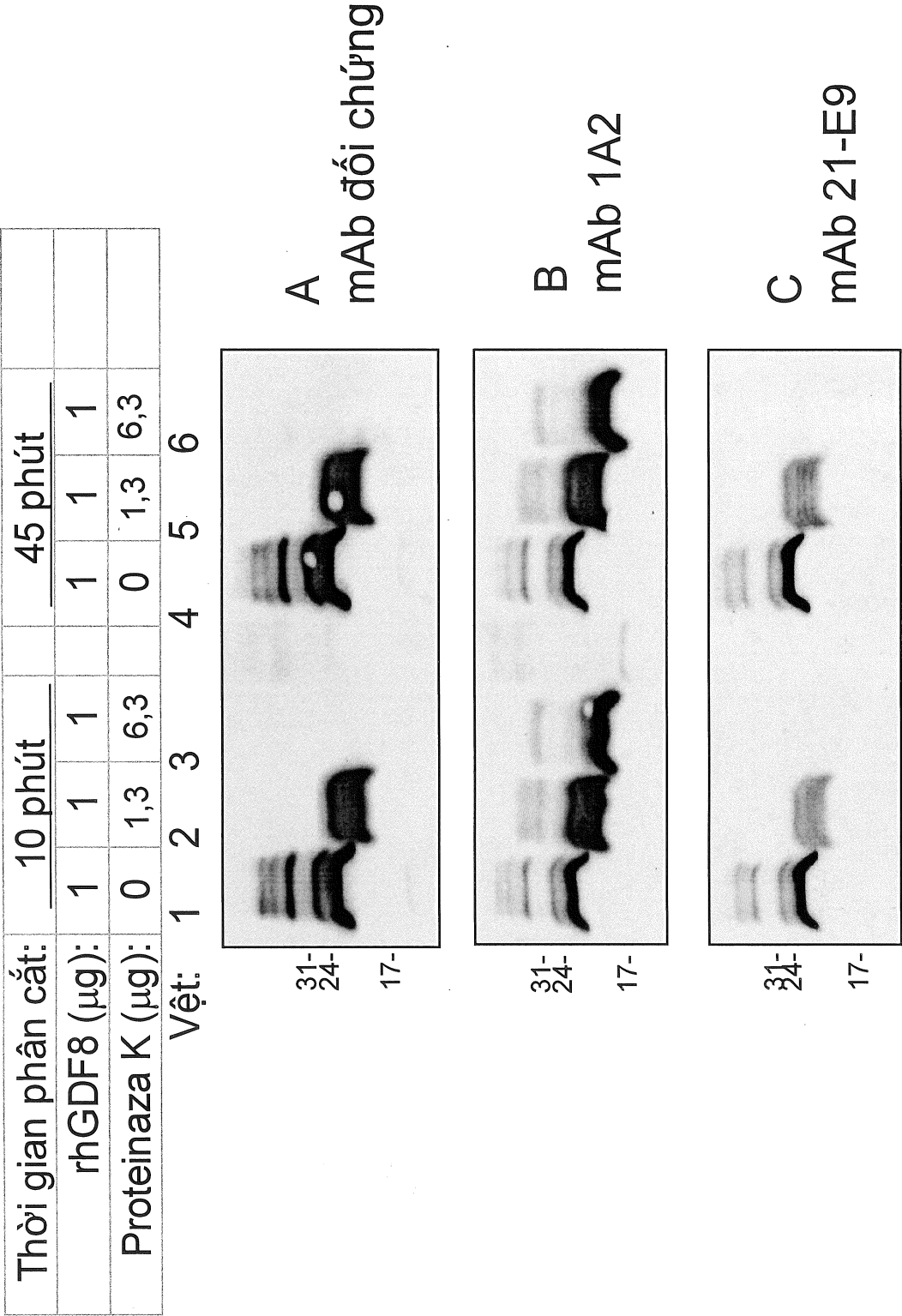


Fig. 1

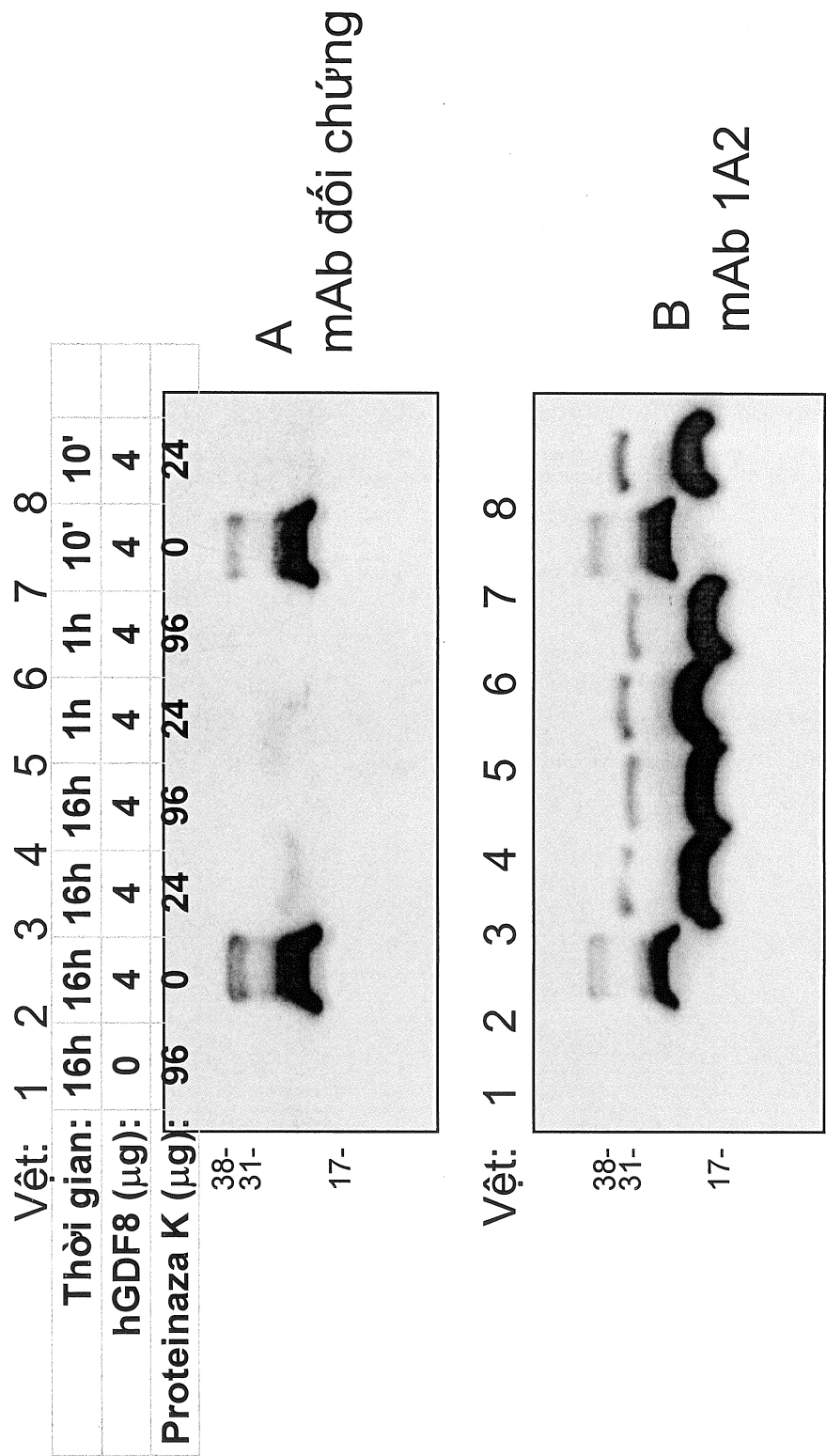


Fig. 2

Thử nghiệm dung nạp insulin trước khi điều trị bằng kháng thể

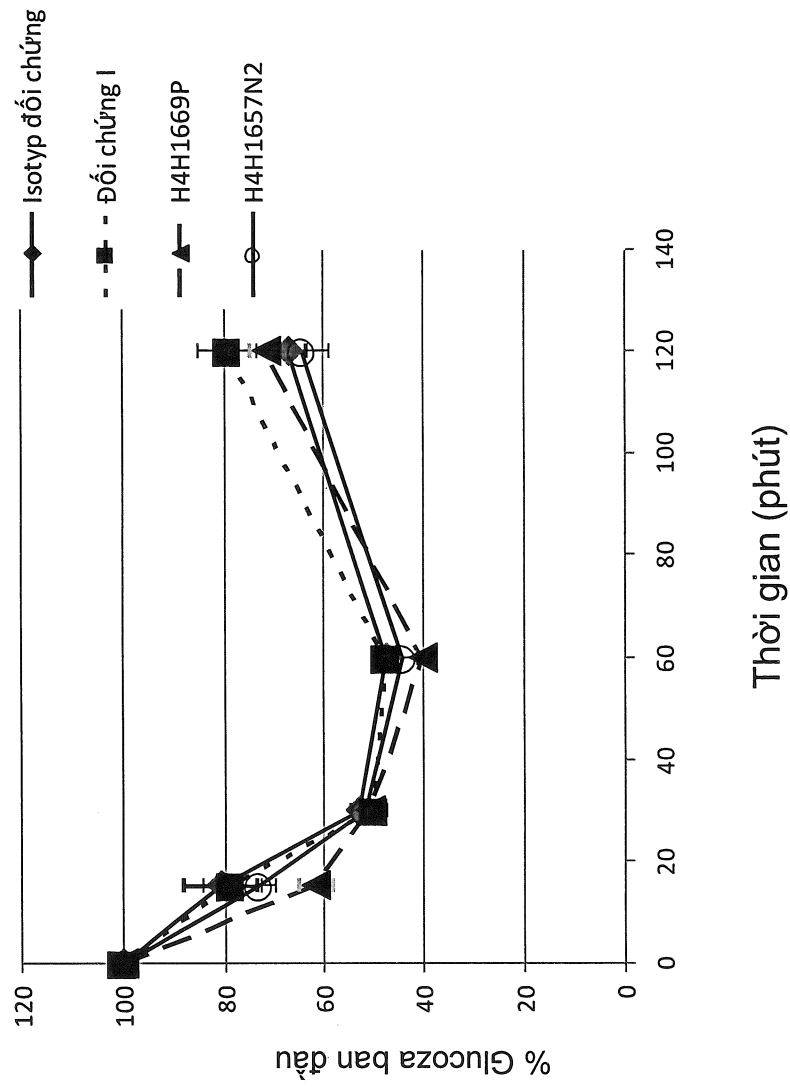


Fig. 3A



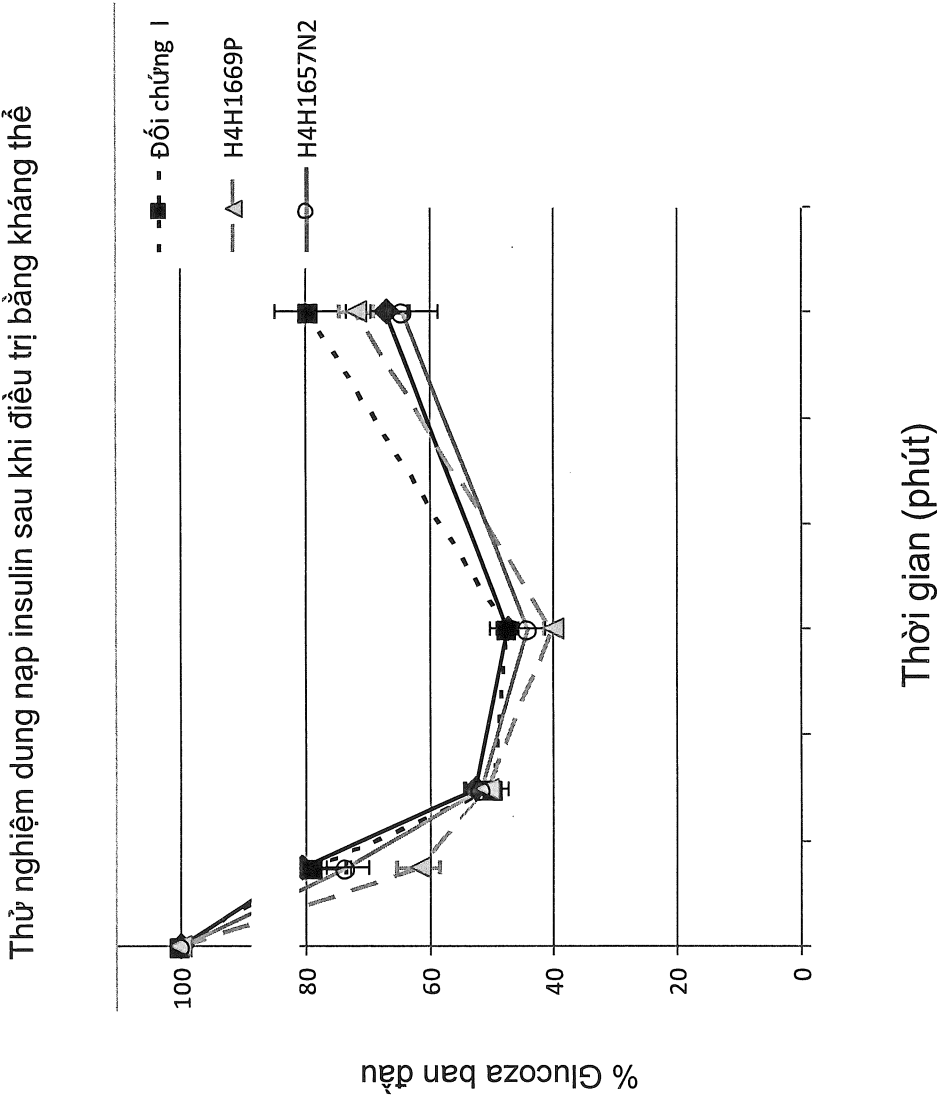


Fig. 3B

|        |    |    |    |    |    |    |    |    |                             |
|--------|----|----|----|----|----|----|----|----|-----------------------------|
| HCDR1  | X1 | X2 | X3 | X4 | X5 | X6 | X7 | X8 |                             |
| 1657N2 | G  | F  | T  | F  | S  | A  | Y  | A  | (SEQ ID NO:362)             |
| 1669P  | G  | F  | T  | F  | S  | S  | F  | G  | (SEQ ID NO:378)             |
| HCDR2  | X1 | X2 | X3 | X4 | X5 | X6 | X7 | X8 |                             |
| 1657N2 | I  | S  | G  | S  | G  | G  | S  | A  | (SEQ ID NO:364)             |
| 1669P  | I  | G  | Y  | D  | G  | G  | N  | E  | (SEQ ID NO:380)             |
| HCDR3  | X1 | X2 | X3 | X4 | X5 | X6 | X7 | X8 | X9 X10 X11 X12 X13 X14      |
| 1657N2 | A  | K  | D  | G  | A  | W  | K  | M  | S G L D V (SEQ ID NO:366)   |
| 1669P  | S  | T  | I  | S  | H  | Y  | D  | I  | L S G M D V (SEQ ID NO:382) |

Fig. 4A

Trình tự liên ứng  
CDR chuỗi nhẹ

|        |    |    |    |    |    |    |                       |
|--------|----|----|----|----|----|----|-----------------------|
| LCDR1  | X1 | X2 | X3 | X4 | X5 | X6 |                       |
| 1657N2 | Q  | D  | I  | S  | D  | Y  | (SEQ ID NO:370)       |
| 1669P  | Q  | G  | I  | S  | N  | W  | (SEQ ID NO:386)       |
| LCDR2  | X1 | X2 | X3 |    |    |    |                       |
| 1657N2 | T  | T  | S  |    |    |    | (SEQ ID NO:372)       |
| 1669P  | A  | A  | S  |    |    |    | (SEQ ID NO:388)       |
| LCDR3  | X1 | X2 | X3 | X4 | X5 | X6 | X7 X8 X9              |
| 1657N2 | Q  | K  | Y  | D  | S  | A  | P L T (SEQ ID NO:374) |
| 1669P  | Q  | Q  | A  | N  | S  | F  | P L T (SEQ ID NO:390) |

Fig. 4B