



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



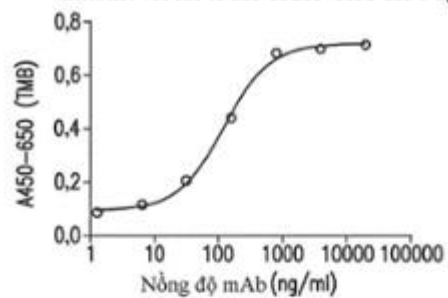
1-0032683

(51)⁷ C07K 16/28; A61P 37/02; A61K 39/00; (13) B
A61K 39/395

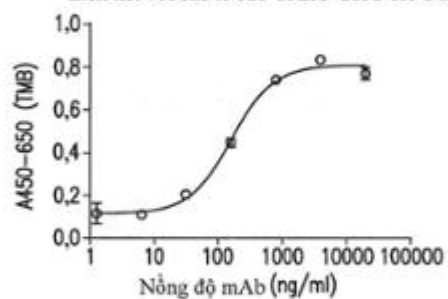
-
- (21) 1-2017-00738 (22) 17/08/2015
(86) PCT/US2015/045447 17/08/2015 (87) WO 2016/028656 25/02/2016
(30) 62/038,912 19/08/2014 US; 62/126,733 02/03/2015 US
(45) 25/07/2022 412 (43) 25/07/2017 352A
(73) Merck Sharp & Dohme Corp. (US)
126 East Lincoln Avenue, Rahway, New Jersey 07065-0907, United States of
America
(72) WILLIAMS, Sybil, M. G. (US); LAFACE, Drake (US); FAYADAT-DILMAN,
Laurence (US); RAGHUNATHAN, Gopalan (US); LIANG, Linda (US);
SEGHEZZI, Wolfgang (DE).
(74) Công ty TNHH Tâm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)
-

- (54) KHÁNG THỂ ĐƠN DÒNG HOẶC MẢNH LIÊN KẾT KHÁNG NGUYÊN CỦA
NÓ LIÊN KẾT VỚI TIGIT THUẦN THỰC Ở NGƯỜI VÀ CHẾ PHẨM BAO GỒM
KHÁNG THỂ ĐƠN DÒNG HOẶC MẢNH LIÊN KẾT KHÁNG NGUYÊN NÀY
(57) Sáng chế đề cập đến kháng thể kháng TIGIT, phương pháp tạo kháng thể và được
phẩm chứa kháng thể này để điều trị bệnh như bệnh ung thư và bệnh lây nhiễm.

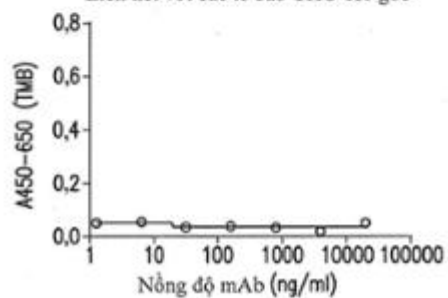
Liên kết với các tế bào TIGIT-CHO-K1 ở người



Liên kết với các tế bào TIGIT-CHO K1 ở khỉ rhesus



Liên kết với các tế bào CHO-K1 gốc



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến kháng thể kháng TIGIT, cũng như việc ứng dụng các kháng thể này trong điều trị bệnh như bệnh ung thư và bệnh lây nhiễm.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Yếu tố chủ yếu để tạo ra liệu pháp miễn dịch khối u xuất hiện từ các phát hiện rằng thụ thể điều biến miễn dịch ức chế (IMR), thường đóng vai trò làm các điểm kiểm tra miễn dịch để duy trì khả năng tự dung nạp, là quyết định đối với khả năng để môi trường vi mô trong khối u tránh được sự miễn dịch. Sự phong bế các IMR ức chế xuất hiện hé lộ rằng các đáp ứng miễn dịch đặc hiệu khối u có hiệu lực hiệu quả hơn so với sự kích thích trực tiếp tính miễn dịch của khối u với các xytokin hoạt hóa hoặc vacxin ung thư, và hướng tiếp cận này có hiệu quả để làm biến đổi phương pháp điều trị bệnh ung thư ở người. Một ứng dụng quan trọng và cơ hội xuất hiện hiện nay có hiệu quả để phát triển kháng thể đối kháng mới đối với các IMR khác và để liên kết các kháng thể đối kháng với nhiều hơn một IMR để làm tăng tỷ lệ của các chất đáp ứng trong các thử nghiệm lâm sàng ung thư học, cũng như mở rộng dựa vào các biểu hiện ung thư học trong đó các phương pháp điều trị bằng liệu pháp miễn dịch khối u là có hiệu quả.

Quan trọng là, các IMR ức chế và phối tử điều hòa tính miễn dịch của tế bào thường được biểu hiện quá mức trên các tế bào khối u và đại thực bào có liên quan đến khối u (TAM). Đáng chú ý là, sự biểu hiện quá mức của PD-L1 trong các khối u có liên quan đến tình trạng suy kiệt tế bào T đặc hiệu khối u và tiên lượng kém. Sự phong bế mới nối PD-1/PD-L1 trong các thử nghiệm lâm sàng dẫn đến các đáp ứng thoái triển khối u ổn định trong một tỷ lệ đáng kể bệnh nhân. Báo cáo mới đây chứng minh rằng sự biểu hiện đồng thời của PD-1 và IMR ức chế khác (TIM-3) trong các tế bào CD8⁺ T đặc hiệu khối u thu được từ bệnh nhân bị u hắc sắc tố có liên quan đến các kiểu hình suy kiệt tế bào T bị rối loạn chức năng nhiều hơn so với các tế bào chỉ biểu hiện một mình IMR. Hơn nữa, các báo cáo khác nhau sử dụng các mô hình khối u tiền lâm sàng chứng minh sự phong bế nhiều IMR, bao gồm PD-1, TIM-3, LAG-3 và CTLA-4 kích thích

hiệu quả các đáp ứng chống khối u hơn là gây đối kháng một mình PD-1. Các kết quả này nhấn mạnh tầm quan trọng của nghiên cứu khác về các con đường IMR.

TIGIT (thụ thể miễn dịch tế bào T với các miền Ig và ITIM) là thụ thể điều biến miễn dịch chủ yếu được biểu hiện trên tế bào T và tế bào NK được hoạt hóa. TIGIT cũng được biết dưới dạng VSIG9; VSTM3; và WUCAM. Cấu trúc của nó thể hiện một miền globulin miễn dịch ngoại bào, vùng xuyên màng tuýp 1 và hai môtip ITIM. TIGIT tạo thành một phần của mạng lưới kích thích đồng thời bao gồm các thụ thể điều biến miễn dịch dương (CD226) và âm (TIGIT) trên các tế bào T, và các phối tử được biểu hiện trên các APC (CD155 và CD112).

Một đặc điểm quan trọng trong cấu trúc của TIGIT là sự có mặt của môtip ức chế trên cơ sở tyrosin của thụ thể miễn dịch (ITIM) trong miền đuôi tế bào chất của nó. Như đối với PD-1 và CTLA-4, miền ITIM trong vùng tế bào chất của TIGIT được dự đoán là để phục hồi tyrosin phosphatase, như SHP-1 và SHP-2, và sự khử phosphoryl hóa sau đó của các gốc tyrosin bằng môtip hoạt hóa trên cơ sở tyrosin của thụ thể miễn dịch (ITAM) trên các cấu trúc dưới phân tử của thụ thể tế bào T (TCR). Do đó, việc nối TIGIT bằng các phối tử -thụ thể CD155 và CD112 được biểu hiện bởi các tế bào khối u hoặc TAMS có thể góp phần vào việc ức chế sự truyền tín hiệu TCR và sự hoạt hóa tế bào T, cần thiết để làm tăng tính miễn dịch chống khối u hiệu quả. Do đó, kháng thể đối kháng đặc hiệu với TIGIT có thể ức chế sự ức chế được kích thích bởi CD155 và CD112 của các đáp ứng tế bào T và tăng cường tính miễn dịch chống khối u. Mục đích của sáng chế là thu được kháng thể kháng TIGIT có thể được sử dụng để điều trị bệnh ung thư, một mình hoặc kết hợp với các thuốc thử khác.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất các kháng thể kháng TIGIT và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng bao gồm các đặc tính cấu trúc và chức năng được xác định dưới đây.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người, bao gồm: CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83, 59, 90, 140, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166 hoặc 167. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó tùy ý có ít nhất một

trong số các đặc trưng sau: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ, KinExa hoặc OCTET); (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgous và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người, bao gồm: CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6, 62, 74, 75, 76, 77, 78 hoặc 93. Theo một phương án, kháng thể tùy ý có ít nhất một trong số các đặc trưng sau: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET); (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgous và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 140. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82 hoặc 83. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong

SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó tùy ý có ít nhất một trong số các đặc trưng sau: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET); (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgous và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên liên kết với TIGIT ở người bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó tùy ý có ít nhất một trong số các đặc trưng sau: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET); (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgous và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên liên kết với TIGIT ở người bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 147; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 153. Theo một phương

án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134 hoặc 135; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166 hoặc 167. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 134 hoặc 135; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 154. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 155. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 156. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong

[illegible]

nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 166. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 167. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó tùy ý có ít nhất một trong số các đặc trưng sau: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIAcore) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET); (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgus và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên liên kết với TIGIT ở người bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 141; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 142. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 hoặc ; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6, 74, 75, 76, 77 hoặc 78. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình

tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó tùy ý có ít nhất một trong số các đặc trưng sau: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET); (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgous và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên liên kết với TIGIT ở người bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó tùy ý có ít nhất một trong số các đặc trưng sau: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET); (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgous và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên liên kết với TIGIT ở người bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 148; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án,

kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121 hoặc 122; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó tùy ý có ít nhất một trong số các đặc trưng sau: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET); (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgous và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên liên kết với TIGIT ở người bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 140; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 141; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 142. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82 hoặc 83; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin

nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 hoặc 73; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6, 74, 75, 76, 77 hoặc 78. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự SEQ ID NO: 9-24, 37-47, 143 và 144; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự SEQ ID NO: 25-30, 48-52, 146 và 147. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó tùy ý có ít nhất một trong số các đặc trưng sau: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET); (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgus và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên liên kết với TIGIT ở người bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82 hoặc 83; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:

5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 hoặc 73; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6, 74, 75, 76, 77 hoặc 78; trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có độ đồng nhất (giống hệt) trình tự ít nhất là 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự SEQ ID NO: 9-24 hoặc 37-47 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ nhóm bao gồm các trình tự SEQ ID NO: 25-30 hoặc 48-52. Theo phương án được đề cập ở trên, các biến thể trình tự trong các vùng khung. Theo một phương án, kháng thể liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET).

Theo một phương án khác, sáng chế cũng đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm 1, 2 hoặc 3 đột biến thay thế axit amin trong CDR chuỗi nặng (SEQ ID NO: 1-3) hoặc trong CDR chuỗi nhẹ (SEQ ID NO: 3-6). Theo một phương án, kháng thể bao gồm một đột biến thay thế axit amin trong CDR chuỗi nặng có SEQ ID NO: 3, trong đó việc thay thế được tiến hành tại vị trí 13W, và trong đó gốc 13W được thay thế bằng: F, Y, I, V hoặc L. Theo một phương án, kháng thể bao gồm hai đột biến thay thế axit amin trong CDR chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 5, trong đó các đột biến thay thế được tạo ra tại vị trí 3-4, và trong đó các gốc 3N và 4S được thay thế bằng: SN, SS, ST, TT, SY, NQ, GS, SQ và DS. Theo một phương án, kháng thể bao gồm một đột biến thay thế axit amin trong CDR chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 6, trong đó việc thay thế được tiến hành tại vị trí 7, và trong đó gốc 7W được thay thế bằng: F, Y, I, V hoặc L. Trình tự VH có SEQ ID NO: 9-24 và 37-47

có CDR có SEQ ID NO:1-3; và trình tự VL có SEQ ID NO: 25-30 và 48-52 có CDR có SEQ ID NO: 4-6. Theo một số phương án, các đột biến thay thế CDR được mô tả ở trên có thể được tạo ra trong các CDR tương ứng của trình tự VH có SEQ ID NO: 9-24 và 37-37, và trong các CDR của các trình tự VL có SEQ ID NO: 25-30 và 48-52. Theo một phương án, kháng thể liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET).

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên liên kết với TIGIT ở người bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm 1, 2 hoặc 3 đột biến thay thế axit amin trong CDR chuỗi nặng (SEQ ID NO: 57-59) hoặc trong CDR chuỗi nhẹ (SEQ ID NO: 60-62), và giữ lại một hoặc nhiều đặc tính chức năng của nó. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó tùy ý có ít nhất một trong số các đặc tính chức năng sau đây: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET), (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgus và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112.

Theo một phương án khác, sáng chế cũng đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến

đôi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 147; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 153; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 148; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134 hoặc 135; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166 hoặc 167; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121 hoặc 122; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 134 hoặc 135; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc

mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 154; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 155; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 156; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 157; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3

của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 158; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 159; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 160; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID

NO: 161; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 162; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 163; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 164; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu

trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 165; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 166; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 167; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó tùy ý có ít nhất một trong số các đặc trưng sau: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET), (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgous và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc

hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112.

Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người và bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể bao gồm một đột biến thay thế axit amin trong CDR2 của chuỗi nặng có SEQ ID NO: 89, trong đó việc thay thế được tiến hành tại vị trí 7, và trong đó gốc D được thay thế bằng: R, L, K, F, S, Y hoặc V. Theo một phương án khác, kháng thể bao gồm một đột biến thay thế axit amin trong CDR2 của chuỗi nặng có SEQ ID NO: 89, trong đó việc thay thế được tiến hành tại vị trí 8, và trong đó gốc G được thay thế bằng: R, N, Q, E, L K, S, Y hoặc V. Theo một phương án khác, kháng thể bao gồm một đột biến thay thế axit amin trong CDR2 của chuỗi nặng có SEQ ID NO: 89, trong đó việc thay thế được tiến hành tại vị trí 12, trong đó N được thay thế bằng: A hoặc S. Theo một phương án khác, kháng thể bao gồm một đột biến thay thế axit amin trong CDR2 của chuỗi nặng có SEQ ID NO: 89, trong đó việc thay thế được tiến hành tại vị trí 13, trong đó E được thay thế bằng Q. Theo một phương án khác, kháng thể bao gồm một đột biến thay thế axit amin trong CDR2 của chuỗi nặng có SEQ ID NO: 89, trong đó việc thay thế được tiến hành tại vị trí 16, trong đó K được thay thế bằng Q. Theo một phương án khác, kháng thể bao gồm ba đột biến thay thế axit amin trong CDR2 của chuỗi nặng có SEQ ID NO: 89, trong đó gốc axit amin 12 được thay thế bằng: A hoặc S, gốc axit amin 13 được thay thế bằng Q và gốc axit amin 16 được thay thế bằng Q. Theo một phương án, kháng thể bao gồm một đột biến thay thế axit amin trong CDR3 của chuỗi nặng có SEQ ID NO: 90, trong đó gốc axit amin 6 được thay thế bằng: A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T V hoặc Y. Theo một phương án khác, kháng thể bao gồm một đột biến thay thế axit amin trong CDR chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 92, trong đó việc thay thế được tiến hành tại vị trí 1, và trong đó gốc N được thay thế bằng A, Y, W, S, T, R, H, G, I hoặc

V. Theo một phương án khác, kháng thể bao gồm một đột biến thay thế axit amin trong CDR chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 92, trong đó việc thay thế được tiến hành tại vị trí 2, và trong đó gốc A được thay thế bằng N, I, L, T, V. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được nhân hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó tùy ý có ít nhất một trong số các đặc trưng sau: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET), (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgous và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112.

Theo một phương án khác, sáng chế cũng đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm CDR1, CDR2 và CDR3 có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 124-129 và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm CDR1, CDR2 và CDR3 có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 130-133. Theo một phương án, sáng chế cũng đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên được phân lập của chúng liên kết với TIGIT ở người bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO: 124-129 và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn từ nhóm bao gồm: SEQ ID NO: 130-133. Theo một phương án, gốc D tại vị trí 56 có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 124-129 có thể được thế bằng R, L, K, F, S, Y hoặc V. Theo một phương án khác, gốc G tại vị trí 57 có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 124-129 có thể được thế bằng R, N, Q, E, L K, S, Y hoặc V. Theo một phương án, gốc W tại vị trí 104 có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 124-129 có thể được thế bằng: A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V hoặc Y. Theo một phương án khác, gốc N tại vị trí 50 có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 130-133 có thể được thế bằng A, Y, W, S, T, I hoặc V. Theo một phương án khác, gốc A tại vị trí 51 có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 130-133 được thay thế bằng N, I, L, T hoặc V. Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên được phân lập của chúng liên kết với

TIGIT ở người bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:128 hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:132. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên được phân lập của chúng liên kết với TIGIT ở người bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:128 hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:133. Theo một phương án khác, sáng chế cũng đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên được phân lập của chúng liên kết với TIGIT ở người bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:127 hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:130. Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên được phân lập của chúng liên kết với TIGIT ở người bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:128 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:132. Theo một phương án khác, sáng chế cũng đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên được phân lập của chúng liên kết với TIGIT ở người bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:128 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:133. Theo một phương án khác, sáng chế cũng đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên được phân lập của chúng liên kết với TIGIT ở người bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:127 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:130. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET).

Theo một phương án khác, sáng chế cũng đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người bao gồm: (i) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm CDR1, CDR2 và CDR3 có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 124-129, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với trình tự bất kỳ trong số SEQ ID NO: 124-129 và/hoặc (ii) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm CDR1, CDR2 và CDR3 có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 130-133, trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với trình tự bất kỳ có SEQ ID NO: 130-133. Theo một phương án khác, sáng chế cũng đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người bao gồm: (i) vùng biến đổi chuỗi

nặng bao gồm CDR1, CDR2 và CDR3 có SEQ ID NO: 128, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng có độ đồng nhất trình tự 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với SEQ ID NO: 128 và/hoặc (ii) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm CDR1, CDR2 và CDR3 có SEQ ID NO: 132, trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với SEQ ID NO: 132. Theo một phương án khác, sáng chế cũng đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người bao gồm: (i) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm CDR1, CDR2 và CDR3 có SEQ ID NO: 128, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với SEQ ID NO: 128 và/hoặc (ii) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm CDR1, CDR2 và CDR3 có SEQ ID NO: 133, trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với SEQ ID NO: 133. Theo một phương án khác, sáng chế cũng đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người bao gồm: (i) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm CDR1, CDR2 và CDR3 có SEQ ID NO: 127, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với SEQ ID NO: 127 và/hoặc (ii) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm CDR1, CDR2 và CDR3 có SEQ ID NO: 130, trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với SEQ ID NO: 130. Theo các phương án này, các biến thể của trình tự được cho phép xuất hiện trong các vùng khung của các chuỗi biến đổi. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET).

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 7 và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người. Theo một phương án, kháng thể liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET).

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 143 và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 145, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người. Theo một phương án, kháng thể liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET).

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144 và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 146, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người. Theo một phương án, kháng thể liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET).

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 63 và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 64, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người. Theo một phương án, kháng thể liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET).

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 94 và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 95, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người. Theo một phương án, kháng thể liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác

định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET).

Theo một phương án, sáng chế cũng đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên được phân lập của chúng liên kết với TIGIT ở người bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:149 và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:151. Theo một phương án, kháng thể liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET).

Theo một phương án, sáng chế cũng đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên được phân lập của chúng liên kết với TIGIT ở người bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:150 và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:152. Theo một phương án, kháng thể liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET).

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với cùng một epitop của TIGIT ở người làm kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có SEQ ID NO: 7 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 8, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó có ít nhất một trong số các đặc tính sau đây: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET), (ii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iii) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (iv) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (v) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112. Theo một phương án, kháng thể có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với vùng biến đổi chuỗi nặng và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 7-30 hoặc 37-52. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13,

14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 hoặc 30 đột biến thay thế axit amin trong chuỗi nhẹ nặng biến đổi có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 7, 9-24 và 37-47 và/hoặc các vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 8, 25-30 và 48-52.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với epitop của TIGIT ở người chứa ít nhất một trong số các vùng sau: các gốc 54-57 có SEQ ID NO: 31, các gốc 68-70 có SEQ ID NO: 31 và các gốc 76-81 có SEQ ID NO: 31. Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với epitop của TIGIT ở người bao gồm các gốc: 54-57, 68-70 và 76-81 có SEQ ID NO: 31.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với cùng một epitop của TIGIT ở người như kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có SEQ ID NO: 63 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 64, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó có ít nhất một trong số các đặc tính sau đây: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET); (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgus và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với vùng biến đổi chuỗi nặng có SEQ ID NO: 63 và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 64. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 hoặc 30 đột biến thay thế axit amin trong chuỗi nhẹ nặng biến đổi có SEQ ID NO: 63 và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 64. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm 1, 2 hoặc 3 đột biến thay thế axit amin trong CDR chuỗi nặng (SEQ ID NO: 57-59) hoặc trong CDR chuỗi nhẹ (SEQ ID NO: 60-62).

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với cùng một epitop của TIGIT ở người như kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có SEQ ID NO: 94 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO:95, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó có ít nhất một trong số các đặc tính sau đây: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET); (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgous và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO:94 hoặc 124-129, và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 95 hoặc 130-133. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 hoặc 30 đột biến thay thế axit amin trong chuỗi nhẹ nặng biến đổi có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO:94 hoặc 124-129, và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 95 hoặc 130-133. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm 1, 2 hoặc 3 đột biến thay thế axit amin trong CDR chuỗi nặng (SEQ ID NO: 88-90) và/hoặc trong CDR chuỗi nhẹ (SEQ ID NO: 91-93). Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm CDR chuỗi nặng có SEQ ID NO: 88, 134 và 90 và/hoặc chuỗi nhẹ CDR có SEQ ID NO: 91, 92 và 93.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với epitop của TIGIT ở người chứa ít nhất một trong số các vùng sau: các gốc 53-57, các gốc 60-65, các gốc 68-70, các gốc 72-81, các gốc 94-95, và các gốc 109-119 của SEQ ID NO:31. Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với epitop của TIGIT ở người bao gồm các gốc: 53-57, 60-65, 68-70, 72-81, 94-95, và 109-119 của SEQ ID NO:31.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó phong bế chéo liên kết của (hoặc cạnh tranh với) kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có SEQ ID NO: 7 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 8 với TIGIT ở người, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó có ít nhất một trong số các đặc tính sau đây: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET); (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgous và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc các vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 7-30 hoặc 37-52. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 hoặc 30 đột biến thay thế axit amin trong chuỗi nhẹ nặng biến đổi có SEQ ID NO: 7, 9-24 và 37-47 hoặc các vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 8, 25-30 và 48-52. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm 1, 2 hoặc 3 đột biến thay thế axit amin trong CDR chuỗi nặng (SEQ ID NO: 1-3) hoặc trong CDR chuỗi nhẹ (SEQ ID NO: 3-6).

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó phong bế chéo liên kết của (hoặc cạnh tranh với) kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có SEQ ID NO: 63 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 64 với TIGIT ở người, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó có ít nhất một trong số các đặc tính chức năng sau đây: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET); (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgous và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm

tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112. Theo một phương án, kháng thể có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với vùng biến đổi chuỗi nặng có SEQ ID NO:63 hoặc các vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 64. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 hoặc 30 đột biến thay thế axit amin trong chuỗi nhẹ nặng biến đổi có SEQ ID NO: 63 hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 64. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm 1, 2 hoặc 3 đột biến thay thế axit amin trong CDR chuỗi nặng (SEQ ID NO: 57-59) hoặc trong CDR chuỗi nhẹ (SEQ ID NO: 60-62).

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó phong bế chéo liên kết của (hoặc cạnh tranh với) kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có SEQ ID NO: 94 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 95 với TIGIT ở người, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó có ít nhất một trong số các đặc tính sau đây: (i) liên kết với TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET); (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgus và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112. Theo một phương án, kháng thể có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với vùng biến đổi chuỗi nặng có SEQ ID NO: 94 hoặc các vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 95. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 hoặc 30 đột biến thay thế axit amin trong chuỗi nhẹ nặng biến đổi có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 94 hoặc 124-129, hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 95 hoặc 130-133. Theo một

phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm 1, 2 hoặc 3 đột biến thay thế axit amin trong CDR chuỗi nặng (SEQ ID NO: 88-90) hoặc trong CDR chuỗi nhẹ (SEQ ID NO: 91-93). Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:128 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:132. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:127 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:130. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:128 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:133.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ nhóm bao gồm trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 9-24 và 37-47, và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn từ nhóm bao gồm trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 25-30 và 48-52. Theo một phương án, kháng thể bao gồm đột biến thay thế axit amin trong FR4 của chuỗi nặng, trong đó việc thay thế được tiến hành tại vị trí 122 của SEQ ID NO: 9-24 và 37-47, trong đó gốc được thay thế từ M thành: V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W hoặc Y. Theo một phương án, kháng thể bao gồm hai đột biến thay thế axit amin trong FR4 của chuỗi nặng, trong đó các đột biến thay thế được tạo ra tại các vị trí 122 và 123 của SEQ ID NO: 9-24 và 37-47, trong đó các gốc được thay thế từ M và V thành T và L, tương ứng.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ nhóm bao gồm trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 9-24 và 37-47, và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn từ nhóm bao gồm trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 25-30 và 48-52. Theo một phương án, kháng thể bao gồm đột biến thay thế axit amin trong FR4 của chuỗi nặng, trong đó việc thay thế được tiến hành tại vị trí 122 của SEQ ID NO: 9-24 và 37-47, trong đó gốc được thay thế từ M thành: V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W hoặc Y. Theo một phương án, kháng thể bao gồm hai đột biến thay thế axit amin trong FR4 của chuỗi nặng, trong đó các đột biến thay thế được

tạo ra tại các vị trí 122 và 123 của SEQ ID NO: 9-24 và 37-47, trong đó các gốc được thay thế từ M và V thành T và L, tương ứng.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên được phân lập liên kết với TIGIT ở người bao gồm: chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 7 hoặc biến thể của chúng chứa lên đến 30 đột biến thay thế axit amin, và/hoặc chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 chứa lên đến 12 đột biến thay thế axit amin. Theo một phương án, chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 7 bao gồm các đột biến thay thế axit amin tại một hoặc nhiều vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 6, 9, 12, 15, 16, 17, 23, 25, 37, 39, 40, 43, 44, 45, 48, 67, 68, 70, 71, 79, 81, 83, 87, 88, 92, 94, 119, 122 và 123. Theo một phương án, chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 7 bao gồm các đột biến thay thế axit amin tại một hoặc nhiều vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 6, 9, 12, 15, 16, 17, 23, 25, 37, 39, 40, 43, 44, 45, 48, 67, 68, 70, 71, 79, 81, 83, 87, 88, 92, 94, 110, 119, 122 và 123, trong đó: axit amin tại vị trí 6 có thể là E hoặc Q, axit amin tại vị trí 9 có thể là P hoặc A, axit amin tại vị trí 12 có thể là V hoặc L, axit amin tại vị trí 15 có thể là S hoặc P, axit amin tại vị trí 16 có thể là Q hoặc E hoặc G, axit amin tại vị trí 17 có thể là S hoặc T, axit amin tại vị trí 23 có thể là S hoặc T, axit amin tại vị trí 25 có thể là T hoặc S, axit amin tại vị trí 37 có thể là I hoặc V, axit amin tại vị trí 39 có thể là K hoặc Q, axit amin tại vị trí 40 có thể là F hoặc P, axit amin tại vị trí 43 có thể là N hoặc K, axit amin tại vị trí 44 có thể là K hoặc G, axit amin tại vị trí 45 có thể là M hoặc L, axit amin tại vị trí 48 có thể là M hoặc I, axit amin tại vị trí 67 có thể là I hoặc V, axit amin tại vị trí 68 có thể là S hoặc T, axit amin tại vị trí 70 có thể là T hoặc S, axit amin tại vị trí 71 có thể là R hoặc V, axit amin tại vị trí 79 có thể là F hoặc S, axit amin tại vị trí 81 có thể là Q hoặc K, axit amin tại vị trí 83 có thể là H hoặc S, axit amin tại vị trí 87 có thể là T hoặc A, axit amin tại vị trí 88 có thể là D hoặc A, axit amin tại vị trí 92 có thể là T hoặc V, axit amin tại vị trí 94 có thể là S hoặc Y, axit amin tại vị trí 110 có thể là W, F, Y, I, V hoặc L, axit amin tại vị trí 119 có thể là P hoặc Q, axit amin tại vị trí 122 có thể là M, V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W hoặc Y, và axit amin tại vị trí 123 có thể là V, T hoặc L. Theo một phương án, chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 bao gồm các đột biến thay thế axit amin tại một hoặc nhiều vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 10, 21, 22, 40, 42, 46, 52, 53, 58, 77, 83, 87,

95 và 106. Theo một phương án, chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8 bao gồm các đột biến thay thế axit amin tại một hoặc nhiều vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 10, 21, 22, 40, 42, 46, 52, 53, 58, 77, 83, 87, 95 và 106 trong đó: axit amin tại vị trí 10 có thể là L hoặc S, axit amin tại vị trí 21 có thể là L hoặc I, axit amin tại vị trí 22 có thể là N hoặc T, axit amin tại vị trí 40 có thể là L hoặc P, axit amin tại vị trí 42 có thể là E hoặc K, axit amin tại vị trí 46 có thể là F hoặc L, axit amin tại vị trí 52 có thể là N, S, T, G hoặc D, axit amin tại vị trí 53 có thể là S, N, T, Y hoặc Q, axit amin tại vị trí 58 có thể là I hoặc V, axit amin tại vị trí 77 có thể là G hoặc S, axit amin tại vị trí 83 có thể là V hoặc F, axit amin tại vị trí 87 có thể là F hoặc Y, axit amin tại vị trí 95 có thể là W, F, Y, I, V hoặc L, và axit amin tại vị trí 105 có thể là L hoặc I.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên liên kết với TIGIT ở người bao gồm: chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 9 và/hoặc chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 25, trong đó mỗi chuỗi biến đổi có thể chứa 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 hoặc 8 đột biến thay thế axit amin. Theo một phương án, kháng thể có thể chứa các đột biến tại các vị trí 27, 48, 67, 71, 83, 110, 122 và 123 của SEQ ID NO: 9. Ví dụ, đối với SEQ ID NO: 9: axit amin tại vị trí 27 có thể là G hoặc S; axit amin tại vị trí 48 có thể là I hoặc M; axit amin tại vị trí 67 có thể là V hoặc I; axit amin tại vị trí 71 có thể là V hoặc R; axit amin tại vị trí 83 có thể là S hoặc H; axit amin tại vị trí 110 có thể là W, F, Y, I, V hoặc L; axit amin tại vị trí 122 có thể là M, V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W hoặc Y; và axit amin tại vị trí 123 có thể là V, T hoặc L. Theo một phương án khác, kháng thể có thể chứa các đột biến tại các vị trí 46, 52, 53, 58 và 95 của SEQ ID NO: 25. Ví dụ, đối với SEQ ID NO: 25, axit amin tại vị trí 46 có thể là L hoặc F; axit amin tại vị trí 52 có thể là N, S, T, G hoặc D, axit amin tại vị trí 53 có thể là S, N, T, Y hoặc Q; axit amin tại vị trí 58 có thể là I hoặc V; axit amin tại vị trí 58 có thể là V hoặc I; và axit amin tại vị trí 95 có thể là W, F, Y, I, V hoặc L.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên liên kết với TIGIT ở người bao gồm: chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 94 hoặc biến thể của chúng chứa lên đến 30 đột biến thay thế axit amin, và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 95 hoặc biến thể của chúng chứa lên đến 18 đột biến thay thế axit amin. Theo một phương án, chuỗi nặng bao

gồm biến thể của trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 94 bao gồm các đột biến thay thế axit amin tại một hoặc nhiều vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 5, 9, 11, 12, 16, 20, 38, 40, 44, 56, 57, 61, 62, 65, 67, 68, 72, 74, 76, 79, 85, 87, 89, 91, 92, 104 và 111. Theo một phương án, chuỗi nặng bao gồm biến thể của trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 94 bao gồm các đột biến thay thế axit amin tại một hoặc nhiều vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 5, 9, 11, 12, 16, 20, 38, 40, 44, 56, 57, 61, 62, 65, 67, 68, 72, 74, 76, 79, 85, 87, 89, 91, 92, 104 và 111, trong đó: axit amin tại vị trí 5 có thể là Q hoặc V, axit amin tại vị trí 9 có thể là P hoặc A, axit amin tại vị trí 11 có thể là V hoặc L, axit amin tại vị trí 12 có thể là V hoặc K, axit amin tại vị trí 16 có thể là S hoặc A, axit amin tại vị trí 20 có thể là M hoặc V, axit amin tại vị trí 38 có thể là K hoặc R, axit amin tại vị trí 40 có thể là K hoặc A, axit amin tại vị trí 44 có thể là G hoặc R, axit amin tại vị trí 56 có thể là D, R, L, K, F, S, Y hoặc V, axit amin tại vị trí 57 có thể là G, R, N, Q, E, L, K, S, Y hoặc V, axit amin tại vị trí 61 có thể là N, A hoặc S, axit amin tại vị trí 62 có thể là E hoặc Q, axit amin tại vị trí 65 có thể là K hoặc Q, axit amin tại vị trí 67 có thể là R hoặc K, axit amin tại vị trí 68 có thể là A hoặc V, axit amin tại vị trí 72 có thể là S hoặc R, axit amin tại vị trí 74 có thể là K hoặc T, axit amin tại vị trí 76 có thể là S, I, A hoặc T, axit amin tại vị trí 79 có thể là A hoặc V, axit amin tại vị trí 85 có thể là R hoặc S, axit amin tại vị trí 87 có thể là T hoặc R, axit amin tại vị trí 89 có thể là D hoặc E, axit amin tại vị trí 91 có thể là S hoặc T, axit amin tại vị trí 92 có thể là A hoặc V, axit amin tại vị trí 104 có thể là W, A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V hoặc Y, và axit amin tại vị trí 111 có thể là A hoặc Q. Theo một phương án, chuỗi nhẹ bao gồm biến thể của trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 95 bao gồm các đột biến thay thế axit amin tại một hoặc nhiều vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 9, 17, 18, 40, 43, 45, 48, 50, 51, 70, 72, 74, 76, 83, 84, 100, 103 và 106. Theo một phương án, chuỗi nhẹ bao gồm biến thể của trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 95 bao gồm các đột biến thay thế axit amin tại một hoặc nhiều vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 9, 17, 18, 40, 43, 45, 48, 50, 51, 70, 72, 74, 76, 83, 84, 100, 103 và 106, trong đó axit amin tại vị trí 9 có thể là A hoặc S, axit amin tại vị trí 17 có thể là E hoặc D, axit amin tại vị trí 18 có thể là T hoặc R, axit amin tại vị trí 40 có thể là Q hoặc P, axit amin tại vị trí 43 có thể là S, A hoặc V, axit amin tại vị trí 45 có thể là Q hoặc K, axit amin tại vị trí 48 có thể là V hoặc I, axit amin tại vị trí 50 có thể là N, A, Y, W, S, T, I hoặc V, axit amin tại vị trí 51 có thể là A, N, I,

L, T hoặc V, axit amin tại vị trí 70 có thể là Q hoặc D, axit amin tại vị trí 72 có thể là S hoặc T, axit amin tại vị trí 74 có thể là K hoặc T, axit amin tại vị trí 76 có thể là N hoặc S, axit amin tại vị trí 83 có thể là F hoặc V, axit amin tại vị trí 84 có thể là G hoặc A, axit amin tại vị trí 100 có thể là A hoặc Q, axit amin tại vị trí 103 có thể là T hoặc R và axit amin tại vị trí tại vị trí 106 có thể là L hoặc I.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên liên kết với TIGIT ở người bao gồm: chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 124 hoặc biến thể của chúng chứa lên đến 10 đột biến thay thế axit amin, và/hoặc chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 130 hoặc biến thể của chúng chứa lên đến 5 đột biến thay thế axit amin. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có SEQ ID NO: 124 hoặc biến thể của chúng, trong đó biến thể bao gồm các đột biến thay thế tại một hoặc nhiều vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 16, 44, 56, 57, 61, 72, 74, 76, 79, 85, 89, 92 và 104. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có SEQ ID NO: 124 hoặc biến thể của chúng, trong đó biến thể bao gồm các đột biến thay thế tại một hoặc nhiều vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 16, 44, 56, 57, 61, 72, 74, 76, 79, 85, 89, 92 và 104, trong đó axit amin tại vị trí 16 có thể là A hoặc S, axit amin tại vị trí 44 có thể là R hoặc G, axit amin tại vị trí 56 có thể là D, R, L, K, F, S, Y hoặc V, axit amin tại vị trí 57 có thể là G, R, N, Q, E, L K, S, Y hoặc V, axit amin tại vị trí 61 có thể là S hoặc A, axit amin tại vị trí 72 có thể là R hoặc S, axit amin tại vị trí 74 có thể là T hoặc K, axit amin tại vị trí 76 có thể là A hoặc T hoặc I, axit amin tại vị trí 79 có thể là A hoặc V, axit amin tại vị trí 85 có thể là S hoặc R, axit amin tại vị trí 89 có thể là E hoặc D, axit amin tại vị trí 92 có thể là A hoặc V và axit amin tại vị trí 104 có thể là W, A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V hoặc Y. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 130 hoặc biến thể của chúng bao gồm các đột biến thay thế tại một hoặc nhiều vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 43, 50, 51, 70 và 83. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 130 hoặc biến thể

của chúng bao gồm các đột biến thay thế tại một hoặc nhiều vị trí được chọn từ nhóm bao gồm: 43, 50, 51, 70 và 83, trong đó axit amin tại vị trí 43 có thể là S, A hoặc V, axit amin tại vị trí 50 có thể là N, A, Y, W, S, T, I hoặc V, axit amin tại vị trí 51 có thể là A, N, I, L, T hoặc V, axit amin tại vị trí 70 có thể là Q hoặc D, và axit amin tại vị trí 83 có thể là F hoặc V.

Theo một phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được phân lập.

Theo một phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó là kháng thể tái tổ hợp.

Theo một phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó là kháng thể có chiều dài đầy đủ.

Theo một phương án bất kỳ trong số các phương án được đề cập ở trên, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế có thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có: (a) vùng bất kỳ trong số các vùng biến đổi chuỗi nặng được mô tả ở trên và (b) peptit dẫn đầu (ví dụ, peptit dẫn đầu có SEQ ID NO: 53). Theo một phương án bất kỳ trong số các phương án được đề cập ở trên, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế có thể chứa vùng chuỗi nặng nhẹ gồm có: (a) chuỗi nặng bất kỳ trong số các chuỗi nặng nhẹ được mô tả ở trên và (b) peptit dẫn đầu (ví dụ, peptit dẫn đầu có SEQ ID NO: 54).

Theo một phương án bất kỳ trong số các phương án được đề cập ở trên, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế là kháng thể bao gồm vùng bất kỳ trong số các vùng biến đổi chuỗi nặng được mô tả ở trên và vùng hằng định chuỗi nặng bất kỳ ở người. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế là của isotyp IgG, và bao gồm vùng hằng định chuỗi nặng của IgG1, IgG2, IgG3 hoặc IgG4 ở người. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế bao gồm miền hằng định chuỗi nặng của IgG1 ở người (SEQ ID NO: 86) hoặc biến thể của chúng, trong đó biến thể bao gồm lên đến 20 đột biến thay thế axit amin được cải biến. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế là kháng thể bao gồm miền hằng định chuỗi nặng của IgG1 ở người chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 86. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế bao gồm

miền hằng định chuỗi nặng của IgG1 ở người trong đó miền hằng định của IgG1 được bỏ qua quá trình fucosyl hóa. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế bao gồm miền hằng định chuỗi nặng của IgG4 hoặc biến thể của chúng, trong đó biến thể bao gồm lên đến 20 đột biến thay thế axit amin được cải biến. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế bao gồm miền hằng định chuỗi nặng của IgG4, trong đó axit amin tại vị trí 228 (sử dụng sơ đồ đánh số EU) được thay thế từ Ser thành Pro. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế bao gồm miền hằng định chuỗi nặng của IgG4 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 55.

Theo một phương án bất kỳ trong số các phương án được đề cập ở trên, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế có thể chứa vùng biến đổi bất kỳ trong số các vùng biến đổi chuỗi nhẹ được mô tả ở trên và miền hằng định chuỗi nhẹ ở người. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế bao gồm miền hằng định chuỗi nhẹ kappa ở người hoặc biến thể của chúng, trong đó biến thể bao gồm lên đến 20 đột biến thay thế axit amin được cải biến. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế bao gồm miền hằng định chuỗi nhẹ lamda ở người hoặc biến thể của chúng, trong đó biến thể bao gồm lên đến 20 đột biến thay thế axit amin được cải biến. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế bao gồm miền hằng định chuỗi nhẹ kappa ở người chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 56.

Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế bao gồm cấu trúc tetrame đầy đủ có hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng, trong đó mỗi chuỗi nhẹ bao gồm: vùng biến đổi bao gồm SEQ ID NO:132 và chuỗi nhẹ kappa ở người (SEQ ID NO:56); và mỗi chuỗi nặng bao gồm: vùng biến đổi bao gồm SEQ ID NO:128, vùng hằng định của IgG1 ở người (SEQ ID NO:86).

Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế bao gồm cấu trúc tetrame đầy đủ có hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng, trong đó mỗi chuỗi nhẹ bao gồm: vùng biến đổi bao gồm SEQ ID NO:130 và chuỗi nhẹ kappa ở người (SEQ ID NO:56); và mỗi chuỗi nặng bao gồm: vùng biến đổi bao gồm SEQ ID NO:127, vùng hằng định của IgG1 ở người (SEQ ID NO:86).

Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế bao gồm cấu trúc tetrame đầy đủ có hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng, trong đó mỗi chuỗi nhẹ bao gồm: vùng biến đổi bao gồm SEQ ID NO:133 và chuỗi nhẹ kapa ở người (SEQ ID NO:56); và mỗi chuỗi nặng bao gồm: vùng biến đổi bao gồm SEQ ID NO:128, vùng hằng định của IgG1 ở người (SEQ ID NO:86).

Theo một phương án bất kỳ trong số các phương án được đề cập ở trên, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế có thể được liên hợp với ít nhất một chất điều trị bệnh. Theo một phương án, trong đó chất điều trị bệnh bao gồm kháng thể thứ hai hoặc mảnh của chúng, chất điều biến miễn dịch, hoóc môn, chất gây độc tế bào, enzym, nuclit phóng xạ, kháng thể thứ hai được liên hợp với ít nhất một chất điều biến miễn dịch, enzym, nhãn phóng xạ, hoóc môn, oligonucleotit đối nghĩa, hoặc chất gây độc tế bào, hoặc hỗn hợp của chúng.

Sáng chế cũng đề xuất polypeptit được phân lập bao gồm trình tự axit amin có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 1-30, 37-52, 57-83 hoặc 88-151, hoặc mảnh có trình tự bất kỳ nêu trên.

Sáng chế cũng đề xuất axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể kháng TIGIT hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế. Theo một phương án, sáng chế đề xuất axit nucleic được phân lập mã hóa polypeptit bất kỳ trong số các polypeptit có SEQ ID NO: 1-30, 37-52, 57-64 hoặc 88-133, trong đó polypeptit nêu trên có thể tùy ý bao gồm trình tự dẫn đầu. Sáng chế cũng đề xuất vector biểu hiện bao gồm axit nucleic mã hóa polypeptit bất kỳ trong số các polypeptit có SEQ ID NO: 1-30, 37-52, 57-83 hoặc 88-167 (trong đó polypeptit nêu trên có thể tùy ý bao gồm trình tự dẫn đầu). Axit nucleic được phân lập này và các vector biểu hiện chứa chúng có thể được sử dụng để biểu hiện các kháng thể theo sáng chế hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng trong tế bào chủ tái tổ hợp. Do đó, sáng chế cũng đề xuất các tế bào chủ bao gồm axit nucleic được phân lập mã hóa polypeptit bất kỳ trong số các polypeptit có SEQ ID NO: 1-30, 37-52, 57-83 hoặc 88-151 (trong đó polypeptit nêu trên có thể tùy ý bao gồm trình tự dẫn đầu). Theo một phương án, tế bào chủ là tế bào buồng trứng của chuột Hamster Trung Quốc. Theo một phương án, tế bào chủ là tế bào nấm men, ví dụ tế bào *Pichia* hoặc tế bào chủ *Pichia pastoris*.

Sáng chế cũng đề xuất được phẩm chứa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế và chất mang hoặc chất pha loãng được dụng. Theo một phương án, chế phẩm này còn chứa chất điều trị bệnh. Theo một phương án, chất điều trị bệnh khác nữa được chọn từ nhóm bao gồm: kháng thể kháng PD1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng LAG3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng VISTA hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng BTLA hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng TIM3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng CTLA4 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng HVEM hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng CD27 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng CD137 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng OX40 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng CD28 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng PDL1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng PDL2 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng GITR hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ICOS hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng SIRP α hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ILT2 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ILT3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ILT4 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; và kháng thể kháng ILT5 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng 4-1BB hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Theo một phương án, kháng thể kháng PD1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được chọn từ nhóm bao gồm: pembrolizumab hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó và nivolumab hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83 hoặc 140; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 hoặc 141; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6, 74, 75, 76, 77, 78 hoặc 142. Theo một

phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm:

(i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 hoặc 147; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 hoặc 148; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6. Theo một phương án khác, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 134 hoặc 135; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng

biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa: (i) kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên kháng TIGIT theo sáng chế; và (ii) kháng thể kháng PD1 bao gồm trình tự chuỗi nặng có SEQ ID NO: 33 và trình tự biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 34. Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa: (a) kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên kháng TIGIT theo sáng chế; và (b) kháng thể kháng PD1 bao gồm trình tự chuỗi nặng có SEQ ID NO: 35 và trình tự biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 36. Theo một phương án, kháng thể kháng PD1 được dùng trước khi dùng kháng thể kháng TIGIT. Theo một phương án, kháng thể kháng PD1 được dùng từ 4 đến 10 ngày trước khi dùng kháng thể kháng TIGIT. Theo một phương án, phương pháp điều trị trước bằng kháng thể kháng PD1 có thể điều biến các tế bào miễn dịch do chức năng qua trung gian Fc được tăng cường của các kháng thể kháng TIGIT. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83 hoặc 140; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 hoặc 141; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6, 74, 75, 76, 77, 78 hoặc 142. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi

nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 hoặc 147; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 hoặc 148; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6. Theo một phương án khác, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 134 hoặc 135; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi

nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93.

Sáng chế cũng bao gồm hỗn hợp chứa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên kháng TIGIT theo sáng chế, kết hợp với một, hai hoặc nhiều hơn chất điều trị bệnh; trong đó chất điều trị bệnh thứ hai được chọn từ nhóm bao gồm: kháng thể kháng PD1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng LAG3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng VISTA hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng BTLA hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng TIM3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng CTLA4 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng HVEM hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng CD27 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng CD137 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng OX40 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng CD28 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng PDL1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng PDL2 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng GITR hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ICOS hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng SIRP α hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ILT2 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ILT3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ILT4 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ILT5 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; và kháng thể kháng 4-1BB hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83 hoặc 140; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình

tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 hoặc 141; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6, 74, 75, 76, 77, 78 hoặc 142. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 hoặc 147; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 hoặc 148; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6. Theo một phương án khác, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 134 hoặc 135; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu

trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93.

Sáng chế cũng đề xuất ống hoặc dụng cụ tiêm chứa kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể kháng TIGIT hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83 hoặc 140; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 hoặc 141; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6, 74, 75, 76, 77, 78 hoặc 142. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 hoặc 147; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 hoặc 148; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương

án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6. Theo một phương án khác, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 134 hoặc 135; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp sản xuất hoặc mảnh liên kết kháng nguyên kháng TIGIT theo sáng chế bao gồm các bước: nuôi cấy tế bào chủ bao gồm polynucleotit mã hóa chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể theo sáng chế (hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó) trong các điều kiện có lợi để biểu hiện polynucleotit; và tùy ý, thu hồi kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên từ tế bào chủ và/hoặc môi trường nuôi cấy. Theo một phương án, polynucleotit mã hóa chuỗi nặng và polynucleotit mã hóa chuỗi nhẹ trong vector đơn. Theo một phương án khác, polynucleotit mã hóa chuỗi nặng và polynucleotit mã hóa chuỗi nhẹ trong các vector khác nhau. Theo một phương án, polynucleotit mã hóa chuỗi nặng và polynucleotit mã hóa chuỗi nhẹ mã hóa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83 hoặc 140; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:5, 65, 66, 67, 68,69, 70, 71, 72, 73 hoặc 141; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:6, 74, 75, 76, 77, 78 hoặc 142. Theo một phương án khác, polynucleotit mã hóa chuỗi nặng và polynucleotit mã hóa chuỗi nhẹ mã hóa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 hoặc 147; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 hoặc 148; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án khác, polynucleotit mã hóa chuỗi nặng và polynucleotit mã hóa chuỗi nhẹ mã hóa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ

ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6. Theo một phương án khác, polynucleotit mã hóa chuỗi nặng và polynucleotit mã hóa chuỗi nhẹ mã hóa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62. Theo một phương án khác, polynucleotit mã hóa chuỗi nặng và polynucleotit mã hóa chuỗi nhẹ mã hóa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 134 hoặc 135; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án khác, polynucleotit mã hóa chuỗi nặng và polynucleotit mã hóa chuỗi nhẹ mã hóa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án khác, polynucleotit mã hóa chuỗi nặng và polynucleotit mã hóa chuỗi nhẹ mã hóa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng

bao gồm SEQ ID NO:128 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:132. Theo một phương án khác, polynucleotit mã hóa chuỗi nặng và polynucleotit mã hóa chuỗi nhẹ mã hóa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:127 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:130. Theo một phương án khác, polynucleotit mã hóa chuỗi nặng và polynucleotit mã hóa chuỗi nhẹ mã hóa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:128 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:133.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư cho đối tượng cần điều trị, bao gồm bước cho đối tượng dùng một lượng hữu hiệu của kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên kháng TIGIT theo sáng chế, tùy ý kết hợp với chất điều trị bệnh khác hoặc quy trình điều trị bệnh. Theo một phương án, đối tượng được điều trị là người. Theo một phương án, chất điều trị bệnh khác nữa được chọn từ nhóm bao gồm: kháng thể kháng PD1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng LAG3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng VISTA hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng BTLA hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng TIM3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng CTLA4 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng HVEM hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng CD27 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng CD137 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng OX40 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng CD28 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng PDL1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng PDL2 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng GITR hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ICOS hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng SIRP α hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ILT2 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ILT3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ILT4 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ILT5 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; và kháng thể kháng 4-1BB hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Theo một phương án, kháng thể kháng PD1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được chọn từ nhóm bao gồm: pembrolizumab hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó và

nivolumab hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83 hoặc 140; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 hoặc 141; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:6, 74, 75, 76, 77, 78 hoặc 142. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 hoặc 147; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 hoặc 148; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6. Theo một phương án khác, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit

amin nêu trong SEQ ID NO: 60; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 134 hoặc 135; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư cho đối tượng cần điều trị, bao gồm bước cho đối tượng dùng một lượng hữu hiệu của kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên kháng TIGIT theo sáng chế, và còn dùng kháng thể kháng PD1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Theo một phương án, kháng thể kháng PD1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được chọn từ nhóm bao gồm: pembrolizumab hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó và nivolumab hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83 hoặc 140; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69,

70, 71, 72, 73 hoặc 141; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6, 74, 75, 76, 77, 78 hoặc 142. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 hoặc 147; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 hoặc 148; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6. Theo một phương án khác, kháng TIGIT kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 134 hoặc 135; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự

axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều trị bệnh nhiễm trùng hoặc bệnh lây nhiễm cho đối tượng, bao gồm bước cho đối tượng dùng một lượng hữu hiệu của kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế, tùy ý kết hợp với chất điều trị bệnh khác hoặc quy trình điều trị bệnh. Theo một phương án, đối tượng được điều trị là người. Theo một phương án, chất điều trị bệnh khác nữa được chọn từ nhóm bao gồm: kháng thể kháng PD1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng LAG3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng VISTA hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng BTLA hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng TIM3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng CTLA4 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng HVEM hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng CD27 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng CD137 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng OX40 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng CD28 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng PDL1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng PDL2 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng GITR hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ICOS hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng SIRP α hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ILT2 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ILT3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ILT4 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; kháng thể kháng ILT5 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó; và kháng thể kháng 4-1BB hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Theo một

phương án, kháng thể kháng PD1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được chọn từ nhóm bao gồm: pembrolizumab hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó và nivolumab hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83 hoặc 140; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 hoặc 141; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:6, 74, 75, 76, 77, 78 hoặc 142. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 hoặc 147; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 hoặc 148; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6. Theo một phương án khác, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu

trong SEQ ID NO: 58; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:59; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 134 hoặc 135; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93.

Sáng chế cũng đề xuất vaccin bao gồm kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83 hoặc 140; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 hoặc 141; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:6, 74, 75, 76, 77, 78 hoặc 142. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm:

(i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 hoặc 147; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 hoặc 148; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6. Theo một phương án khác, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 134 hoặc 135; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương

án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, vacxin còn bao gồm kháng nguyên.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp phát hiện sự có mặt của TIGIT peptit hoặc mảnh của nó trong mẫu bao gồm cho mẫu tiếp xúc với kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế và phát hiện sự có mặt của phức hệ giữa kháng thể hoặc mảnh và peptit; trong đó việc phát hiện phức hệ chỉ ra sự có mặt của TIGIT peptit. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83 hoặc 140; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 hoặc 141; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6, 74, 75, 76, 77, 78 hoặc 142. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 hoặc 147; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 153; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 hoặc 148; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của

vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 134 hoặc 135; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp làm tăng hoạt tính của tế bào miễn dịch, bao gồm bước cho tế bào miễn dịch tiếp xúc với kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể

hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế. Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp làm tăng hoạt tính của tế bào miễn dịch, bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu của kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế. Theo một phương án, phương pháp này được sử dụng để: điều trị bệnh ung thư, điều trị bệnh nhiễm trùng hoặc bệnh lây nhiễm, hoặc làm tá dược của vaccin. Theo một phương án, sự tăng hoạt tính của tế bào miễn dịch có thể được phát hiện bằng cách đo sự tăng sinh của tế bào miễn dịch. Ví dụ, sự tăng hoạt tính của tế bào T có thể được phát hiện bằng cách đo sự tăng sinh của tế bào T. Theo một phương án, sự tăng hoạt tính của tế bào miễn dịch có thể được phát hiện bằng cách đo sự hoạt hóa tế bào T *ex vivo* trong mẫu thu được từ đối tượng này. Theo một phương án, sự tăng hoạt tính của tế bào T được xác định bằng cách: (i) đo phản ứng lympho bào hỗn hợp hoặc sự kích thích mAb kháng CD3 trực tiếp của thụ thể tế bào T (TCR) truyền tín hiệu để cảm ứng sự sản xuất xytokin được chọn từ nhóm bao gồm: IL-2, TNF α , IL-17, IFN γ , IL-1 β , GM-CSF, RANTES, IL-6, IL-8, IL-5 và IL-13; (ii) đo sự sản xuất được cảm ứng bởi SEB của một hoặc nhiều xytokin được chọn từ nhóm bao gồm: IL-2, TNF α , IL-17, IFN γ , GM-CSF, RANTES, IL-6, IL-8, IL-5 và IL-13; hoặc (iii) đo sự sản xuất được cảm ứng bởi TT của xytokin được chọn từ nhóm bao gồm: IL-2, TNF α , IL-17, IFN γ , GM-CSF, RANTES, IL-6, IL-8, IL-5 và IL-13. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82, 83 hoặc 140; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 hoặc 141; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6, 74, 75, 76, 77, 78 hoặc 142. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134, 135 hoặc 147; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin

nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 hoặc 148; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6. Theo một phương án khác, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 57; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 58; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 61; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 134 hoặc 135; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit

amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93.

Sáng chế cũng bao gồm phương pháp điều trị bệnh ung thư hoặc bệnh lây nhiễm cho đối tượng, bao gồm bước cho đối tượng dùng một lượng hữu hiệu của kháng thể đối kháng kháng TIGIT và kháng thể đối kháng kháng PD1, trong đó kháng thể kháng TIGIT có vai trò tăng đáp ứng lại kích thích khi được so sánh với kháng thể gốc. Như được sử dụng ở đây (trong bản mô tả này), “kháng thể gốc” dùng để chỉ kháng thể có vùng Fc kiểu đại và/hoặc sự glycosyl hóa kiểu đại (nghĩa là, mô hình glycosyl hóa do sự biểu hiện của polypeptit trong tế bào chủ động vật có vú không được thao tác di truyền). Chức năng tác động của kháng thể gốc có thể được làm tăng lên bằng cách gây đột biến vùng Fc của nó hoặc bằng cách biến đổi sự glycosyl hóa của nó (như được bàn luận chi tiết hơn dưới đây). Theo một phương án, kháng thể kháng PD1 được dùng trước khi dùng kháng thể gốc. Theo một phương án, kháng thể kháng PD1 được dùng từ 4 đến 10 ngày trước khi dùng kháng thể kháng TIGIT. Theo một phương án, phương pháp điều trị trước bằng kháng thể kháng PD1 có thể điều biến các tế bào miễn dịch do chức năng qua trung gian Fc được tăng cường của các kháng thể kháng TIGIT. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT bao gồm miền hằng định của IgG1 ở người. Theo một phương án, điều trị bằng các kháng thể kháng TIGIT và kháng PD1 không dẫn đến suy kiệt Tregs. Theo một phương án, kháng thể kháng PD1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được chọn từ nhóm bao gồm: pembrolizumab và nivolumab. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3 (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa

trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 134 hoặc 135; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90 (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93.

Sáng chế cũng bao gồm phương pháp điều trị bệnh ung thư hoặc bệnh lây nhiễm cho đối tượng, bao gồm bước cho đối tượng dùng một lượng hữu hiệu của kháng thể đối kháng kháng TIGIT và kháng thể đối kháng kháng PD1, trong đó kháng thể kháng TIGIT được bỏ qua quá trình fucosyl hóa. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 2; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 3 (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 4; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 5; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 6. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 89, 134 hoặc 135; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90 (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình

tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93. Theo một phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm: (i) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 88; (ii) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134; (iii) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 90; (iv) CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 91; (v) CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92; và (vi) CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 93.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp làm tăng hoạt tính chống khối u của kháng thể kháng TIGIT bao gồm: thu kháng thể kháng TIGIT gốc và làm tăng chức năng tác động của kháng thể kháng TIGIT gốc; trong đó hoạt tính của kháng thể kháng TIGIT tạo thành tăng lên so với kháng thể kháng TIGIT gốc. Như được sử dụng ở đây, “kháng thể gốc” dùng để chỉ kháng thể có vùng Fc kiểu đại và/hoặc sự glycosyl hóa kiểu đại (nghĩa là, mô hình glycosyl hóa do sự biểu hiện của polypeptit ở tế bào chủ động vật có vú không được thao tác di truyền). Chức năng tác động của kháng thể gốc có thể được làm tăng lên bằng cách gây đột biến vùng Fc của nó hoặc bằng cách biến đổi sự glycosyl hóa của nó, ví dụ bằng cách tạo ra kháng thể được bỏ qua quá trình fucosyl hóa (như được bàn luận chi tiết hơn dưới đây). Theo một phương án, chức năng tác động của kháng thể kháng TIGIT gốc được làm tăng lên bằng cách tạo ra các đột biến trong vùng Fc của kháng thể kháng TIGIT gốc. Theo một phương án khác, chức năng tác động của kháng thể kháng TIGIT gốc được làm tăng lên bằng cách loại bỏ các gốc fucoza khỏi kháng thể, hoặc biểu hiện kháng thể trong tế bào chủ được thao tác di truyền để loại bỏ hoạt tính của enzym mà bổ sung fucoza vào các glycoprotein.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 thể hiện liên kết của kháng thể 14A6 với TIGIT ở người và ở khỉ rhesus (được biểu hiện trong các tế bào CHO-K1).

Fig. 2 thể hiện liên kết của kháng thể 28H5 với TIGIT ở người và ở khỉ rhesus (được biểu hiện trong các tế bào CHO-K1).

Fig. 3 thể hiện rằng các kháng thể 14A6 và 28H5 phong bế sự tương tác của hCD155 với hTIGIT như được xác định bởi thử nghiệm phong bế ELISA trên cơ sở tế bào.

Fig. 4 thể hiện liên kết của kháng thể 31C6 với TIGIT ở người và ở khỉ rhesus (được biểu hiện trong các tế bào CHO-K1), và cũng thể hiện rằng kháng thể 31C6 phong bế sự tương tác của hCD155 với hTIGIT.

Fig. 5 thể hiện hoạt tính của các kháng thể 14A6 và 28H5 trong thử nghiệm tế bào T *in vitro*.

Fig. 6 thể hiện hoạt tính của các kháng thể 14A6 và 31C6 trong thử nghiệm tế bào T *in vitro*.

Fig. 7 thể hiện sự biểu hiện của TIGIT, CD226, CD155 và CD96 trong dòng tế bào T sơ cấp ở người. Vào ngày thứ 3, dòng vô tính BC4-49 thể hiện sự điều hòa tăng cao nhất của sự điều hòa giảm tùy ý của TIGIT (âm tính) của CD226 (dương tính)

Các hình vẽ Fig. 8A và Fig. 8B thể hiện hoạt tính của các kháng thể kháng TIGIT khác nhau trong thử nghiệm tế bào T *in vitro*. Điều này thể hiện rằng các kháng thể kháng TIGIT MBS43 và 14A6, 37D10 và 28H5 giải cứu đáp ứng IFN γ trong các tế bào T sơ cấp ở người.

Các hình vẽ từ Fig. 9A đến Fig. 9D thể hiện tác dụng của việc dùng đồng thời kháng thể chuột chống kháng TIGIT chuột nhất (GIGD7) và kháng thể kháng PD-1 chuột nhất so với phương pháp điều trị bằng liệu pháp đơn đối với sự đáp ứng chống khối u của chuột nhất được cấy dưới da với dòng tế bào CT26 (n=10/nhóm). Việc điều trị được khởi đầu khi các khối u đạt đến kích thước từ 75 mm³ đến 115 mm³.

Fig. 10 thể hiện tác dụng của isotyp Fc đối với hoạt tính chống khối u của kháng thể kháng TIGIT (18G10) kết hợp với kháng thể kháng PD-1 trong mô hình khối u của động vật.

Các hình vẽ từ Fig. 11A đến Fig. 11C thể hiện tác dụng của isotyp Fc đối với hoạt tính chống khối u của kháng thể kháng TIGIT (18G10) kết hợp với kháng thể kháng PD-1 trong mô hình khối u của động vật.

Fig. 12 thể hiện tác dụng của isotyp Fc đối với hoạt tính chống khối u của kháng thể kháng TIGIT (11A11) kết hợp với kháng thể kháng PD-1 trong mô hình khối u của động vật.

Các hình vẽ từ Fig. 13A đến Fig. 13C thể hiện tác dụng của isotyp Fc đối với hoạt tính chống khối u của kháng thể kháng TIGIT (11A11) kết hợp với kháng thể kháng PD-1 trong mô hình khối u của động vật.

Fig. 14 thể hiện bản đồ nhiệt chỉ ra các vùng của TIGIT ở người được bảo vệ mạnh hoặc yếu khỏi sự đơteri hóa bằng liên kết của kháng thể 14A6. Trình tự axit amin được thể hiện trong bản đồ nhiệt tương ứng với SEQ ID NO:87.

Fig. 15 thể hiện bản đồ nhiệt chỉ ra các vùng của TIGIT ở người được bảo vệ mạnh hoặc yếu khỏi sự đơteri hóa bằng liên kết của kháng thể 31C6. Trình tự axit amin được thể hiện trong bản đồ nhiệt tương ứng với SEQ ID NO:87.

Fig. 16 thể hiện tác dụng của các dòng vô tính được nhân hóa khác nhau của 31C6 so với các kháng thể gốc và thể khảm trong thử nghiệm chức năng tế bào T được thao tác di truyền.

Fig. 17 thể hiện tác dụng của các dòng vô tính được nhân hóa khác nhau của 31C6 so với các kháng thể thể khảm trong thử nghiệm chức năng tế bào T sơ cấp.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các từ viết tắt

Trong toàn bộ phần mô tả và các ví dụ theo sáng chế các từ viết tắt sau đây sẽ được sử dụng:

ADCC	Phản ứng gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể
CDC	Phản ứng gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể
CDR	Vùng xác định tính hỗ trợ trong vùng biến đổi globulin miễn dịch, được xác định bằng cách sử dụng hệ thống đánh số Kabat
CHO	Buồng trứng của chuột Hamster Trung Quốc
ELISA	Kỹ thuật miễn dịch gắn enzym
FR	Vùng khung của kháng thể: vùng biến đổi của globulin miễn dịch loại trừ các vùng CDR.
HRP	Peroxidaza ở cây cải ngựa
IFN	interferon
IC50	nồng độ dẫn đến ức chế 50%
IgG	Globulin miễn dịch G

Kabat	Sự sắp hàng globulin miễn dịch và hệ thống đánh số được khai phá bởi Elvin A. Kabat ((1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.)
mAb hoặc Mab hoặc MAb	Kháng thể đơn dòng
SEB	Độc tố ruột nhóm B của tụ cầu
TT	Giải độc tố uốn ván
Vùng V	Đoạn của các chuỗi IgG có thể biến đổi về trình tự giữa các kháng thể khác nhau. Nó kéo dài đến gốc Kabat 109 trong chuỗi nhẹ và 113 trong chuỗi nặng.
VH	Vùng biến đổi chuỗi nặng của globulin miễn dịch
VK	Vùng biến đổi chuỗi nhẹ kapa của globulin miễn dịch

Các định nghĩa

Để sáng chế có thể được hiểu một cách dễ dàng hơn, các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học đã biết được định nghĩa cụ thể dưới đây. Trừ khi có quy định khác trong tài liệu này, tất cả các thuật ngữ khoa học và kỹ thuật khác được sử dụng ở đây có nghĩa thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế thuộc về.

Như được sử dụng ở đây, bao gồm các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo, dạng số ít được dùng tương ứng như dạng số nhiều trừ khi có quy định khác.

"Việc dùng" và "việc điều trị," khi nó được áp dụng cho đối tượng thử nghiệm, động vật, người, tế bào, mô, hoặc gan, hoặc dịch sinh học, dùng để chỉ sự tiếp xúc của tác nhân chẩn đoán, điều trị bệnh, tác nhân được ngoại sinh, hoặc chế phẩm cho động vật, người, đối tượng, tế bào, mô, hoặc gan, hoặc dịch sinh học. Việc điều trị tế bào bao gồm sự tiếp xúc của chất thử với tế bào, cũng như sự tiếp xúc của chất thử với chất dịch, trong đó chất dịch tiếp xúc với tế bào. "Việc dùng" và "việc điều trị" cũng có nghĩa là các phương pháp điều trị *in vitro* và *ex vivo*, ví dụ, cho tế bào, bằng chất thử, hợp chất chẩn đoán, hợp chất liên kết, hoặc bằng một tế bào khác.

"Điều trị" hoặc "đang điều trị" có nghĩa là sử dụng chất điều trị bệnh, như chế phẩm chứa kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên

theo sáng chế, bên trong hoặc bên ngoài cho đối tượng hoặc bệnh nhân có một hoặc nhiều triệu chứng bệnh, hoặc bị nghi ngờ bị bệnh, đối với tác nhân có hoạt tính điều trị bệnh. Thông thường, tác nhân được sử dụng với lượng hữu hiệu để làm giảm bớt một hoặc nhiều triệu chứng bệnh ở đối tượng hoặc dân số được điều trị, bằng cách gây ra sự thoái triển hoặc ức chế sự tiến triển của các triệu chứng này bằng mức đáng kể về mặt lâm sàng bất kỳ. Lượng chất điều trị bệnh có hiệu quả để làm giảm bớt triệu chứng bệnh cụ thể bất kỳ có thể thay đổi theo các yếu tố như giai đoạn của bệnh, độ tuổi, và cân nặng của bệnh nhân, và khả năng của thuốc để gây ra đáp ứng mong muốn ở đối tượng. Triệu chứng bệnh có được làm giảm bớt hay không là có thể được đánh giá bằng phép đo lâm sàng bất kỳ thường được sử dụng bởi bác sĩ hoặc nhà cung cấp dịch vụ chăm sóc sức khỏe chuyên nghiệp khác để đánh giá tính nghiêm trọng hoặc tình trạng tiến triển của triệu chứng đó.

TIGIT

Thuật ngữ TIGIT gồm TIGIT ở người, TIGIT ở khỉ cynomolgous và TIGIT ở khỉ rhesus cũng như các mảnh của chúng như mảnh trưởng thành của chúng thiếu peptit tín hiệu. Theo một phương án của sáng chế, trình tự axit amin của TIGIT ở người chứa trình tự axit amin được bộc lộ trong các gốc axit amin 25-244 của trình tự có số hiệu lưu giữ ngân hàng gen NP_776160.2 (SEQ ID NO: 31). (Các gốc axit amin 1-24 của SEQ ID NO:31 tương ứng với peptit dẫn đầu).

Theo một phương án của sáng chế, trình tự axit amin của khỉ cynomolgous, ví dụ, *Macaca fascicularis* TIGIT chứa trình tự axit amin được bộc lộ trong (SEQ ID NO: 32); xem cả số hiệu lưu giữ ngân hàng gen XP_005548157. Trình tự axit amin của TIGIT ở khỉ rhesus giống hệt với trình tự axit amin của TIGIT ở khỉ cynomolgous. (Các gốc axit amin 1-24 của SEQ ID NO:32 tương ứng với peptit dẫn đầu).

Các kháng thể kháng TIGIT và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng

Sáng chế đề xuất các kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng liên kết với TIGIT ở người và sử dụng các kháng thể hoặc các mảnh này. Theo một số phương án, các kháng thể kháng TIGIT được phân lập.

Như được sử dụng ở đây, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó dùng để chỉ kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với TIGIT ở người. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó "liên kết đặc hiệu với TIGIT ở người" là kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT ở người với trị số KD bằng khoảng 1 nM hoặc ái lực cao hơn (ví dụ, 1 nM-2 pM, 1 nM, 100 pM, 10 pM hoặc 2 pM), nhưng không liên kết với các protein khác thiếu trình tự này. Ví dụ, kháng thể "liên kết đặc hiệu" với TIGIT ở người không liên kết với CD226 ở người, CD155 ở người và CD112 ở người. Theo một ví dụ khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên liên kết đặc hiệu với TIGIT ở người có thể liên kết với dạng được gắn nhãn FLAG® của TIGIT ở người nhưng sẽ không liên kết với protein được gắn nhãn FLAG® khác mà thiếu epitop TIGIT ở người. Theo một phương án, kháng thể theo sáng chế liên kết đặc hiệu với TIGIT ở người cũng được phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgus và khỉ rhesus. Như được sử dụng ở đây "tính phản ứng chéo" dùng để chỉ khả năng kháng thể phản ứng với protein tương đồng từ các loài khác. Liệu kháng thể có liên kết đặc hiệu với TIGIT ở người hay không là có thể được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các ví dụ về các thử nghiệm đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này để xác định ái lực liên kết gồm cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET).

Sáng chế bao gồm các kháng thể kháng TIGIT và phương pháp sử dụng chúng. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "kháng thể" dùng để chỉ dạng bất kỳ của kháng thể thể hiện hoạt tính sinh học mong muốn của nó. Do đó, nó được sử dụng theo nghĩa rộng nhất và cụ thể là bao hàm, nhưng không giới hạn ở, kháng thể đơn dòng (gồm kháng thể đơn dòng có chiều dài đầy đủ bao gồm hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng), các kháng thể đa dòng, các kháng thể đa đặc hiệu (ví dụ, các kháng thể đặc hiệu kép), Các kháng thể được nhân hóa, kháng thể đầy đủ ở người, kháng thể thể khảm và các kháng thể miễn đơn được làm giống kháng thể của các loài trong họ lạc đà (được lạc đà hóa).

Sáng chế bao gồm các kháng thể kháng TIGIT gốc không phải người (ví dụ chuột nhắt và bộ gặm nhấm) và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng và phương pháp sử dụng chúng. Các kháng thể này có thể được cải biến để sử dụng theo dự định, như việc nhân hóa các kháng thể để sử dụng kháng thể hoặc mảnh để điều trị bệnh cho người.

Sáng chế bao gồm các mảnh liên kết kháng nguyên kháng TIGIT và phương pháp sử dụng chúng. Như được sử dụng ở đây, trừ khi có quy định khác, "mảnh kháng thể" hoặc "mảnh liên kết kháng nguyên" dùng để chỉ các mảnh liên kết kháng nguyên của các kháng thể, *nghĩa là* mảnh kháng thể giữ lại khả năng liên kết đặc hiệu với kháng nguyên được liên kết bởi kháng thể có chiều dài đầy đủ, *ví dụ* mảnh giữ lại một hoặc nhiều vùng CDR. Các ví dụ về mảnh liên kết kháng nguyên gồm, nhưng không giới hạn ở, các mảnh Fab, Fab', F(ab')₂, và Fv; kháng thể thể hai; các kháng thể tuyến tính; phân tử kháng thể chuỗi đơn, *ví dụ*, sc-Fv; các kháng thể miền đơn và các kháng thể đa đặc hiệu được tạo ra từ các mảnh kháng thể.

Sáng chế bao gồm các mảnh Fab kháng TIGIT và phương pháp sử dụng chúng. "Mảnh Fab" có cấu tạo gồm một chuỗi nhẹ và C_{H1} và vùng biến đổi của một chuỗi nặng. Chuỗi nặng của phân tử Fab không thể tạo ra liên kết disulfua với phân tử chuỗi nặng khác. "Mảnh Fab" có thể là sản phẩm của sự phân cắt kháng thể bằng papain.

Sáng chế bao gồm các kháng thể kháng TIGIT và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng bao gồm vùng Fc và phương pháp sử dụng chúng. Vùng "Fc" chứa hai mảnh chuỗi nặng bao gồm các miền C_{H1} và C_{H2} của kháng thể. Hai mảnh chuỗi nặng được giữ cùng nhau bởi hai hoặc nhiều liên kết disulfua và bằng các tương tác kỵ nước của các miền C_{H3}.

Sáng chế bao gồm mảnh Fab' kháng TIGIT và phương pháp sử dụng chúng. "Mảnh Fab'" chứa một chuỗi nhẹ và một phần hoặc mảnh của một chuỗi nặng chứa miền V_H và miền C_{H1} và cả vùng giữa các miền C_{H1} và C_{H2}, để cho liên kết disulfua liên chuỗi có thể được tạo ra giữa hai chuỗi nặng của hai mảnh Fab' để tạo ra phân tử F(ab')₂.

Sáng chế bao gồm mảnh F(ab')₂ kháng TIGIT và phương pháp sử dụng chúng. "Mảnh F(ab')₂" chứa hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng chứa một phần của vùng hằng định giữa các miền C_{H1} và C_{H2}, để cho liên kết disulfua liên chuỗi được tạo ra giữa hai chuỗi nặng. Mảnh F(ab')₂ do đó bao gồm hai mảnh Fab' được giữ cùng nhau bằng liên kết disulfua giữa hai chuỗi nặng. "Mảnh F(ab')₂" có thể là sản phẩm của sự phân cắt kháng thể bằng pepsin.

Sáng chế bao gồm mảnh Fv kháng TIGIT và phương pháp sử dụng chúng. "Vùng Fv" bao gồm vùng biến đổi từ cả hai chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, nhưng thiếu các vùng hằng định.

Sáng chế bao gồm các mảnh scFv kháng TIGIT và phương pháp sử dụng chúng. Thuật ngữ kháng thể "Fv chuỗi đơn" hoặc "scFv" dùng để chỉ các mảnh kháng thể bao gồm các miền V_H và V_L của kháng thể, trong đó các miền này có mặt trong chuỗi polypeptit đơn. Nhìn chung, polypeptit Fv còn bao gồm trình tự liên kết polypeptit giữa các miền V_H và V_L mà có khả năng làm cho scFv tạo ra cấu trúc mong muốn đối với liên kết kháng nguyên. Để xem xét lại scFv, xem Pluckthun (1994) *THE PHARMACOLOGY OF MONOCLONAL ANTIBODIES*, vol. 113, Rosenberg và Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315. Xem cả, Công bố đơn Patent quốc tế số WO 88/01649 và Patent Mỹ số 4,946, 778 và 5,260,203.

Sáng chế bao gồm các kháng thể miền kháng TIGIT và phương pháp sử dụng chúng. "Kháng thể miền" là mảnh globulin có chức năng miễn dịch chỉ chứa vùng biến đổi của chuỗi nặng hoặc vùng biến đổi của chuỗi nhẹ. Trong một số trường hợp, hai hoặc nhiều vùng V_H được gắn cộng hóa trị với trình tự liên kết peptit để tạo ra kháng thể miền hai giá. Hai vùng V_H của kháng thể miền hai giá có thể hướng đích các kháng nguyên giống hoặc khác nhau.

Sáng chế bao gồm các kháng thể hai giá kháng TIGIT và phương pháp sử dụng chúng. "Kháng thể hai giá" bao gồm hai vị trí liên kết kháng nguyên. Trong một số trường hợp, hai vị trí liên kết có tính đặc hiệu kháng nguyên giống nhau. Tuy nhiên, các kháng thể hai giá có thể là đặc hiệu kép (xem như dưới đây).

Sáng chế bao gồm các kháng thể miền đơn được làm giống kháng thể của các loài trong họ lạc đà kháng TIGIT và phương pháp sử dụng chúng. Theo một số phương án, các kháng thể trong bản mô tả này cũng gồm các kháng thể miền đơn được làm giống kháng thể của các loài trong họ lạc đà. Xem, ví dụ, Muyldermans *et al.* (2001) *Trends Biochem. Sci.* 26:230; Reichmann *et al.* (1999) *J. Immunol. Methods* 231:25; WO 94/04678; WO 94/25591; Patent Mỹ số 6,005,079). Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể miền đơn bao gồm hai miền V_H với các cải biến để cho kháng thể miền đơn được tạo ra.

Sáng chế bao gồm kháng thể thể hai (diabody) kháng TIGIT và phương pháp sử dụng chúng. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "kháng thể thể hai" dùng để chỉ các mảnh kháng thể nhỏ với hai vị trí liên kết kháng nguyên, mà các mảnh bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng (V_H) được nối với miền biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) trong cùng một chuỗi polypeptit (V_H - V_L hoặc V_L - V_H). Bằng cách sử dụng trình tự liên kết mà quá ngắn để cho phép bắt cặp giữa hai miền trên cùng một chuỗi, các miền này được ép buộc bắt cặp với miền bổ trợ của một chuỗi khác và tạo ra hai vị trí liên kết kháng nguyên. Kháng thể thể hai được mô tả đầy đủ hơn trong, ví dụ, EP 404,097; WO 93/11161; và Holliger *et al.* (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448. Để xem xét các biến thể kháng thể được thao tác di truyền, các tác giả thường xem tài liệu Holliger và Hudson (2005) *Nat. Biotechnol.* 23:1126-1136.

Thông thường, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế được cải biến theo cách nào đó giữ lại ít nhất là 10% hoạt tính liên kết của nó (khi được so sánh với kháng thể gốc) khi hoạt tính được biểu hiện trên cơ sở phân tử gam. Tốt hơn nếu kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế giữ lại ít nhất là 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% hoặc 100% hoặc nhiều hơn ái lực liên kết TIGIT so với kháng thể gốc. Cũng dự tính được rằng kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế có thể gồm các đột biến thay thế axit amin bảo toàn hoặc không bảo toàn (được đề cập đến dưới dạng "các biến thể bảo toàn" hoặc "các biến thể được bảo toàn chức năng" của kháng thể) gần như không làm biến đổi hoạt tính sinh học của nó.

Sáng chế bao gồm các kháng thể kháng TIGIT được phân lập và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng và phương pháp sử dụng chúng. Các kháng thể "được phân lập" hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng không chứa ít nhất một phần các phân tử sinh học khác từ tế bào hoặc môi trường nuôi cấy tế bào trong đó chúng được tạo ra. Các phân tử sinh học này gồm axit nucleic, protein, lipid, hydrat cacbon, hoặc vật liệu khác như cặn tế bào và môi trường sinh trưởng. Kháng thể được phân lập hoặc mảnh liên kết kháng nguyên có thể không chứa thêm ít nhất một phần các thành phần của hệ thống biểu hiện như các phân tử sinh học từ tế bào chủ hoặc môi trường sinh trưởng của nó. Nhìn chung, thuật ngữ "được phân lập" được dùng để chỉ sự không có mặt hoàn toàn của các phân tử sinh học này hoặc sự không có mặt nước, dung dịch đệm, hoặc muối hoặc các thành phần của được phẩm mà gồm các kháng thể hoặc mảnh.

Sáng chế bao gồm kháng thể đơn dòng kháng TIGIT và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng cũng như các chế phẩm đơn dòng bao gồm nhiều kháng thể đơn dòng được phân lập. Thuật ngữ "kháng thể đơn dòng", như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ chủng loại của các kháng thể gần như đồng nhất, *nghĩa là*, phân tử kháng thể bao gồm chủng loại giống hệt về trình tự axit amin ngoại trừ các đột biến có trong tự nhiên có thể có mà có thể có mặt với các lượng nhỏ. Ngược lại, dạng bào chế kháng thể (đa dòng) truyền thống thông thường gồm vô số các kháng thể khác nhau có các trình tự axit amin khác nhau trong miền biến đổi của chúng, cụ thể là các CDR của chúng thường đặc hiệu với các epitop khác nhau. Từ bỏ nghĩa "đơn dòng" dùng để chỉ đặc tính của kháng thể thu được từ chủng loại gần như đồng nhất của các kháng thể, và không được giải thích là cần sản xuất kháng thể này bằng phương pháp cụ thể bất kỳ. Ví dụ, kháng thể đơn dòng được sử dụng theo sáng chế có thể được tạo ra bằng phương pháp lai dòng tế bào được mô tả đầu tiên bởi Kohler *et al.* (1975) *Nature* 256: 495, hoặc có thể được tạo ra bằng phương pháp ADN tái tổ hợp (xem, ví dụ, Patent Mỹ số 4,816,567). "Kháng thể đơn dòng" cũng có thể được phân lập từ các thư viện kháng thể thể thực khuẩn sử dụng các kỹ thuật được mô tả trong Clackson *et al.* (1991) *Nature* 352: 624-628 và Marks *et al.* (1991) *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 chẳng hạn. Xem cả Presta (2005) *J. Allergy Clin. Immunol.* 116:731.

Sáng chế bao gồm kháng thể thể khảm kháng TIGIT (ví dụ, miền hằng định ở người/miền biến đổi ở chuột nhắt) và phương pháp sử dụng chúng. Như được sử dụng ở đây, "kháng thể thể khảm" là kháng thể có miền biến đổi từ kháng thể thứ nhất và miền hằng định từ kháng thể thứ hai, trong đó các kháng thể thứ nhất và thứ hai từ các loài khác nhau. (Patent Mỹ số 4,816,567; và Morrison *et al.*, (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 6851-6855). Thông thường, miền biến đổi thu được từ kháng thể từ động vật thí nghiệm ("kháng thể gốc"), như bộ gặm nhấm, và trình tự miền hằng định thu được từ các kháng thể người, để cho kháng thể thể khảm tạo thành sẽ ít có khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch bất lợi cho đối tượng người hơn so với kháng thể gốc (ví dụ, chuột nhắt).

Sáng chế bao gồm các kháng thể kháng TIGIT được nhân hóa và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng (ví dụ, các kháng thể chuột cống hoặc chuột nhắt đã được nhân hóa) và phương pháp sử dụng chúng. Sáng chế gồm kiểu được nhân hóa bất kỳ của

kháng thể 14A6 (bao gồm SEQ ID NO:7 và 8), kháng thể 28H5 (bao gồm SEQ ID NO:63 và 64) và kháng thể 31C6 (bao gồm SEQ ID NO: 94-95). Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "kháng thể được nhân hóa" dùng để chỉ các dạng của kháng thể chứa các trình tự từ cả các kháng thể người và không phải người (ví dụ, chuột nhắt hoặc chuột cống). Nhìn chung, kháng thể được nhân hóa sẽ gần như bao gồm tất cả trong số ít nhất một, và thông thường là hai, miền biến đổi, trong đó tất cả hoặc gần như là tất cả các vòng siêu biến tương ứng với các vòng siêu biến của globulin miễn dịch không phải người, và tất cả hoặc gần như là tất cả các vùng khung (FR) là các vùng khung của trình tự globulin miễn dịch ở người. Kháng thể được nhân hóa có thể tùy ý chứa ít nhất một phần của vùng hằng định (Fc) globulin miễn dịch ở người.

Nhìn chung, đơn vị cấu trúc của kháng thể cơ bản bao gồm tetrame. Mỗi tetrame gồm hai cặp chuỗi polypeptit giống hệt nhau, mỗi cặp có một chuỗi "nhẹ" (khoảng 25 kDa) và một chuỗi "nặng" (khoảng từ 50 đến 70 kDa). Phần đầu cuối amino của mỗi chuỗi gồm vùng biến đổi nằm trong khoảng từ 100 đến 110 hoặc nhiều hơn axit amin chủ yếu chịu trách nhiệm nhận diện kháng nguyên. Phần đầu cuối carboxy của chuỗi nặng có thể xác định vùng hằng định chủ yếu chịu trách nhiệm đối với chức năng tác động. Thông thường, các chuỗi nhẹ ở người được phân loại thành các chuỗi nhẹ kappa và lamda. Hơn nữa, các chuỗi nặng ở người thường được phân loại thành mu, delta, gamma, alpha, hoặc epsilon, và xác định isotyp của kháng thể lần lượt là IgM, IgD, IgG, IgA và IgE. Trong các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng, vùng hằng định và biến đổi được nối bởi vùng "J" có khoảng 12 hoặc nhiều hơn axit amin, với chuỗi nặng cũng gồm vùng "D" có khoảng 10 hoặc nhiều hơn axit amin. Xem, *Fundamental Immunology* Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989).

Vùng biến đổi của mỗi cặp chuỗi nhẹ/chuỗi nặng tạo ra vị trí liên kết kháng thể. Vì vậy, nhìn chung, kháng thể nguyên vẹn có hai vị trí liên kết. Ngoại trừ trong các kháng thể đặc hiệu kép hoặc có hai chức năng, hai vị trí liên kết, nhìn chung, là giống nhau.

Thông thường, miền biến đổi của cả chuỗi nhẹ và chuỗi nặng đều bao gồm ba vùng siêu biến, cũng được gọi là vùng xác định tính bổ trợ (CDR), được định vị trong các vùng khung (FR) được bảo toàn tương đối. Các CDR thường được sắp hàng bởi các vùng khung, có khả năng liên kết với epitop đặc hiệu. Nhìn chung, từ đầu cuối N đến

đầu cuối C, cả hai miền biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ đều bao gồm FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 và FR4. Việc gán các axit amin cho mỗi miền, nhìn chung, phù hợp với các định nghĩa trong tài liệu *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Kabat, *et al.*; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed.; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat (1978) *Adv. Prot. Chem.* 32:1-75; Kabat, *et al.*, (1977) *J. Biol. Chem.* 252:6609-6616; Chothia, *et al.*, (1987) *J Mol. Biol.* 196:901-917 hoặc Chothia, *et al.*, (1989) *Nature* 342:878-883.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "vùng siêu biến" dùng để chỉ các gốc axit amin của kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó chịu trách nhiệm đối với liên kết kháng nguyên. Vùng siêu biến này bao gồm các gốc axit amin từ "vùng xác định tính hỗ trợ" hoặc "CDR" (*nghĩa là* CDRL1, CDRL2 và CDRL3 trong miền biến đổi chuỗi nhẹ và CDRH1, CDRH2 và CDRH3 trong miền biến đổi chuỗi nặng). Xem Kabat *et al.* (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (xác định các vùng CDR của kháng thể bằng trình tự); xem cả tài liệu Chothia và Lesk (1987) *J. Mol. Biol.* 196: 901-917 (xác định các vùng CDR của kháng thể bằng cấu trúc). Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ các gốc "khung" hoặc "FR" dùng để chỉ các gốc miền biến đổi khác với các gốc vùng siêu biến được xác định trong bản mô tả này là các gốc CDR.

"Phân tử axit nucleic được phân lập" hoặc "polynucleotit được phân lập" có nghĩa là ADN hoặc ARN có nguồn gốc hệ gen, mARN, cADN, hoặc tổng hợp hoặc một số hỗn hợp của chúng mà không có liên quan đến tất cả hoặc một phần của polynucleotit, trong đó polynucleotit được phân lập được tìm thấy trong tự nhiên, hoặc được liên kết với polynucleotit mà không được liên kết trong tự nhiên. Nhằm mục đích của sáng chế, nên hiểu rằng "phân tử axit nucleic bao gồm" trình tự nucleotit cụ thể không bao gồm nhiễm sắc thể nguyên vẹn. Phân tử axit nucleic được phân lập "bao gồm" trình tự axit nucleic xác định có thể bao gồm, ngoài trình tự đã xác định, trình tự mã hóa lên đến mười hoặc thậm chí lên đến hai mươi hoặc nhiều hơn protein khác hoặc phần hoặc mảnh của chúng, hoặc có thể bao gồm trình tự điều hòa được liên kết hoạt động mà kiểm soát sự biểu hiện vùng mã hóa của trình tự axit nucleic được nêu, và/hoặc có thể gồm các trình tự vector.

Cụm từ "trình tự kiểm soát" dùng để chỉ trình tự ADN cần thiết đối với sự biểu hiện của trình tự mã hóa được liên kết hoạt động trong sinh vật chủ cụ thể. Trình tự kiểm soát thích hợp đối với sinh vật chưa có nhân điển hình, ví dụ, gồm trình tự khởi đầu, tùy ý trình tự điều khiển, và vị trí liên kết ribosom. Tế bào sinh vật có nhân điển hình được biết là sử dụng các trình tự khởi đầu, các tín hiệu polyadenyl hóa, và vùng tăng cường.

Axit nucleic hoặc polynucleotit "được liên kết hoạt động" khi nó được đặt vào mối quan hệ chức năng với một trình tự axit nucleic khác. Ví dụ, ADN đối với trình tự tín hiệu (nằm ở đầu cuối amino của tiền protein) hoặc trình tự dẫn đầu xuất tiết được liên kết hoạt động với ADN đối với polypeptit nếu nó được biểu hiện dưới dạng tiền protein mà tham gia vào quá trình tiết polypeptit; trình tự khởi đầu hoặc vùng tăng cường được liên kết hoạt động với trình tự mã hóa nếu nó ảnh hưởng đến sự phiên mã của trình tự này; hoặc vị trí liên kết ribosom được liên kết hoạt động với trình tự mã hóa nếu nó được định vị để tạo thuận lợi cho việc dịch mã. Thông thường, nhưng không phải thường xuyên, "được liên kết hoạt động" có nghĩa là các trình tự ADN được liên kết là giáp nhau, và, trong trường hợp đoạn dẫn đầu tiết, giáp nhau và trong pha đọc. Tuy nhiên, vùng tăng cường không phải giáp nhau. Việc liên kết được hoàn thành bằng sự gắn tại vị trí giới hạn thuận tiện. Nếu các vị trí này không tồn tại, thể thích ứng hoặc trình tự liên kết oligonucleotit tổng hợp được sử dụng phù hợp với thực tiễn thông thường.

Như được sử dụng ở đây, các cách diễn đạt "tế bào," "dòng tế bào," và "môi trường nuôi cấy tế bào" được sử dụng thay thế cho nhau và tất cả các cách diễn đạt này gồm cả các thể hệ con. Vì thế, các từ "thể biến nạp" và "các tế bào được biến nạp" bao gồm tế bào đối tượng sơ cấp và môi trường nuôi cấy tế bào thu được từ đó mà không liên quan đến số lần chuyển. Cũng nên hiểu rằng không phải tất cả các thể hệ con sẽ có hàm lượng ADN giống hệt nhau một cách chính xác, do các đột biến cố ý hoặc không cố ý. Các thể hệ con đột biến có hoạt tính sinh học hoặc chức năng giống nhau như được sàng lọc đối với tế bào được biến nạp ban đầu được bao gồm. Trong đó các chỉ định riêng biệt được dự định, sẽ rõ ràng từ ngữ cảnh này.

Như được sử dụng ở đây, "trình tự dòng gốc" dùng để chỉ trình tự của trình tự ADN của globulin miễn dịch không được sắp xếp lại. Nguồn thích hợp bất kỳ của trình tự globulin miễn dịch không được sắp xếp lại có thể được sử dụng. Các trình tự dòng gốc ở người có thể thu được, ví dụ, từ cơ sở dữ liệu dòng gốc JOINSOLVER trên trang

web của Viện Quốc Gia về Các Bệnh Viêm Khớp, Cơ Xương và Da, thuộc Viện Y Tế Quốc Gia Hoa Kỳ. Trình tự dòng gốc của chuột nhắt có thể thu được, ví dụ, như được mô tả trong Giudicelli *et al.* (2005) *Nucleic Acids Res.* 33:D256-D261.

Các đặc tính vật lý và chức năng của các kháng thể kháng TIGIT được lấy làm ví dụ

Sáng chế đề xuất các kháng thể kháng TIGIT và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng có đặc tính chức năng và cấu trúc riêng, và phương pháp sử dụng các kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng trong điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh (ví dụ, bệnh ung thư hoặc bệnh lây nhiễm).

“Kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế” gồm: kháng thể bất kỳ hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được bàn luận ở đây (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của các kháng thể này được bộc lộ trong Bảng 4) hoặc biến thể của chúng (ví dụ, biến thể trình tự hoặc biến thể chức năng); kháng thể bất kỳ hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm một hoặc nhiều CDR bất kỳ được nêu trong Bảng 4; kháng thể bất kỳ hoặc mảnh liên kết kháng nguyên liên kết với cùng một epitop trong TIGIT ở người giống như các kháng thể được bàn luận ở đây (ví dụ, 14A6, 28H5 hoặc 31C6); và kháng thể bất kỳ hoặc mảnh liên kết kháng nguyên phong bế chéo (một phần hoặc toàn bộ) hoặc được phong bế chéo (một phần hoặc toàn bộ) bằng kháng thể được bàn luận ở đây (ví dụ, 14A6, 28H5 hoặc 31C6) đối với liên kết TIGIT.

Phong bế chéo các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng có thể được nhận biết dựa trên khả năng của chúng để cạnh tranh chéo với kháng thể theo sáng chế trong thử nghiệm liên kết tiêu chuẩn (ví dụ, BIAcore, ELISA, đo đếm tế bào theo dòng). Ví dụ, các thử nghiệm ELISA tiêu chuẩn có thể được sử dụng trong đó protein TIGIT (ví dụ, TIGIT ở người) tái tổ hợp được giữ cố định trên đĩa, một trong số các kháng thể được đánh dấu huỳnh quang và khả năng của các kháng thể không được đánh dấu để cạnh tranh với liên kết của kháng thể được đánh dấu được đánh giá. Theo cách khác hoặc ngoài ra, thử nghiệm BIAcore có thể được sử dụng để đánh giá khả năng của các kháng thể để cạnh tranh chéo. Khả năng của kháng thể thử nghiệm để ức chế liên kết của kháng thể khác (ví dụ, kháng thể 14A6 hoặc 28H5 hoặc 31C6) với TIGIT (ví dụ, TIGIT ở người) chứng minh rằng kháng thể thử nghiệm có thể cạnh tranh với kháng thể khác (ví dụ, 14A6 hoặc 28H5 hoặc 31C6) để liên kết với TIGIT (ví dụ, TIGIT ở

người) và vì thế, có thể, trong một số trường hợp, liên kết với cùng một epitop trên TIGIT (ví dụ, TIGIT ở người) giống như kháng thể 14A6 hoặc 28H5 hoặc 31C6 hoặc với epitop chồng lặp.

Như được chỉ ra ở trên, các kháng thể và mảnh liên kết với cùng một epitop giống như kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể kháng TIGIT hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng theo sáng chế cũng tạo ra một phần của sáng chế. Hơn nữa, các kháng thể liên kết với epitop mà chồng lặp với epitop được liên kết bằng kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế cũng tạo ra một phần của sáng chế. Có nhiều phương pháp khả dụng để định vị (lập bản đồ) epitop kháng thể trên các kháng nguyên đích, gồm: phổ khối H/D-Ex, tinh thể học tia X, phân tích pepscan và phương pháp gây đột biến định hướng điểm. Ví dụ, HDX (Trao đổi hydro đơteri) kết hợp với phương pháp phân giải protein và phương pháp phổ khối có thể được sử dụng để xác định epitop của kháng thể trên kháng nguyên đặc hiệu Y. HDX-MS dựa trên phép đo và so sánh chính xác về mức độ kết hợp đơteri bằng kháng nguyên khi được ủ trong D₂O chỉ một mình nó và khi có mặt kháng thể của nó ở các khoảng thời gian khác nhau. Đơteri được trao đổi với hydro trên khung chính amit của các protein trong các vùng bộc lộ trong khi các vùng kháng nguyên được liên kết với kháng thể sẽ được bảo vệ và sẽ thể hiện sự trao đổi ít hơn hoặc không trao đổi sau khi phân tích bằng LC-MS/MS của các mảnh phân giải protein. Ví dụ 9 minh họa việc sử dụng HDX để định vị epitop được liên kết bởi kháng thể 14A6.

Các ví dụ về các chuỗi globulin miễn dịch của các kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế cũng như các CDR của chúng gồm, nhưng không giới hạn ở, các chuỗi được bộc lộ trong Bảng 4 (SEQ ID NO: 1-30, 37-52, 57-83 hoặc 88-167). Sáng chế bao gồm polypeptit bất kỳ bao gồm hoặc gồm có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 1-30, 37-52, 57-83 hoặc 88-167, và nucleotit tái tổ hợp mã hóa polypeptit này.

Phạm vi của sáng chế bao gồm các kháng thể kháng TIGIT được phân lập và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng (ví dụ, các kháng thể được nhân hóa), bao gồm biến thể của chuỗi globulin miễn dịch được đưa ra trong bản mô tả này, *ví dụ*, biến thể bất kỳ có SEQ ID NO: 7-30, 37-52, 63-64, 94-95 hoặc 124-133; trong đó biến thể thể hiện một hoặc nhiều đặc tính sau đây: (i) liên kết TIGIT ở người; (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgous và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với

CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112.

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất các kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó mà liên kết TIGIT ở người (ví dụ, các kháng thể được nhân hóa) và có các miền V_L và miền V_H có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% so với trình tự SEQ ID NO: 7-30, 37-52, 63-64, 94-95 hoặc 124-133; trong đó biến thể thể hiện liên kết và các đặc tính mong muốn, ví dụ, (i) liên kết TIGIT ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET); (ii) phản ứng chéo với TIGIT ở khỉ cynomolgous và rhesus; (iii) phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người; (iv) làm tăng sự hoạt hóa tế bào T; (v) kích thích sự sản sinh IL-2 và IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên; (vi) phong bế sự kích thích ức chế tế bào T do sự hoạt hóa được kích thích bằng sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn CD155 và CD112.

"Biến thể được cải biến theo cách bảo toàn" hoặc "đột biến thay thế bảo toàn" dùng để chỉ các đột biến thay thế của axit amin trong protein bằng các axit amin khác có các đặc tính tương tự (ví dụ điện tích, kích thước chuỗi bên, tính kỵ nước/tính ưa nước, cấu dạng khung chính và tính không linh động, v.v.), để cho các thay đổi có thể thường xuyên được tạo ra mà không ảnh hưởng đến hoạt tính sinh học của protein. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này nhận ra rằng, nhìn chung, các đột biến thay thế axit amin đơn trong các vùng không cơ bản của polypeptit gần như không làm biến đổi hoạt tính sinh học (xem, ví dụ, Watson *et al.* (1987) *Molecular Biology of the Gene*, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Ed.)). Ngoài ra, các đột biến thay thế của các axit amin tương tự về mặt cấu trúc hoặc chức năng ít có khả năng phá vỡ hoạt tính sinh học. Các đột biến thay thế bảo toàn được lấy làm ví dụ được nêu trong bảng 1.

Bảng 1. Các đột biến thay thế axit amin bảo toàn được lấy làm ví dụ

Gốc ban đầu	Đột biến thay thế bảo toàn
Ala (A)	Gly; Ser
Arg (R)	Lys; His
Asn (N)	Gln; His
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln
Ile (I)	Leu; Val
Leu (L)	Ile; Val
Lys (K)	Arg; His
Met (M)	Leu; Ile; Tyr
Phe (F)	Tyr; Met; Leu
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe
Val (V)	Ile; Leu

Các biến thể bảo toàn chức năng của các kháng thể theo sáng chế cũng được dự tính bởi sáng chế. "Các biến thể bảo toàn chức năng", như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ các kháng thể hoặc mảnh trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin được thay đổi mà không làm biến đổi đặc tính mong muốn, ái lực và/hoặc tính đặc hiệu với kháng nguyên này. Các biến thể này gồm, nhưng không giới hạn ở, sự thay thế axit amin bằng một axit amin có các đặc tính tương tự, như các đột biến thay thế axit amin bảo toàn trong Bảng 1. Sáng chế cũng đề xuất polypeptit được phân lập bao gồm các miền V_L của các kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế (ví dụ, SEQ ID NO: 8, 25-30 và 48-52), và polypeptit được phân lập bao gồm các miền V_H (ví dụ, SEQ ID NO: 7, 9-24 và 37-47) của các kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế có lên đến 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 hoặc nhiều hơn đột biến thay thế axit amin. Sáng chế cũng đề xuất polypeptit được phân lập bao gồm các miền V_L của các kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế (ví dụ, SEQ ID NO:64) và polypeptit được phân lập bao gồm các miền V_H (ví dụ, SEQ ID NO:63) của các kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế có lên đến 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14,

15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 hoặc nhiều hơn đột biến thay thế axit amin. Sáng chế cũng đề xuất polypeptit được phân lập bao gồm các miền V_L của các kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế (ví dụ, SEQ ID NO: 95 và 130-133) và polypeptit được phân lập bao gồm các miền V_H (ví dụ, SEQ ID NO: 94 và 124-129) của các kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế có lên đến 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 hoặc nhiều hơn đột biến thay thế axit amin.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT và có các miền V_L và miền V_H với độ đồng nhất trình tự ít nhất là 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80% hoặc 75% so với một hoặc nhiều miền V_L hoặc miền V_H được mô tả ở đây, và thể hiện liên kết đặc hiệu với TIGIT. Theo một phương án khác, kháng thể liên kết hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế bao gồm các miền V_L và V_H (có và không có trình tự tín hiệu) có lên đến 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 hoặc nhiều hơn đột biến thay thế axit amin, và thể hiện liên kết đặc hiệu với TIGIT.

Polynucleotit và Polypeptit

Sáng chế còn bao gồm polynucleotit mã hóa chuỗi bất kỳ trong số các chuỗi polypeptit hoặc globulin miễn dịch của các kháng thể kháng TIGIT và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng theo sáng chế. Ví dụ, sáng chế bao gồm polynucleotit mã hóa các axit amin được mô tả trong SEQ ID NO: 1-30, 37-52, 57-83 và 88-167, cũng như polynucleotit lai với chúng và, ngoài ra, polypeptit bất kỳ được mã hóa bởi polynucleotit lai này. Theo một phương án, sáng chế bao gồm trình tự axit nucleic bao gồm hoặc về cơ bản gồm có SEQ ID NO:84 hoặc SEQ ID NO:85.

Nhìn chung, polynucleotit lai dưới các điều kiện nghiêm ngặt thấp, vừa phải hoặc cao, và mã hóa các kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó mà duy trì khả năng liên kết với TIGIT (người, khỉ cynomolgus và/hoặc rhesus, ví dụ, *Macaca fascicularis*). Phân tử polynucleotit thứ nhất "có thể lai" với phân tử polynucleotit thứ hai khi dạng chuỗi đơn của phân tử polynucleotit thứ nhất có thể ủ với phân tử polynucleotit thứ hai trong các điều kiện thích hợp về nhiệt độ và cường độ ion của dung

dịch (xem Sambrook, *et al.*, ở trên). Các điều kiện nhiệt độ và cường độ ion xác định "tính nghiêm ngặt" của sự lai. Điều kiện lai có tính nghiêm ngặt thấp thông thường bao gồm 55°C, 5X SSC, 0,1% SDS và không có formamit; hoặc có 30% formamit, 5X SSC, 0,5% SDS ở nhiệt độ 42°C. Điều kiện lai nghiêm ngặt vừa phải thông thường là 40% formamit, với 5X hoặc 6X SSC và 0,1% SDS ở nhiệt độ 42°C. Điều kiện lai có tính nghiêm ngặt cao là 50% formamit, 5X hoặc 6X SSC ở nhiệt độ 42°C hoặc, tùy ý, ở nhiệt độ cao hơn (ví dụ, 57°C, 59°C, 60°C, 62°C, 63°C, 65°C hoặc 68°C). Nhìn chung, SSC là 0,15M NaCl và 0,015M Na-xitrat. Việc lai yêu cầu hai polynucleotit chứa trình tự bổ trợ, mặc dù, phụ thuộc vào tính nghiêm ngặt của sự lai, sự bắt cặp không hợp đôi giữa các bazơ là có thể có. Tính nghiêm ngặt thích hợp để lai các polynucleotit phụ thuộc vào chiều dài của các polynucleotit và mức độ bổ trợ, các biến đổi đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Mức độ tương tự hoặc tương đồng giữa hai trình tự nucleotit càng lớn, tính nghiêm ngặt trong đó các axit nucleic có thể lai càng cao. Đối với các thể lai có chiều dài lớn hơn 100 nucleotit, các phương trình tính toán nhiệt độ nóng chảy đã được suy ra (xem Sambrook, *et al.*, supra, 9.50-9.51). Để lai với các polynucleotit ngắn hơn, ví dụ, oligonucleotit, vị trí của các trình tự bắt cặp không hợp đôi trở nên quan trọng hơn, và chiều dài của oligonucleotit xác định tính đặc hiệu của nó (xem Sambrook, *et al.*, ở trên, 11.7-11.8).

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất polynucleotit được phân lập, ví dụ ADN, mã hóa các chuỗi polypeptit của kháng thể được phân lập hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên được đưa ra trong bản mô tả này. Theo một phương án, polynucleotit được phân lập mã hóa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm ít nhất một miền biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của globulin miễn dịch thuần thực theo sáng chế và/hoặc ít nhất một miền biến đổi chuỗi nặng (V_H) của globulin miễn dịch thuần thực theo sáng chế. Theo một số phương án, polynucleotit được phân lập mã hóa cả chuỗi nhẹ và chuỗi nặng trên phân tử polynucleotit đơn, và theo các phương án khác chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được mã hóa trên các phân tử polynucleotit riêng rẽ. Theo một phương án khác, polynucleotit còn mã hóa một trình tự tín hiệu.

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nặng (V_H) của kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó

bao gồm CDR-H1 (SEQ ID NO:1), CDR-H2 (SEQ ID NO:2) và CDR-H3 (SEQ ID NO:3 hoặc 79 hoặc 80 hoặc 81 hoặc 82, 83 hoặc 140).

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm CDR-L1 (SEQ ID NO:4), CDR-L2 (SEQ ID NO:5 hoặc 65 hoặc 66 hoặc 67 hoặc 68 hoặc 69 hoặc 70 hoặc 71 hoặc 72 hoặc 73 hoặc 141) và CDR-L3 (SEQ ID NO:6 hoặc 74 hoặc 75 hoặc 76 hoặc 77 hoặc 78).

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nặng (V_H) của globulin miễn dịch có SEQ ID NO: 7.

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của globulin miễn dịch có SEQ ID NO: 8.

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nặng (V_H) của globulin miễn dịch có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 9-24 hoặc 37-47.

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của globulin miễn dịch có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 25-30 hoặc 48-52

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nặng (V_H) của kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm CDR-H1 (SEQ ID NO:57), CDR-H2 (SEQ ID NO:58) và CDR-H3 (SEQ ID NO:59).

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm CDR-L1 (SEQ ID NO:60), CDR-L2 (SEQ ID NO:61) và CDR-L3 (SEQ ID NO:62).

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nặng (V_H) của globulin miễn dịch có SEQ ID NO: 63.

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của globulin miễn dịch có SEQ ID NO: 64.

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nặng (V_H) của kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó

bao gồm CDR-H1 (SEQ ID NO: 88), CDR-H2 (SEQ ID NO: 89, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 134 hoặc 135) và CDR-H3 (SEQ ID NO: 90).

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm CDR-L1 (SEQ ID NO: 91), CDR-L2 (SEQ ID NO: 92, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122 hoặc 123) và CDR-L3 (SEQ ID NO: 93).

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nặng (V_H) của globulin miễn dịch có SEQ ID NO: 94.

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của globulin miễn dịch có SEQ ID NO: 95.

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nặng (V_H) của globulin miễn dịch có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 124-129.

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của globulin miễn dịch có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 130-133.

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nặng (V_H) của globulin miễn dịch có SEQ ID NO: 127.

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nặng (V_H) của globulin miễn dịch có SEQ ID NO: 128.

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của globulin miễn dịch có SEQ ID NO: 130.

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của globulin miễn dịch có SEQ ID NO: 132.

Theo một phương án, sáng chế bao gồm polynucleotit được phân lập mã hóa miền biến đổi chuỗi nhẹ (V_L) của globulin miễn dịch có SEQ ID NO: 133.

Sáng chế cũng đề xuất vector, ví dụ, vector biểu hiện, như plasmit, bao gồm polynucleotit được phân lập theo sáng chế, trong đó polynucleotit được liên kết hoạt động với trình tự kiểm soát được nhận diện bởi tế bào chủ khi tế bào chủ được chuyển nhiễm bằng vector. Sáng chế cũng đề xuất các tế bào chủ bao gồm vector theo sáng chế

và phương pháp sản xuất kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó hoặc polypeptit được bộc lộ trong bản mô tả này bao gồm nuôi cấy tế bào chủ chứa vector biểu hiện hoặc axit nucleic mã hóa các chuỗi globulin miễn dịch của kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó trong môi trường nuôi cấy, và phân lập kháng nguyên hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó từ tế bào chủ hoặc môi trường nuôi cấy.

Polypeptit cũng được bao gồm trong sáng chế, ví dụ, polypeptit globulin miễn dịch, bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất trình tự ít nhất là khoảng 75%, 80%, tốt hơn nữa nếu ít nhất là khoảng 90% và tốt nhất nếu ít nhất là khoảng 95% (ví dụ, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%) so với trình tự axit amin của các kháng thể được đề xuất ở đây khi việc so sánh được thực hiện bằng thuật toán BLAST trong đó các thông số của thuật toán được chọn lọc để tạo ra mức giống nhau lớn nhất giữa các trình tự tương ứng so với toàn bộ chiều dài của các trình tự tham chiếu tương ứng (ví dụ ngưỡng mong đợi: 10; cỡ từ: 3; mức giống tối đa trong khoảng truy vấn: 0; ma trận BLOSUM 62; chi phí khoảng trống: tồn tại 11, mở rộng 1; điều chỉnh ma trận điểm tổ hợp có điều kiện).

Độ đồng nhất (giống hệt) trình tự dùng để chỉ mức độ mà các axit amin của hai polypeptit là giống nhau tại các vị trí tương đương khi hai trình tự được sắp hàng tùy ý.

Các tài liệu tham khảo sau đây đề cập đến các thuật toán BLAST thường được sử dụng để phân tích trình tự: các thuật toán BLAST: Altschul et al. (2005) *FEBS J.* 272(20): 5101-5109; Altschul, S.F., et al., (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410; Gish, W., et al., (1993) *Nature Genet.* 3:266-272; Madden, T.L., et al., (1996) *Meth. Enzymol.* 266:131-141; Altschul, S.F., et al., (1997) *Nucleic acids Res.* 25:3389-3402; Zhang, J., et al., (1997) *Genome Res.* 7:649-656; Wootton, J.C., et al., (1993) *Comput. Chem.* 17:149-163; Hancock, J.M. et al., (1994) *Comput. Appl. Biosci.* 10:67-70; ALIGNMENT SCORING SYSTEMS: Dayhoff, M.O., et al., "A model of evolutionary change in proteins." in *Atlas of Protein Sequence và Structure*, (1978) vol. 5, suppl. 3. M.O. Dayhoff (ed.), pp. 345-352, *Natl. Biomed. Res. Found.*, Washington, DC; Schwartz, R.M., et al., "Matrices for detecting distant relationships." in *Atlas of Protein Sequence và Structure*, (1978) vol. 5, suppl. 3." M.O. Dayhoff (ed.), pp. 353-358, *Natl. Biomed. Res. Found.*, Washington, DC; Altschul, S.F., (1991) *J. Mol. Biol.* 219:555-565; States, D.J., et al., (1991) *Methods* 3:66-70; Henikoff, S., et al., (1992) *Proc. Natl.*

Acad. Sci. USA 89:10915-10919; Altschul, S.F., *et al.*, (1993) *J. Mol. Evol.* 36:290-300; ALIGNMENT STATISTICS: Karlin, S., *et al.*, (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2264-2268; Karlin, S., *et al.*, (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5877; Dembo, A., *et al.*, (1994) *Ann. Prob.* 22:2022-2039; và Altschul, S.F. "Evaluating the statistical significance of multiple distinct local alignments." in *Theoretical và Computational Methods in Genome Research* (S. Suhai, ed.), (1997) pp. 1-14, Plenum, New York.

Ái lực liên kết

Bằng cách ví dụ, và không giới hạn, các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên được bộc lộ trong bản mô tả này có thể liên kết TIGIT ở người với trị số K_D ít nhất là khoảng 1×10^{-9} M (nghĩa là, trị số K_D bằng 1×10^{-9} M hoặc thấp hơn) như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET). Theo một phương án, các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên được bộc lộ trong bản mô tả này có thể liên kết TIGIT ở người với trị số K_D ít nhất là khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET). Theo một phương án, các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên được bộc lộ trong bản mô tả này có thể liên kết TIGIT ở người với trị số K_D nằm trong khoảng từ khoảng 1×10^{-9} M đến khoảng 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ, BIACORE) hoặc kỹ thuật tương tự (ví dụ KinExa hoặc OCTET). Theo một phương án, các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên được bộc lộ trong bản mô tả này có thể liên kết TIGIT ở người với trị số K_D ít nhất là khoảng 50 pM (nghĩa là, trị số K_D bằng khoảng 50 pM hoặc thấp hơn) như được xác định bởi BIACORE hoặc kỹ thuật tương tự. Theo một phương án, các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên được bộc lộ trong bản mô tả này có thể liên kết TIGIT ở người với trị số K_D ít nhất là khoảng 10 pM (nghĩa là, trị số K_D bằng khoảng 10 pM hoặc thấp hơn) như được xác định bởi BIACORE hoặc kỹ thuật tương tự. Theo một phương án, các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế có thể liên kết với TIGIT ở người với trị số K_D bằng khoảng 50 pM đến khoảng 1 pM như được xác định bởi BIACORE hoặc kỹ thuật tương tự.

Sự hoạt hóa tế bào miễn dịch

Theo một số phương án, các kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế làm tăng hoạt tính của tế bào miễn dịch. Sự tăng hoạt tính của tế bào miễn dịch có thể được phát hiện bằng cách sử dụng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Theo một phương án, sự tăng hoạt tính của tế bào miễn dịch có thể được phát hiện bằng cách đo sự tăng sinh của tế bào miễn dịch. Ví dụ, sự tăng hoạt tính của tế bào T có thể được phát hiện bằng cách đo sự tăng sinh của tế bào T hoặc các sự kiện dẫn truyền tín hiệu như sự phosphoryl hóa tyrosin của các thụ thể miễn dịch hoặc kinaza xuôi dòng mà truyền các tín hiệu đến các chất điều hòa phiên mã. Theo các phương án khác, sự tăng hoạt tính của tế bào miễn dịch có thể được phát hiện bằng cách đo chức năng gây độc tế bào của tế bào CTL hoặc NK trên các tế bào đích đặc hiệu hoặc các đáp ứng của xytokin IFN γ , mà có liên quan đến sự kích thích miễn dịch chống khối u. Theo các phương án khác nữa, sự tăng hoạt tính của tế bào miễn dịch có thể được phát hiện bằng cách đo sự hoạt hóa tế bào T *ex vivo* trong mẫu thu được từ đối tượng này. Theo một phương án, sự tăng hoạt tính của tế bào T được xác định bằng cách: (i) đo sự sản xuất do SEB (Độc tố ruột *nhóm B* của *Staphylococcus*) gây ra của một hoặc nhiều xytokin tiền viêm được chọn từ nhóm bao gồm: IL-2, TNF α , IL-17, IFN γ , IL-1 β , GM-CSF, RANTES, IL-6, IL-8, IL-5 và IL-13; hoặc (ii) đo phản ứng lympho bào hỗn hợp hoặc sự kích thích mAb kháng CD3 trực tiếp của thụ thể tế bào T (TCR) truyền tín hiệu để cảm ứng sự sản xuất xytokin được chọn từ nhóm bao gồm: IL-2, TNF α , IL-17, IFN γ , IL-1 β , GM-CSF, RANTES, IL-6, IL-8, IL-5 và IL-13. Theo một số phương án, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế sẽ kích thích sự sản sinh IL-2 và/hoặc IFN γ bởi tế bào T đặc hiệu kháng nguyên bằng ít nhất 1,5 lần.

Sáng chế bao gồm các kháng thể đối kháng kháng TIGIT và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng và phương pháp sử dụng chúng, *ví dụ*, được nhân hóa, các kháng thể đối kháng kháng TIGIT và các mảnh. Kháng thể đối kháng kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó đối kháng hoạt tính của TIGIT ở người như bằng sự ức chế liên kết của TIGIT với CD155 và CD112, và ức chế sự truyền tín hiệu ITIM chức năng bởi TIGIT khi liên kết với CD155 và CD112. Phép đo hoạt tính của chất đối kháng kháng TIGIT có thể được đánh giá bằng cách chứng minh việc phong bế sự ức chế tế bào T sau sự hoạt hóa TCR được cảm ứng bởi sự gắn TIGIT với các phối tử cùng nguồn

CD155 và CD112. Do đó, theo một phương án về các đáp ứng tăng, xử lý bằng các kháng thể đối kháng kháng TIGIT có thể giải cứu đáp ứng IL-2 đến các mức quan sát được trong các tế bào T không bị kìm hãm bởi sự cảm ứng CD155 hoặc CD112 của TIGIT. Trong mức hoạt hóa được ưu tiên hơn, các đáp ứng, sau khi điều trị bằng kháng thể đối kháng kháng TIGIT có thể làm tăng các đáp ứng với mức cao hơn các đáp ứng của tế bào T mà không bị kìm hãm bởi CD155 hoặc CD112.

Khả năng của các kháng thể kháng hTIGIT để phong bế liên kết với hCD155 và hCD112

Theo một số phương án, các kháng thể kháng TIGIT hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế có khả năng phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người. Khả năng phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người có thể được xác định bằng cách sử dụng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Theo một phương án, khả năng của các kháng thể để phong bế liên kết của TIGIT ở người với CD155 ở người và CD112 ở người được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm ELISA như được mô tả trong Ví dụ 2.

Phương pháp tạo ra các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng

Tế bào lai tạo ra kháng thể đơn dòng kháng TIGIT gốc (ví dụ, chuột cống hoặc chuột nhắt) hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bàn luận ở đây có thể được sản xuất bằng các phương pháp thường được biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Các dòng tế bào lai được phân lập này là một phần của sáng chế. Các phương pháp này gồm, nhưng không giới hạn ở, kỹ thuật lai tế bào ban đầu được phát triển bởi Kohler, *et al.*, (1975) (Nature 256:495-497), cũng như kỹ thuật Trioma (Hering, *et al.*, (1988) Biomed. Biochim. Acta. 47:211-216 và Hagiwara, *et al.*, (1993) Hum. Antibod. Hybridomas 4:15), kỹ thuật lai tế bào với dòng tế bào B ở người (Kozbor, *et al.*, (1983) Immunology Today 4:72 và Cote, *et al.*, (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 80:2026-2030), kỹ thuật lai tế bào với dòng tế bào được biến nạp EBV (Cole, *et al.*, in Monoclonal Antibodies và Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96, 1985), và sự dung hợp bằng điện dựa trên điện trường sử dụng thiết bị biến nạp điện dung hợp tế bào buồng lớn Cyto Pulse (Cyto Pulse Sciences, Inc., Glen Burnie, MD). Tốt hơn nếu tế bào lách của chuột nhắt

được phân lập và được dung hợp với PEG hoặc bằng sự dung hợp bằng điện với dòng tế bào u tủy ở chuột nhắt dựa trên các quy trình chuẩn. Các dòng tế bào lai tạo thành sau đó có thể được sàng lọc để sản xuất kháng thể đặc hiệu kháng nguyên. Ví dụ, huyền phù tế bào đơn của lympho bào lá lách từ chuột được gây miễn dịch có thể được dung hợp với một phần sáu số lượng của các tế bào u tủy ở chuột nhắt không tiết P3X63- Ag8.653 (ATCC, CRL 1580) với 50% PEG. Các tế bào có thể được cấy lên đĩa ở mật độ khoảng 2×10^5 tế bào/mL trong đĩa chuẩn độ vi lượng đáy phẳng, sau đó ủ hai tuần trong môi trường chọn lọc chứa 20% huyết thanh dòng vô tính của bào thai, 18% môi trường điều hòa "653", 5% origen (IGEN), 4 mM L-glutamin, 1 mM L-glutamin, 1 mM natri pyruvat, 5mM HEPES, 0,055 mM 2-mercaptoetanol, 50 đơn vị/ml penixilin, 50 mg/ml streptomycin, 50 mg/ml gentamycin và 1X HAT (Sigma; HAT được bổ sung 24 giờ sau khi dung hợp). Sau thời gian hai tuần, các tế bào có thể được nuôi cấy trong môi trường trong đó HAT được thay thế bằng HT. Các lỗ riêng lẻ sau đó có thể được sàng lọc bằng ELISA đối với các kháng thể đơn dòng IgG kháng TIGIT. Ngay khi sự phát triển dòng tế bào lai trở nên mạnh mẽ, môi trường có thể được quan sát thường là sau thời gian từ 10 đến 14 ngày. Dòng tế bào lai tiết kháng thể có thể được cấy lại lên đĩa, được sàng lọc lại, và nếu nó vẫn dương tính đối với IgG ở người, kháng thể đơn dòng kháng TIGIT, có thể được tái tạo dòng ít nhất hai lần bằng cách pha loãng giới hạn. Các dòng vô tính phụ ổn định sau đó có thể được nuôi cấy *in vitro* để tạo ra các lượng nhỏ kháng thể trong môi trường nuôi cấy mô để mô tả.

Do đó, sáng chế bao gồm phương pháp tạo ra kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế bao gồm bước nuôi cấy tế bào lai giống biểu hiện kháng thể hoặc mảnh trong điều kiện có lợi cho sự biểu hiện này và, tùy ý, phân lập kháng thể hoặc mảnh từ dòng tế bào lai và/hoặc môi trường sinh trưởng (ví dụ môi trường nuôi cấy tế bào).

Các kháng thể kháng TIGIT được bộc lộ trong bản mô tả này cũng có thể được tạo ra bằng phương pháp tái tổ hợp (ví dụ, trong hệ biểu hiện *E. coli*/T7, hệ biểu hiện tế bào động vật có vú hoặc hệ biểu hiện sinh vật có nhân điển hình bậc thấp hơn). Theo phương án này, axit nucleic mã hóa phân tử kháng thể globulin miễn dịch theo sáng chế (ví dụ, V_H hoặc V_L) có thể được xen vào plasmit dựa trên pET và được biểu hiện trong hệ *E. coli*/T7. Ví dụ, sáng chế bao gồm phương pháp biểu hiện kháng thể hoặc mảnh

liên kết kháng nguyên của nó hoặc chuỗi globulin miễn dịch của chúng trong tế bào chủ (ví dụ, tế bào chủ vi khuẩn như *E. coli* như BL21 hoặc BL21DE3) bao gồm biểu hiện T7 RNA polymeraza trong tế bào cũng bao gồm polynucleotit mã hóa chuỗi globulin miễn dịch mà được liên kết hoạt động với trình tự khởi đầu T7. Ví dụ, Theo một phương án của sáng chế, tế bào chủ của vi khuẩn, như *E. coli*, bao gồm polynucleotit mã hóa T7 RNA polymeraza được liên kết hoạt động với trình tự khởi đầu *lac* và sự biểu hiện của polymeraza và chuỗi được cảm ứng bằng cách ủ tế bào chủ với IPTG (isopropyl-beta-D-thiogalactopyranosit).

Các kháng thể tái tổ hợp đã biết được tạo ra bằng các phương pháp khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Một ví dụ về phương pháp để sản xuất tái tổ hợp các kháng thể được bộc lộ trong Patent Mỹ số 4,816,567.

Sự biến nạp có thể là phương pháp đã biết bất kỳ để đưa polynucleotit vào tế bào chủ. Các phương pháp đưa polynucleotit khác loài vào các tế bào động vật có vú đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm phương pháp chuyển nhiễm qua trung gian dextran, phương pháp kết tủa canxi phosphat, phương pháp chuyển nhiễm qua trung gian polybren, phương pháp dung hợp thể nguyên sinh, phương pháp biến nạp điện, phương pháp bao vi nang của (các) polynucleotit trong liposom, phương pháp đưa ADN vào tế bào bằng súng bắn gen đặc biệt và phương pháp tiêm tế bào trực tiếp chứa ADN vào nhân. Ngoài ra, các phân tử axit nucleic có thể được đưa vào tế bào động vật có vú bằng vector virus. Các phương pháp biến nạp tế bào là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Xem, ví dụ, Patent Mỹ số 4,399,216; 4,912,040; 4,740,461 và 4,959,455.

Vì thế, sáng chế bao gồm các phương pháp tái tổ hợp để tạo ra kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế, hoặc chuỗi globulin miễn dịch của chúng, bao gồm bước đưa polynucleotit mã hóa một hoặc nhiều chuỗi globulin miễn dịch của kháng thể hoặc mảnh (ví dụ, chuỗi globulin miễn dịch nặng và/hoặc nhẹ); nuôi cấy tế bào chủ (ví dụ, CHO hoặc *Pichia* hoặc *Pichia pastoris*) trong điều kiện có lợi cho sự biểu hiện này và, tùy ý, phân lập kháng thể hoặc mảnh hoặc chuỗi từ tế bào chủ và/hoặc môi trường trong đó tế bào chủ phát triển.

Các kháng thể kháng TIGIT cũng có thể được tổng hợp bằng phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp được đưa ra trong Patent Mỹ số 6,331,415.

Các tế bào chủ sinh vật có nhân điển hình và sinh vật chưa có nhân điển hình, bao gồm các tế bào động vật có vú là các tế bào chủ để biểu hiện các kháng thể hoặc mảnh hoặc chuỗi globulin miễn dịch được bộc lộ trong bản mô tả này đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật và bao gồm nhiều dòng tế bào bất tử có sẵn từ Bộ sưu tập chủng giống Hoa Kỳ (American Type Culture Collection - ATCC). Các tế bào này bao gồm, *không kể những cái khác*, các tế bào buồng trứng của chuột Hamster Trung Quốc (CHO), NSO, các tế bào SP2, các tế bào HeLa, tế bào thận chuột hamster nhỏ (BHK), tế bào thận khí (COS), tế bào caxinom tế bào gan ở người (ví dụ, Hep G2), các tế bào A549, các tế bào 3T3, các tế bào HEK-293 và nhiều dòng tế bào khác. Các tế bào chủ của động vật có vú bao gồm các tế bào người, chuột nhắt, chuột cống, chó, khỉ, lợn, dê, bò, ngựa và chuột hamster. Dòng tế bào được ưu tiên đặc biệt được lựa chọn thông qua việc xác định dòng tế bào có các mức biểu hiện cao. Dòng tế bào khác có thể được sử dụng là dòng tế bào côn trùng, như tế bào Sf9, tế bào lưỡng cư, tế bào vi khuẩn, tế bào thực vật và tế bào nấm. Tế bào nấm bao gồm các tế bào nấm men và nấm sợi bao gồm, ví dụ, *Pichia pastoris*, *Pichia finlandica*, *Pichia trehalophila*, *Pichia koclamae*, *Pichia membranaefaciens*, *Pichia minuta* (*Ogataea minuta*, *Pichia lindneri*), *Pichia opuntiae*, *Pichia thermotolerans*, *Pichia salictaria*, *Pichia guercuum*, *Pichia pijperi*, *Pichia stiptis*, *Pichia methanolica*, *Pichia sp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces sp.*, *Hansenula polymorpha*, *Kluyveromyces sp.*, *Kluyveromyces lactis*, *Candida albicans*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesei*, *Chrysosporium lucknowense*, *Fusarium sp.*, *Fusarium gramineum*, *Fusarium venenatum*, *Physcomitrella patens* và *Neurospora crassa*. *Pichia sp.*, *Saccharomyces sp.* bất kỳ, *Hansenula polymorpha*, *Kluyveromyces sp.* bất kỳ, *Candida albicans*, *Aspergillus sp.* bất kỳ, *Trichoderma reesei*, *Chrysosporium lucknowense*, *Fusarium sp.* bất kỳ, *Yarrowia lipolytica*, và *Neurospora crassa*. Khi vector biểu hiện tái tổ hợp mã hóa chuỗi nặng hoặc phần liên kết kháng nguyên hoặc mảnh của chúng, chuỗi nhẹ và/hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được đưa vào các tế bào chủ động vật có vú, các kháng thể được tạo ra bằng cách nuôi cấy các tế bào chủ trong khoảng thời gian đủ để cho phép sự biểu hiện của kháng thể hoặc mảnh hoặc chuỗi trong các tế bào chủ hoặc sự tiết vào trong môi trường nuôi cấy trong đó các tế bào chủ phát triển.

Các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng và các chuỗi globulin miễn dịch có thể được thu hồi từ môi trường nuôi cấy sử dụng các phương pháp tinh chế protein chuẩn. Hơn nữa, sự biểu hiện của các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng và chuỗi globulin miễn dịch theo sáng chế (hoặc các gốc khác từ đó) từ dòng tế bào sản sinh có thể được tăng cường bằng cách sử dụng nhiều kỹ thuật đã biết. Ví dụ, hệ thống biểu hiện gen glutamin synthetaza (hệ thống GS) là hướng tiếp cận phổ biến để tăng cường sự biểu hiện trong các điều kiện nhất định. Hệ thống GS được bàn luận trong toàn bộ hoặc một phần liên quan đến Patent Châu Âu số 0 216 846, 0 256 055, và 0 323 997 và Đơn xin cấp Patent Châu Âu số 89303964.4. Do đó, theo một phương án của sáng chế, các tế bào chủ động vật có vú (ví dụ, CHO) thiếu gen glutamin synthetaza và được phát triển khi không có mặt glutamin trong môi trường trong đó, tuy nhiên, polynucleotit mã hóa chuỗi globulin miễn dịch bao gồm gen glutamin synthetaza bù vào sự thiếu gen trong tế bào chủ.

Sáng chế bao gồm phương pháp tinh chế kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế bao gồm bước đưa mẫu bao gồm kháng thể hoặc mảnh vào môi trường tinh chế (ví dụ, môi trường trao đổi cation, môi trường trao đổi anion, môi trường trao đổi kỵ nước, môi trường tinh chế ái lực (ví dụ, protein-A, protein-G, protein-A/G, protein-L)) và thu kháng thể hoặc mảnh được tinh chế từ phần cất lưu chuyển của mẫu nêu trên mà không liên kết với môi trường; hoặc, thải bỏ phần cất lưu chuyển và rửa giải kháng thể hoặc mảnh được liên kết từ môi trường và thu nước giải hấp. Theo một phương án của sáng chế, môi trường trong cột được sử dụng cho mẫu. Theo một phương án của sáng chế, phương pháp tinh chế được thực hiện sau khi biểu hiện tái tổ hợp kháng thể hoặc mảnh trong tế bào chủ, *ví dụ*, trong đó tế bào chủ được làm tan đầu tiên và, tùy ý, dịch tan được tinh chế trong vật liệu không hòa tan trước khi tinh chế trên môi trường.

Nhìn chung, glycoprotein được tạo ra trong dòng tế bào hoặc động vật chuyển gen cụ thể sẽ có mô hình glycosyl hóa là đặc trưng đối với glycoprotein được tạo ra trong dòng tế bào hoặc động vật chuyển gen. Do đó, mô hình glycosyl hóa cụ thể của kháng thể sẽ phụ thuộc vào dòng tế bào hoặc động vật chuyển gen cụ thể được sử dụng để tạo ra kháng thể. Tuy nhiên, tất cả các kháng thể được mã hóa bằng các phân tử axit nucleic được đề xuất ở đây, hoặc bao gồm các trình tự axit amin được đề xuất ở đây,

bao gồm sáng chế, có thể có sự độc lập của mô hình glycosyl hóa các kháng thể. Tương tự, theo các phương án cụ thể, các kháng thể có mô hình glycosyl hóa bao gồm chỉ *N*-glycan không được fucosyl hóa có thể có lợi, do các kháng thể này được thể hiện là thường biểu hiện tính hiệu quả có hiệu lực hơn so với các bản sao được fucosyl hóa của chúng cả *in vitro* và *in vivo* (xem ví dụ, Shinkawa *et al.*, *J. Biol. Chem.* 278: 3466-3473 (2003); Patent Mỹ số 6,946,292 và 7,214,775). Các kháng thể này có các *N*-glycan không được fucosyl hóa không có khả năng gây miễn dịch do các cấu trúc hydrat cacbon của chúng là thành phần bình thường của chủng loại mà tồn tại trong IgG huyết thanh người.

Sáng chế bao gồm các kháng thể đa dòng kháng TIGIT và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, ví dụ, chế phẩm chứa nhiều kháng thể kháng TIGIT và các mảnh, mà bao gồm một hoặc nhiều kháng thể kháng TIGIT hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng theo sáng chế, và phương pháp sử dụng chúng. Kháng thể đa dòng là kháng thể được tạo ra trong số hoặc với sự có mặt của một hoặc nhiều các kháng thể không giống hết nhau, khác. Nhìn chung, các kháng thể đa dòng được sản sinh từ các bảo tàng chứa các lympho bào B khác nhau, ví dụ, lympho bào B của động vật được điều trị bằng chất kháng nguyên đang nói đến, mà tạo ra chủng loại của các kháng thể khác nhau nhưng tất cả đều định hướng vào chất kháng nguyên. Thông thường, các kháng thể đa dòng được thu trực tiếp từ động vật được gây miễn dịch, ví dụ, lá lách, huyết thanh hoặc dịch cổ trướng.

Sáng chế bao gồm đặc hiệu kép và các kháng thể hai chức năng và các mảnh liên kết kháng nguyên có tính đặc hiệu liên kết đối với TIGIT và một kháng nguyên khác như, ví dụ, PD-1 hoặc PD-L1 hoặc LAG-3, và phương pháp sử dụng chúng. Theo một phương án của sáng chế, chuỗi kháng TIGIT bao gồm trình tự bất kỳ trong số các trình tự VH/VL được mô tả trong bảng 4, và các chuỗi PD1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 33 và 34 hoặc có SEQ ID NO: 35 và 36 (hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên). Kháng thể đặc hiệu kép hoặc hai chức năng là kháng thể lai nhân tạo có hai cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ khác nhau và hai vị trí liên kết khác nhau. Các kháng thể đặc hiệu kép có thể được tạo ra bằng các phương pháp khác nhau bao gồm phương pháp dung hợp các dòng tế bào lai hoặc liên kết các mảnh Fab'. Xem, ví dụ, Songsivilai, *et al.*, (1990) *Clin. Exp. Immunol.* 79: 315-

321, Kostelny, *et al.*, (1992) *J Immunol.* 148:1547- 1553. Ngoài ra, các kháng thể đặc hiệu kép có thể được tạo ra dưới dạng "kháng thể thể hai" (diabody) (Holliger, *et al.*, (1993) *PNAS USA* 90:6444-6448) hoặc dưới dạng "Janusins" (Traunecker, *et al.*, (1991) *EMBO J.* 10:3655-3659 và Traunecker, *et al.*, (1992) *Int. J. Cancer Suppl.* 7:51-52).

Sáng chế còn bao gồm các mảnh liên kết kháng nguyên kháng TIGIT của các kháng thể kháng TIGIT được bộc lộ trong bản mô tả này. Các mảnh kháng thể bao gồm các mảnh $F(ab)_2$, có thể được tạo ra bằng sự phân cắt enzym của IgG bằng, ví dụ, pepsin. Các mảnh Fab có thể được tạo ra bằng, ví dụ, sự khử $F(ab)_2$ bằng dithiotreitol hoặc mercaptoethylamin.

Globulin miễn dịch có thể được chỉ định vào các lớp khác nhau phụ thuộc vào các trình tự axit amin của miền hằng định của các chuỗi nặng của chúng. Có ít nhất năm lớp globulin miễn dịch chính: IgA, IgD, IgE, IgG và IgM, và các lớp khác nhau này có thể được tách thêm thành các phân lớp (isotyp), ví dụ IgG1, IgG2, IgG3 và IgG4; IgA1 và IgA2. Sáng chế bao gồm các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên thuộc bất kỳ trong số các lớp hoặc phân lớp này của các kháng thể.

Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm vùng hằng định của chuỗi nặng, ví dụ vùng hằng định của người, như vùng hằng định chuỗi nặng ở người $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$, hoặc $\gamma 4$ hoặc biến thể của chúng. Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm vùng hằng định chuỗi nhẹ, ví dụ vùng hằng định chuỗi nhẹ ở người, như vùng chuỗi nhẹ ở người lamda hoặc kapa hoặc biến thể của chúng. Bằng cách ví dụ, và không giới hạn ở vùng hằng định chuỗi nặng ở người có thể là $\gamma 4$ và vùng hằng định chuỗi nhẹ ở người có thể là kapa. Theo một phương án khác, vùng Fc của kháng thể là $\gamma 4$ với đột biến Ser228Pro (Schuerman, J *et. al.*, *Mol. Immunol.* 38: 1-8, 2001).

Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm vùng hằng định chuỗi nặng của kiểu phụ IgG1.

Theo một số phương án, các miền hằng định khác nhau có thể được nối vào các vùng V_L và V_H ĐƯỢC NHÂN HÓA thu được từ các CDR được đề xuất ở đây. Ví dụ, nếu việc sử dụng cụ thể được dự định của kháng thể (hoặc mảnh) theo sáng chế để yêu cầu đối với các chức năng tác động được biến đổi, miền hằng định chuỗi nặng khác với IgG1 ở người có thể được sử dụng, hoặc IgG1/IgG4 lai có thể được sử dụng.

Mặc dù các kháng thể IgG1 ở người được tạo ra trong thời gian bán thải lâu dài và có chức năng tác động, như sự hoạt hóa bổ thể và phản ứng gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể, các hoạt tính này không thể được tạo ra trong tất cả các lần sử dụng kháng thể. Trong trường hợp này, miền hằng định IgG4 ở người, ví dụ, có thể được sử dụng. Sáng chế bao gồm các kháng thể kháng TIGIT và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng bao gồm miền hằng định IgG4, ví dụ, chất đối kháng, các kháng thể kháng TIGIT được nhân hóa và mảnh, và phương pháp sử dụng chúng. Theo một phương án, miền hằng định IgG4 có thể khác với miền hằng định IgG4 tự nhiên ở người (Số hiệu lưu giữ Swiss-Prot số P01861.1) ở vị trí tương ứng với vị trí 228 trong hệ thống EU và vị trí 241 trong hệ thống KABAT, trong đó Ser108 tự nhiên được thay thế bằng Pro, để ngăn chặn liên kết disulfua liên chuỗi hiệu quả giữa Cys106 và Cys109 (tương ứng với các vị trí Cys 226 và Cys 229 trong hệ thống EU và các vị trí Cys 239 và Cys 242 trong hệ thống KABAT) có thể cản trở sự hình thành liên kết disulfua liên chuỗi thích hợp. Xem Angal *et al.* (1993) *Mol. Immunol.* 30:105. Trong các trường hợp khác, miền hằng định của IgG1 đã cải biến được biến đổi để làm tăng thời gian bán thải hoặc làm giảm chức năng tác động có thể được sử dụng.

Thao tác di truyền kháng thể

Sáng chế bao gồm các phương án trong đó các kháng thể kháng TIGIT và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng là các kháng thể được thao tác di truyền để bao gồm các cải biến đối với các gốc khung trong miền biến đổi của kháng thể đơn dòng gốc (ví dụ, chuột nhắt hoặc chuột cống), ví dụ để cải thiện các đặc tính của kháng thể hoặc mảnh. Thông thường, các cải biến khung này được tạo ra để làm giảm tính kháng nguyên của kháng thể hoặc mảnh. Điều này thường được thực hiện bằng cách thay thế các gốc không phải CDR trong miền biến đổi (*nghĩa là các gốc khung*) trong kháng thể gốc hoặc mảnh (ví dụ bộ gập nhám) với các gốc tương tự từ tính đặc hiệu miễn dịch của các loài trong đó kháng thể được sử dụng, ví dụ các gốc người trong trường hợp điều trị bệnh cho người. Kháng thể hoặc mảnh này được đề cập đến dưới dạng kháng thể hoặc mảnh “được nhân hóa”. Trong một số trường hợp mong muốn để làm tăng ái lực, hoặc thay đổi tính đặc hiệu của kháng thể được thao tác di truyền (ví dụ được nhân hóa). Một hướng tiếp cận khác là "gây đột biến ngược" một hoặc nhiều gốc khung thành trình tự

dòng gốc tương ứng. Cụ thể hơn, kháng thể hoặc mảnh trải qua đột biến sinh dưỡng có thể chứa các gốc khung mà khác với trình tự dòng gốc từ kháng thể thu được. Các gốc này có thể được nhận biết bằng cách so sánh trình tự của kháng thể hoặc mảnh khung với trình tự dòng gốc từ kháng thể hoặc mảnh thu được. Một hướng tiếp cận khác là hồi biến trở lại gốc ban đầu (ví dụ, bộ găm nhám) tại một hoặc nhiều vị trí của kháng thể được thao tác di truyền (ví dụ được nhân hóa), *ví dụ*, để khôi phục ái lực liên kết bị mất đi trong quá trình thay thế các gốc khung. (xem, *ví dụ*, Patent Mỹ số 5,693,762, Patent Mỹ số 5,585,089 và Patent Mỹ số 5,530,101.)

Theo một số phương án nhất định, các kháng thể kháng TIGIT và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được thao tác di truyền (ví dụ được nhân hóa) để bao gồm các cải biến trong khung và/hoặc các CDR để cải thiện các đặc tính của chúng. Các thay đổi được thao tác di truyền này có thể dựa trên sự mô hình hóa phân tử. Mô hình phân tử đối với vùng biến đổi của trình tự kháng thể (không phải người) gốc có thể được cấu tạo để hiểu các đặc điểm cấu trúc của kháng thể và được sử dụng để nhận biết các vùng tiềm năng trên kháng thể mà có thể tương tác với kháng nguyên. Các CDR thông thường dựa trên sự sắp hàng các trình tự globulin miễn dịch và nhận biết vùng biến đổi. Kabat et al., (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Kabat, *et al.*; National Institutes of Health, Bethesda, Md. ; 5th ed.; NIH Publ. No. 91-3242; Kabat (1978) *Adv. Prot. Chem.* 32:1-75; Kabat, *et al.*, (1977) *J. Biol. Chem.* 252:6609-6616. Chothia và các đồng nghiệp đã kiểm tra một cách cẩn thận cấu tạo của vòng trong các cấu trúc tinh thể của các kháng thể và các vòng siêu biến được đề xuất. Chothia, *et al.*, (1987) *J Mol. Biol.* 196:901-917 hoặc Chothia, *et al.*, (1989) *Nature* 342:878-883. Có các biến thể giữa các vùng được phân loại thành “CDR” và “các vòng siêu biến”. Các nghiên cứu sau đó (Raghunathan et al, (2012) *J. Mol Recog.* 25, 3, 103-113) phân tích các phức hệ tinh thể kháng thể-kháng nguyên và quan sát thấy rằng các vùng liên kết kháng nguyên trong các kháng thể không nhất thiết phải phù hợp hoàn toàn với các gốc “CDR” hoặc các vòng “siêu biến”. Mô hình phân tử của vùng biến đổi của kháng thể không phải ở người có thể được sử dụng để hướng dẫn việc lựa chọn các vùng có thể liên kết một cách hiệu quả với kháng nguyên. Trong thực tế, các vùng liên kết kháng nguyên hiệu quả dựa trên mô hình khác với các “CDR” thông thường hoặc các vùng “siêu biến”. Phần mềm khoa học thương mại như MOE (Nhóm tin học hóa học) có thể được sử dụng để mô hình hóa

phân tử. Các khung ở người có thể được lựa chọn dựa trên các lần bắt cặp tốt nhất với trình tự không phải người trong cả khung và trong các CDR. Đối với FR4 (khung 4) trong các vùng VH, VJ đối với các dòng gốc ở người được so sánh với vùng không phải người tương ứng. Trong trường hợp FR4 (khung 4) trong các vùng VL, J-kappa và J-Lambda của trình tự dòng gốc ở người được so sánh với vùng không phải người tương ứng. Ngay khi các khung ở người thích hợp được nhận biết, các CDR được ghép vào các khung ở người được lựa chọn. Trong một số trường hợp các gốc nhất định trong mặt phân giới VL-VH có thể được giữ lại dưới dạng trình tự (gốc) không phải người. Các mô hình phân tử cũng có thể được sử dụng để nhận biết các gốc có thể có hiệu quả sau sự sắp xếp phân tử của CDR và do đó liên kết với kháng nguyên. Trong một số trường hợp, các gốc này được giữ lại dưới dạng trình tự (gốc) không phải người. Các mô hình phân tử cũng có thể được sử dụng để nhận biết các axit amin được tiếp xúc với dung môi mà có thể tạo ra các tác dụng không mong muốn như sự glycosyl hóa, sự khử amit hóa và sự oxy hóa. Bộ lọc theo khả năng phát triển có thể được đưa vào sớm trong giai đoạn thiết kế để loại bỏ/giảm thiểu các vấn đề có thể xảy ra này.

Một loại cải biến khung khác liên quan đến sự đột biến một hoặc nhiều các gốc trong vùng khung, hoặc thậm chí trong một hoặc nhiều vùng CDR, để loại bỏ epitop tế bào T để nhờ đó làm giảm tính kháng nguyên có hiệu lực của kháng thể. Hướng tiếp cận này cũng được đề cập đến dưới dạng "loại bỏ khả năng tạo miễn dịch" và được mô tả chi tiết hơn trong Patent Mỹ số 7,125,689.

Theo các phương án cụ thể, mong muốn thay đổi axit amin đã biết chứa các chuỗi bên được bộc lộ bằng gốc axit amin khác để tạo ra khả năng ổn định hóa học lớn hơn của kháng thể cuối cùng, để tránh sự khử amit hóa hoặc đồng phân hóa. Sự khử amit hóa của asparagin có thể xuất hiện trên các trình tự NG, DG, NG, NS, NA, NT, QG hoặc QS và dẫn đến sự tạo ra gốc axit isoaspartic mà đưa một nút vào chuỗi polypeptit và làm giảm độ ổn định của nó (hiệu ứng axit isoaspartic). Sự đồng phân hóa có thể xuất hiện tại các trình tự DG, DS, DA hoặc DT. Theo một số phương án, các kháng thể theo sáng chế không chứa các vị trí khử amit hóa hoặc hiện tượng đồng phân asparagin.

Ví dụ, gốc asparagin (Asn) có thể được thay đổi thành Gln hoặc Ala để khử hiệu quả đối với sự tạo thành isoaspartat tại các trình tự Asn-Gly bất kỳ, cụ thể là trong CDR.

Vấn đề tương tự có thể xuất hiện ở trình tự Asp-Gly. Reissner và Aswad (2003) *Cell. Mol. Life Sci.* 60:1281. Sự hình thành isoaspartat có thể làm suy yếu hoặc hủy bỏ hoàn toàn liên kết của kháng thể với kháng nguyên đích của nó. Xem, Presta (2005) *J. Allergy Clin. Immunol.* 116:731 at 734. Theo một phương án, asparagin được biến đổi thành glutamin (Gln). Cũng có thể mong muốn biến đổi axit amin liên kề gốc asparagin (Asn) hoặc glutamin (Gln) để làm giảm khả năng xảy ra sự khử amit hóa, xảy ra ở tốc độ lớn hơn khi axit amin nhỏ xuất hiện liên kề với asparagin hoặc glutamin. Xem, Bischoff & Kolbe (1994) *J. Chromatog.* 662:261. Ngoài ra, các gốc methionin bất kỳ (thường là Met tiếp xúc với dung môi) trong các CDR có thể được biến đổi thành Lys, Leu, Ala, hoặc Phe hoặc axit amin khác để làm giảm khả năng oxy hóa lưu huỳnh của methionin, có thể làm giảm ái lực liên kết kháng nguyên và cũng góp phần vào tính không đồng nhất phân tử trong dạng bào chế kháng thể cuối cùng. *Id.* Ngoài ra, để ngăn chặn hoặc giảm thiểu các liên kết peptit Asn-Pro có thể phân cắt được, có thể mong muốn biến đổi các tổ hợp Asn-Pro bất kỳ được tìm thấy trong CDR thành Gln-Pro, Ala-Pro, hoặc Asn-Ala. Các kháng thể có các đột biến thay thế này sau đó được sàng lọc để đảm bảo rằng các đột biến thay thế không làm giảm ái lực hoặc tính đặc hiệu của kháng thể đối với TIGIT, hoặc hoạt tính sinh học mong muốn khác đến mức không thể được chấp nhận.

Bảng 2. Các biến thể CDR ổn định được lấy làm ví dụ

Gốc CDR	Trình tự biến thể ổn định
Asn-Gly (N-G)	Gln-Gly, Ala-Gly, hoặc Asn-Ala (Q-G), (A-G), hoặc (N-A)
Asp-Gly (D-G)	Glu-Gly, Ala-Gly hoặc Asp-Ala (E-G), (A-G), hoặc (D-A)
Met (thường tiếp xúc với dung môi) (M)	Lys, Leu, Ala, hoặc Phe (K), (L), (A), hoặc (F)
Asn (N)	Gln hoặc Ala (Q) hoặc (A)
Asn-Pro (N-P)	Gln-Pro, Ala-Pro, hoặc Asn-Ala (Q-P), (A-P), hoặc (N-A)

Theo một số phương án theo sáng chế, CDR3 có SEQ ID NO:3 có thể được biến đổi tại vị trí 110W để làm giảm hoặc loại bỏ sự oxy hóa có thể có (trong đó cách đánh số là theo Kabat). Vì vậy, ví dụ SEQ ID NO:3 (MPSFITLASLSTWEGYFDF) có thể được cải biến thành trình tự bất kỳ trong số các trình tự sau đây:

MPSFITLASLSTFEGYFDF (SEQ ID NO:79), MPSFITLASLSTYEGYFDF (SEQ ID NO:80), MPSFITLASLSTIEGYFDF (SEQ ID NO:81), MPSFITLASLSTVEGYFDF (SEQ ID NO:82) hoặc MPSFITLASLSTLEGYFDF (SEQ ID NO:83). Do đó, theo một số phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm CDR1 có SEQ ID NO:1, CDR2 có SEQ ID NO:2 và CDR3 có SEQ ID NO: 3, 79, 80, 81, 82 hoặc 83.

Theo một số phương án của sáng chế, CDR2 có SEQ ID NO:5 có thể được cải biến tại các vị trí 52N và 53S để khử hoặc loại bỏ các vị trí khử amit hóa có thể có (trong đó cách đánh số là theo Kabat). Vì thế, ví dụ SEQ ID NO:5 (YANSLQT) có thể được cải biến thành trình tự bất kỳ trong số các trình tự sau đây: YASNLTQT (SEQ ID NO:65), YASSLTQT (SEQ ID NO:66), YASTLTQT (SEQ ID NO:67), YATTLTQT (SEQ ID NO:68), YASYLTQT (SEQ ID NO:69), YANQLQT (SEQ ID NO:70), YAGSLQT (SEQ ID NO:71), YASQLQT (SEQ ID NO:72), YADSLQT (SEQ ID NO:73). Do đó, theo một số phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm CDR1 có SEQ ID NO:4, CDR2 có SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:72 hoặc SEQ ID NO:73, và CDR3 có SEQ ID NO:6.

Theo một số phương án theo sáng chế, CDR3 có SEQ ID NO:6 có thể được biến đổi tại vị trí 95W để làm giảm hoặc loại bỏ sự oxy hóa có thể có (trong đó cách đánh số là theo Kabat). Vì thế, ví dụ SEQ ID NO:6 (QQYYSGWT) có thể được cải biến thành trình tự bất kỳ trong số các trình tự sau đây: QQYYSGFT (SEQ ID NO:74), QQYYSGYT (SEQ ID NO:75), QQYYSGIT (SEQ ID NO: 76), QQYYSGVT (SEQ ID NO:77), QQYYSGLT (SEQ ID NO:78). Do đó, theo một số phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm CDR1 có SEQ ID NO:4, CDR2 có SEQ ID NO:5 và CDR3 có SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77 hoặc SEQ ID NO:78.

Theo một số phương án theo sáng chế, kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm CDR1 có SEQ ID NO:4, CDR2 có SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67, SEQ ID NO:68, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:70, SEQ

ID NO:72, SEQ ID NO:72 hoặc SEQ ID NO:73, và CDR3 có SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77 hoặc SEQ ID NO:78.

Theo một phương án khác theo sáng chế, kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế bao gồm vùng FR4 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 7, 9-24 hoặc 38-47, trong đó M tại vị trí 122 được thay thế bằng V, L, A, R, N, P Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W, hoặc L để tránh sự oxy hóa có thể có.

Theo một phương án khác của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế bao gồm vùng FR4 chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 7, 9-24 hoặc 38-47, trong đó M tại vị trí 122 và V tại vị trí 123 được thay thế lần lượt bằng T và L để tránh sự oxy hóa có thể có.

Theo một số phương án theo sáng chế, CDR3 có SEQ ID NO:90 có thể được biến đổi tại vị trí 6 để làm giảm hoặc loại bỏ sự oxy hóa có thể có. Do đó, ví dụ SEQ ID NO:90 (GGPYGWYFDV) được cải biến thành trình tự bất kỳ trong số các trình tự sau đây: SEQ ID NO: 154-167.

Thao tác di truyền kháng thể đối với vùng Fc

Các kháng thể (ví dụ, các kháng thể được nhân hóa) và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) cũng có thể được thao tác di truyền để bao gồm các cải biến trong vùng Fc, thông thường để biến đổi một hoặc nhiều đặc tính của kháng thể, như thời gian bán thải huyết thanh, sự cố định bổ thể, liên kết thụ thể Fc, và/hoặc chức năng tác động (ví dụ, phản ứng gây độc tế bào phụ thuộc kháng nguyên). Hơn nữa, các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) có thể được cải biến về mặt hóa học (ví dụ, một hoặc nhiều các gốc hóa học có thể được gắn vào kháng thể) hoặc được cải biến để thay đổi sự glycosyl hóa của nó, một lần nữa là để biến đổi một hoặc nhiều đặc tính của kháng thể hoặc mảnh. Mỗi phương án trong số các phương án này được mô tả chi tiết hơn dưới đây. Việc đánh số các gốc trong vùng Fc là cách đánh số theo danh mục EU của Kabat.

Các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) cũng bao gồm các kháng thể và mảnh với các vùng Fc được cải biến (hoặc được phong bế) để tạo ra

chức năng tác động được biến đổi. Xem, ví dụ, Patent Mỹ số 5,624,821; WO2003/086310; WO2005/120571; WO2006/0057702. Các cải biến này có thể được sử dụng để làm tăng hoặc ức chế các phản ứng khác nhau của hệ miễn dịch, với các tác dụng có lợi có thể có trong chẩn đoán và điều trị bệnh. Các biến đổi của vùng Fc bao gồm các thay đổi axit amin (đột biến thay thế, đột biến khuyết và đột biến xen), sự glycosyl hóa hoặc sự khử glycosyl hóa, và bổ sung nhiều vùng Fc. Các thay đổi đối với Fc cũng có thể biến đổi thời gian bán thải của các kháng thể trong các kháng thể điều trị bệnh, có khả năng định liều có tần suất ít hơn và do đó làm tăng sự thuận tiện và làm giảm việc sử dụng vật liệu. Xem Presta (2005) *J. Allergy Clin. Immunol.* 116:731 ở 734-35.

Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) là kháng thể isotyp IgG4 hoặc mảnh bao gồm đột biến Serin thành Prolin tại vị trí tương ứng với vị trí 228 (S228P; danh mục EU) trong vùng bản lề của vùng hằng định chuỗi nặng. Đột biến này được thông báo là loại bỏ tính không đồng nhất của các cầu disulfua liên chuỗi nặng trong vùng bản lề (Angal *et al. nêu ở trên*; vị trí 241 dựa trên hệ thống đánh số Kabat).

Theo một phương án của sáng chế, vùng bản lề của CH1 được cải biến để cho số lượng các gốc xystein trong vùng bản lề tăng lên hoặc giảm đi. Hướng tiếp cận này còn được mô tả trong Patent Mỹ số 5,677,425. Số lượng các gốc xystein trong vùng bản lề của CH1 được biến đổi, ví dụ, để hỗ trợ sự lắp ráp của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng hoặc để làm tăng hoặc làm giảm độ ổn định của kháng thể.

Theo một phương án khác, vùng bản lề Fc của kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5 hoặc 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được đột biến để làm giảm thời gian bán thải sinh học của kháng thể hoặc mảnh. Cụ thể hơn, một hoặc nhiều đột biến axit amin được đưa vào vùng mặt phân giới miền CH2-CH3 của mảnh bản lề Fc để cho kháng thể hoặc mảnh có liên kết với protein A tụ cầu ((SpA) suy giảm so với liên kết SpA - miền bản lề Fc tự nhiên. Hướng tiếp cận này được mô tả chi tiết hơn trong Patent Mỹ số 6,165,745.

Theo một phương án khác, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế (ví dụ, 14A6 hoặc 28H5 hoặc kiểu được nhân hóa của nó) được cải biến để làm tăng thời gian bán thải sinh học của nó. Các hướng tiếp cận khác nhau là thích hợp. Ví dụ,

một hoặc nhiều đột biến sau đây có thể được đưa vào: T252L, T254S, T256F, như được mô tả trong Patent Mỹ số 6,277,375. Theo cách khác, để làm tăng thời gian bán thải sinh học, kháng thể có thể được biến đổi trong vùng CH1 hoặc CL để chứa hỗ trợ epitop liên kết thụ thể được lấy ra từ hai vòng của miền CH2 của vùng Fc của IgG, như được mô tả trong Patent Mỹ số 5,869,046 và 6,121,022.

Theo các phương án khác nữa, vùng Fc được biến đổi bằng cách thay thế ít nhất một gốc axit amin bằng một gốc axit amin khác để biến đổi (các) chức năng tác động của kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên. Ví dụ, một hoặc nhiều axit amin được chọn từ các gốc axit amin 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320 và 322 có thể được thay thế bằng một gốc axit amin khác để cho kháng thể có ái lực biến đổi đối với phối tử hiệu ứng và giữ lại khả năng liên kết kháng nguyên của kháng thể gốc. Phối tử hiệu ứng với ái lực được biến đổi có thể là, ví dụ, thụ thể Fc hoặc thành phần C1 của bổ thể. Hướng tiếp cận này được mô tả chi tiết hơn trong Patent Mỹ số 5,624,821 và 5,648,260.

Trong một ví dụ khác, một hoặc nhiều axit amin được chọn từ các gốc axit amin 329, 331 và 322 có thể được thay thế bằng một gốc axit amin khác để cho kháng thể có liên kết C1q được biến đổi và/hoặc làm giảm hoặc hủy bỏ phản ứng gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC). Hướng tiếp cận này được mô tả chi tiết hơn trong Patent Mỹ số 6,194,551.

Trong một ví dụ khác, một hoặc nhiều gốc axit amin trong các vị trí axit amin 231 và 239 được biến đổi để nhờ đó biến đổi khả năng của kháng thể để cố định bổ thể. Hướng tiếp cận này còn được mô tả trong Công bố đơn PCT số WO 94/29351.

Theo một ví dụ khác nữa, vùng Fc được biến đổi để làm giảm khả năng của kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế (ví dụ, 14A6 hoặc 28H5 hoặc kiểu được nhân hóa của nó) để điều tiết phản ứng gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) và/hoặc để làm giảm ái lực của kháng thể hoặc mảnh thụ thể Fcγ bằng cách cải biến một hoặc nhiều axit amin tại các vị trí sau đây: 238, 239, 243, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 264, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 315, 320, 322, 324, 326, 327, 329, 330, 331, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 hoặc 439. Hướng tiếp cận này còn được mô tả trong Công bố đơn PCT số WO 00/42072. Hơn nữa, vị trí liên kết trên IgG1 ở người đối

với Fc γ R1, Fc γ R2, Fc γ R3 và FcRn đã được định vị và các biến thể với liên kết được cải thiện được mô tả (xem Shields *et al.* (2001) *J. Biol. Chem.* 276:6591-6604).

Theo một phương án của sáng chế, vùng Fc được biến đổi để làm giảm khả năng của kháng thể theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) để làm trung gian cho chức năng tác động và/hoặc để làm tăng đặc tính kháng viêm bằng cách cải biến các gốc 243 và 264. Theo một phương án, vùng Fc của kháng thể hoặc mảnh được cải biến bằng cách thay đổi các gốc tại các vị trí 243 và 264 thành alanin. Theo một phương án, vùng Fc được biến đổi để làm giảm khả năng của kháng thể hoặc mảnh để làm trung gian cho chức năng tác động và/hoặc để làm tăng đặc tính kháng viêm bằng cách cải biến các gốc 243, 264, 267 và 328.

Tăng cường chức năng tác động

Theo một số phương án, vùng Fc của kháng thể kháng TIGIT được cải biến để làm tăng khả năng của kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên để làm trung gian cho chức năng tác động và/hoặc để làm tăng liên kết của chúng với thụ thể Fc gamma (Fc γ Rs).

Thuật ngữ "Chức năng tác động" như được sử dụng ở đây được hiểu là dùng để chỉ một hoặc nhiều hoạt tính gây độc qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC), các đáp ứng qua trung gian hoạt tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC), sự thực bào qua trung gian Fc hoặc sự thực bào của tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCP) và sự tuần hoàn kháng thể thông qua thụ thể FcRn.

Tương tác giữa vùng hằng định của protein liên kết kháng nguyên và các thụ thể Fc (FcR) khác nhau bao gồm Fc γ RI (CD64), Fc γ RII (CD32) và Fc γ RIII (CD16) được tin rằng để làm trung gian cho các chức năng tác động, như ADCC và CDC, của protein liên kết kháng nguyên. Thụ thể Fc cũng là quan trọng đối với kháng thể liên kết chéo, có thể là quan trọng đối với sự miễn dịch chống khối u.

Chức năng tác động có thể được đo theo nhiều cách bao gồm ví dụ thông qua liên kết của Fc γ RIII với các tế bào giết tự nhiên hoặc thông qua Fc γ RI với bạch cầu đơn nhân/đại thực bào để đo chức năng tác động ADCC. Ví dụ, protein liên kết kháng nguyên theo sáng chế có thể được đánh giá về chức năng tác động ADCC trong thử nghiệm tế bào giết tự nhiên. Các ví dụ về các thử nghiệm có thể được tìm thấy trong

Shields et al, 2001 *J. Biol. Chem.*, Vol. 276, p 6591-6604; Chappel et al, 1993 *J. Biol. Chem.*, Vol 268, p 25124-25131; Lazar et al, 2006 PNAS, 103; 4005-4010.

Các đặc tính ADCC hoặc CDC của các kháng thể theo sáng chế, hoặc đặc tính liên kết chéo của chúng, có thể được tăng cường theo nhiều cách.

Vùng hằng định của IgG1 ở người chứa các đột biến đặc hiệu hoặc sự glycosyl hóa được biến đổi trên gốc Asn297 được thể hiện là tăng cường liên kết với thụ thể Fc. Trong một số trường hợp, các đột biến này cũng được thể hiện là làm tăng cường ADCC và CDC (Lazar et al. PNAS 2006, 103; 4005-4010; Shields et al. *J Biol Chem* 2001, 276; 6591-6604; Nechansky et al. *Mol Immunol*, 2007, 44; 1815-1817).

Theo một phương án của sáng chế, các đột biến này trong một hoặc nhiều vị trí được chọn từ 239, 332 và 330 (IgG1), hoặc các vị trí tương đương trong các isotyp IgG khác. Các ví dụ về các đột biến thích hợp là S239D và I332E và A330L. Theo một phương án, protein liên kết kháng nguyên theo sáng chế ở đây được mô tả được đột biến tại các vị trí 239 và 332, ví dụ S239D và I332E hoặc theo một phương án khác được đột biến tại ba hoặc nhiều vị trí được chọn từ 239 và 332 và 330, ví dụ S239D và I332E và A330L. (đánh số theo danh mục EU).

Theo một phương án khác của sáng chế, sáng chế đề xuất kháng thể bao gồm vùng hằng định chuỗi nặng với profin glycosyl hóa được biến đổi để cho protein liên kết kháng nguyên có chức năng tác động được tăng cường. Ví dụ, trong đó kháng thể có ADCC được tăng cường hoặc CDC được tăng cường hoặc trong đó nó có cả chức năng tác động ADCC và CDC được tăng cường. Các ví dụ về các phương pháp luận thích hợp để tạo ra protein liên kết kháng nguyên với profin glycosyl hóa được biến đổi được mô tả trong WO2003011878, WO2006014679 và EP1229125.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất các kháng thể “không được fucosyl hóa” hoặc “được bỏ qua quá trình fucosyl hóa”. Các kháng thể không được fucosyl hóa che giấu cấu trúc lõi tri-manosyl gồm các N-glycan kiểu phức hệ của Fc mà không có gốc fucoza. Các kháng thể được thao tác di truyền glyco này thiếu gốc fucoza lõi từ Fc N-glycan có thể thể hiện ADCC mạnh hơn so với các dạng tương đương được fucosyl hóa do sự tăng cường khả năng liên kết FcgamaRIIIa.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp sản xuất kháng thể theo sáng chế bao gồm các bước: a) nuôi cấy tế bào chủ tái tổ hợp bao gồm vectơ biểu hiện bao gồm axit nucleic

được phân lập như được mô tả ở đây, trong đó tế bào chủ tái tổ hợp không chứa alpha-1,6-fucosyltransferaza; và b) thu hồi protein liên kết kháng nguyên. Tế bào chủ tái tổ hợp có thể thường không chứa gen mã hóa alpha-1,6-fucosyltransferaza (ví dụ các tế bào chủ nấm men như *Pichia* sp.) hoặc có thể được cải biến di truyền để bất hoạt alpha-1,6-fucosyltransferaza. Tế bào chủ tái tổ hợp được cải biến di truyền để bất hoạt gen FUT8 mã hóa alpha-1,6-fucosyltransferaza là sẵn có. Xem, ví dụ, hệ thống kỹ thuật POTELLIGENT™ có sẵn từ BioWa, Inc. (Princeton, N.J.) trong đó các tế bào CHOK1SV thiếu chức năng sao chép của gen FUT8 tạo ra kháng thể đơn dòng có hoạt tính của phản ứng gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) được tăng cường mà tăng lên so với kháng thể đơn dòng giống hệt được tạo ra trong tế bào có gen FUT8 chức năng. Các khía cạnh về hệ thống kỹ thuật POTELLIGENT™ được mô tả trong US7214775, US6946292, WO0061739 và WO0231240. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này sẽ nhận ra các hệ thống thích hợp khác.

Sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này rằng các cải biến này không những có thể được sử dụng một mình mà còn có thể được sử dụng kết hợp với nhau để tăng cường thêm chức năng tác động.

Sản xuất các kháng thể với sự glycosyl hóa được cải biến

Theo một phương án khác nữa, các kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) bao gồm mô hình glycosyl hóa cụ thể. Ví dụ, kháng thể được bỏ qua quá trình fucosyl hóa hoặc không được glycosyl hóa hoặc mảnh của nó có thể được tạo ra (nghĩa là, kháng thể thiếu fucoza hoặc sự glycosyl hóa, tương ứng). Mô hình glycosyl hóa của kháng thể hoặc mảnh có thể được biến đổi để, ví dụ, làm tăng ái lực hoặc ái tính của kháng thể hoặc mảnh đối với kháng nguyên TIGIT. Các cải biến này có thể được hoàn thiện bằng cách, ví dụ, biến đổi một hoặc nhiều vị trí glycosyl hóa trong trình tự kháng thể hoặc mảnh. Ví dụ, một hoặc nhiều đột biến thay thế axit amin có thể được tạo ra mà sự loại bỏ kết quả của một hoặc nhiều vị trí glycosyl hóa khung vùng biến đổi để nhờ đó loại bỏ sự glycosyl hóa tại vị trí đó. Sự aglycosyl hóa này có thể làm tăng ái lực hoặc ái tính của kháng thể hoặc mảnh kháng nguyên. Xem, ví dụ, Patent Mỹ số 5,714,350 và 6,350,861.

Các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) có thể còn bao gồm các kháng thể được tạo ra trong các tế bào chủ của sinh vật có nhân điển hình bậc thấp, cụ thể là các tế bào chủ nấm như nấm men và nấm sợi được thao tác di truyền để tạo ra glycoprotein có mô hình glycosyl hóa giống người hoặc động vật có vú (xem ví dụ, Choi *et al.*, (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100: 5022-5027; Hamilton *et al.*, (2003) *Science* 301: 1244-1246; Hamilton *et al.*, (2006) *Science* 313: 1441-1443; Nett *et al.*, *Yeast* 28(3):237-52 (2011); Hamilton *et al.*, *Curr Opin Biotechnol.* Oct;18(5):387-92 (2007)). Một ưu điểm cụ thể về các tế bào chủ được cải biến di truyền đối với dòng tế bào động vật có vú được sử dụng hiện tại là khả năng để kiểm soát profin glycosyl hóa của glycoprotein được sản sinh trong các tế bào để cho chế phẩm chứa glycoprotein có thể được tạo ra trong đó cấu trúc N-glycan cụ thể chiếm ưu thế (xem, ví dụ, Patent Mỹ số 7,029,872 và Patent Mỹ số 7,449,308). Các tế bào chủ được cải biến di truyền này được sử dụng để tạo ra các kháng thể có cấu trúc N-glycan cụ thể chiếm ưu thế (xem ví dụ, Li *et al.*, (2006) *Nat. Biotechnol.* 24: 210-215).

Theo các phương án cụ thể, các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) còn bao gồm các kháng thể được sản xuất trong các tế bào chủ của sinh vật có nhân điển hình bậc thấp và bao gồm N-glycan lai và phức hệ được fucosyl hóa và không được fucosyl hóa, bao gồm các dạng được chia đôi và có nhiều nhánh, gồm nhưng không giới hạn ở N-glycan như $\text{GlcNAc}_{(1-4)}\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{Gal}_{(1-4)}\text{GlcNAc}_{(1-4)}\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; $\text{NANA}_{(1-4)}\text{Gal}_{(1-4)}\text{GlcNAc}_{(1-4)}\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$.

Theo các phương án cụ thể, các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được đề xuất ở đây (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) có thể bao gồm các kháng thể hoặc mảnh có ít nhất một N-glycan lai được chọn từ nhóm bao gồm $\text{GlcNAcMan}_5\text{GlcNAc}_2$; $\text{GalGlcNAcMan}_5\text{GlcNAc}_2$; và $\text{NANAGalGlcNAcMan}_5\text{GlcNAc}_2$. Theo các khía cạnh cụ thể, N-glycan lai là các loại N-glycan chiếm ưu thế trong chế phẩm.

Theo các phương án cụ thể, các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được đề xuất ở đây (ví dụ, 14A6, 28H5; 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) bao gồm các kháng thể và mảnh có ít nhất một N-glycan phức hệ được chọn từ

nhóm bao gồm GlcNAcMan₃GlcNAc₂; GalGlcNAcMan₃GlcNAc₂; NANAGalGlcNAcMan₃GlcNAc₂; GlcNAc₂Man₃GlcNAc₂; GalGlcNAc₂Man₃GlcNAc₂; Gal₂GlcNAc₂Man₃GlcNAc₂; NANAGal₂GlcNAc₂Man₃GlcNAc₂; và NANA₂Gal₂GlcNAc₂Man₃GlcNAc₂. Theo các khía cạnh cụ thể, *N*-glycan phức hệ là các loại *N*-glycan chiếm ưu thế trong chế phẩm. Theo các khía cạnh khác, *N*-glycan phức hệ là các loại *N*-glycan cụ thể bao gồm khoảng 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% *N*-glycan phức hệ trong chế phẩm. Theo một phương án, kháng thể và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được đề xuất ở đây bao gồm *N*-glycan phức hệ, trong đó ít nhất là 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99%, hoặc 100% *N*-glycan phức hệ bao gồm cấu trúc NANA₂Gal₂GlcNAc₂Man₃GlcNAc₂, trong đó cấu trúc này được bỏ qua quá trình fucosyl hóa. Cấu trúc này có thể được tạo ra, ví dụ, trong các tế bào chủ *Pichia pastoris* được thao tác di truyền.

Theo các phương án cụ thể, *N*-glycan được fucosyl hóa. Nhìn chung, fucoza là một liên kết α 1,3 với GlcNAc tại đầu khử của *N*-glycan, liên kết α 1,6 với GlcNAc tại đầu khử của *N*-glycan, liên kết α 1,2 với Gal tại đầu không khử của *N*-glycan, liên kết α 1,3 với GlcNAc tại đầu không khử của *N*-glycan, hoặc liên kết α 1,4 với GlcNAc tại đầu không khử của *N*-glycan.

Do đó, theo các khía cạnh cụ thể của chế phẩm glycoprotein nêu trên, glycoform là một liên kết α 1,3 hoặc fucoza liên kết α 1,6 để tạo ra glycoform được chọn từ nhóm bao gồm Man₅GlcNAc₂(Fuc), GlcNAcMan₅GlcNAc₂(Fuc), Man₃GlcNAc₂(Fuc), GlcNAcMan₃GlcNAc₂(Fuc), GlcNAc₂Man₃GlcNAc₂(Fuc), GalGlcNAc₂Man₃GlcNAc₂(Fuc), Gal₂GlcNAc₂Man₃GlcNAc₂(Fuc), NANAGal₂GlcNAc₂Man₃GlcNAc₂(Fuc), và NANA₂Gal₂GlcNAc₂Man₃GlcNAc₂(Fuc); trong liên kết α 1,3 hoặc fucoza liên kết α 1,4 để tạo ra glycoform được chọn từ nhóm bao gồm GlcNAc(Fuc)Man₅GlcNAc₂, GlcNAc(Fuc)Man₃GlcNAc₂, GlcNAc₂(Fuc₁₋₂)Man₃GlcNAc₂, GalGlcNAc₂(Fuc₁₋₂)Man₃GlcNAc₂, Gal₂GlcNAc₂(Fuc₁₋₂)Man₃GlcNAc₂, NANAGal₂GlcNAc₂(Fuc₁₋₂)Man₃GlcNAc₂, và NANA₂Gal₂GlcNAc₂(Fuc₁₋₂)Man₃GlcNAc₂; hoặc trong fucoza liên kết α 1,2 để tạo ra glycoform được chọn từ nhóm bao gồm Gal(Fuc)GlcNAc₂Man₃GlcNAc₂, Gal₂(Fuc₁₋₂)GlcNAc₂Man₃GlcNAc₂,

NANAGal₂(Fuc₁₋₂)GlcNAc₂Man₃GlcNAc₂, và NANA₂Gal₂(Fuc₁₋₂)GlcNAc₂Man₃GlcNAc₂.

Theo các khía cạnh khác, các kháng thể (ví dụ, các kháng thể được nhân hóa) hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng bao gồm *N-glycan* manosa cao, gồm nhưng không giới hạn ở, Man₈GlcNAc₂, Man₇GlcNAc₂, Man₆GlcNAc₂, Man₅GlcNAc₂, Man₄GlcNAc₂, hoặc *N-glycan* gồm có cấu trúc Man₃GlcNAc₂ *N-glycan*.

Theo các khía cạnh khác, *N-glycan* phức hệ còn bao gồm các dạng được chia đôi và có nhiều nhánh được fucosyl hóa và không được fucosyl hóa.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "*N-glycan*" và "glycoform" được sử dụng thay thế cho nhau và dùng để chỉ oligosacarit được liên kết *N*, ví dụ, oligosacarit được gắn với gốc asparagin của polypeptit bằng liên kết asparagin-*N*-axetylglucosamin. Glycoprotein được liên kết *N* chứa gốc *N*-axetylglucosamin được liên kết với amit nitơ của gốc asparagin trong protein. Các đường chiếm ưu thế được tìm thấy trên glycoprotein là glucoza, galactoza, manosa, fucoza, *N*-axetylgalactosamin (GalNAc), *N*-axetylglucosamin (GlcNAc) và axit sialic (ví dụ, axit *N*-axetyl-neuraminic (NANA)). Việc xử lý các nhóm đường xảy ra đồng thời với sự dịch mã trong khoang của ER và tiếp tục sau dịch mã trong thể Golgi đối với glycoprotein được liên kết *N*.

N-glycan có một lõi pentasacarit chung chứa Man₃GlcNAc₂ ("Man" dùng để chỉ manosa; "Glc" dùng để chỉ glucoza; và "NAc" dùng để chỉ *N*-axetyl; GlcNAc dùng để chỉ *N*-axetylglucosamin). Thông thường, các cấu trúc *N-glycan* được thể hiện bởi đầu không khử bên trái và đầu khử bên phải. Đầu khử của *N-glycan* là đầu được gắn vào gốc Asn bao gồm vị trí glycosyl hóa trên protein. *N-glycan* khác về số lượng các nhánh (anten) bao gồm đường ngoại vi (ví dụ, GlcNAc, galactoza, fucoza và axit sialic) được bổ sung vào cấu trúc lõi Man₃GlcNAc₂ ("Man3") cũng được đề cập đến dưới dạng "lõi trimanosa", "lõi pentasacarit" hoặc "lõi paucimanosa". *N-glycan* được phân loại theo các thành phần được phân nhánh (ví dụ, manosa cao, phức hệ hoặc lai). *N-glycan* loại "manosa cao" có năm hoặc nhiều hơn gốc manosa. *N-glycan* loại "phức hệ" thông thường có ít nhất một GlcNAc được gắn với nhánh 1,3 manosa và ít nhất một GlcNAc được gắn vào nhánh 1,6 manosa của lõi "trimanosa". *N-glycan* phức hệ cũng có thể có các gốc galactoza ("Gal") hoặc *N*-axetylgalactosamin ("GalNAc") tùy ý được cải biến bằng axit sialic hoặc các dẫn xuất (ví dụ, "NANA" hoặc "NeuAc", trong đó "Neu" dùng

để chỉ axit neuraminic và "Ac" dùng để chỉ axetyl). *N-glycan* phức hệ cũng có thể có các phần thay thế trong chuỗi bao gồm GlcNAc "chia đôi" và lõi fucoza ("Fuc"). *N-glycan* phức hệ cũng có thể có nhiều anten trên "lõi trimanoza," thường được đề cập đến dưới dạng "glycan nhiều anten." N-glycan "lai" có ít nhất một GlcNAc trên đầu cuối của nhánh 1,3 manosa của lõi trimanoza và không hoặc nhiều manosa trên nhánh 1,6 manosa trên lõi trimanoza. N-glycan khác nhau cũng được đề cập đến dưới dạng "glycoform."

Đối với *N-glycan* phức hệ, thuật ngữ "G-2", "G-1", "G0", "G1", "G2", "A1", và "A2" có nghĩa như sau. "G-2" dùng để chỉ cấu trúc *N-glycan* có thể được mô tả dưới dạng $\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; thuật ngữ "G-1" dùng để chỉ cấu trúc *N-glycan* có thể được mô tả dưới dạng $\text{GlcNAcMan}_3\text{GlcNAc}_2$; thuật ngữ "G0" dùng để chỉ cấu trúc *N-glycan* có thể được mô tả dưới dạng $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; thuật ngữ "G1" dùng để chỉ cấu trúc *N-glycan* có thể được mô tả dưới dạng $\text{GalGlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; thuật ngữ "G2" dùng để chỉ cấu trúc *N-glycan* có thể được mô tả dưới dạng $\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; thuật ngữ "A1" dùng để chỉ cấu trúc *N-glycan* có thể được mô tả dưới dạng $\text{NANAGal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$; và, thuật ngữ "A2" dùng để chỉ cấu trúc *N-glycan* có thể được mô tả dưới dạng $\text{ANA}_2\text{Gal}_2\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$. Trừ khi có quy định khác, thuật ngữ G-2", "G-1", "G0", "G1", "G2", "A1", và "A2" dùng để chỉ các dạng *N-glycan* thiếu fucoza được gắn vào gốc GlcNAc tại đầu khử của N-glycan. Khi thuật ngữ bao gồm "F", thì "F" dùng để chỉ các dạng *N-glycan* chứa gốc fucoza trên gốc GlcNAc tại đầu khử của N-glycan. Ví dụ, tất cả G0F, G1F, G2F, A1F, và A2F chỉ ra rằng *N-glycan* còn bao gồm gốc fucoza được gắn vào gốc GlcNAc tại đầu khử của N-glycan. Sinh vật có nhân điển hình bậc thấp như nấm men và nấm sợi thường không tạo ra *N-glycan* mà tạo ra fucoza.

Đối với *N-glycan* nhiều nhánh, thuật ngữ "*N-glycan* nhiều nhánh" dùng để chỉ *N-glycan* còn bao gồm gốc GlcNAc trên gốc manosa bao gồm đầu không khử của nhánh 1,6 hoặc nhánh 1,3 của N-glycan hoặc gốc GlcNAc trên mỗi gốc manosa bao gồm đầu không khử của nhánh 1,6 và nhánh 1,3 của N-glycan. Do đó, *N-glycan* nhiều nhánh có thể được đặc trưng bởi các công thức $\text{GlcNAc}_{(2-4)}\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, $\text{Gal}_{(1-4)}\text{GlcNAc}_{(2-4)}\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, hoặc $\text{NANA}_{(1-4)}\text{Gal}_{(1-4)}\text{GlcNAc}_{(2-4)}\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$. Thuật ngữ "1-4" dùng để chỉ 1, 2, 3, hoặc 4 gốc.

Đối với *N-glycan* được chia đôi, thuật ngữ "*N-glycan* được chia đôi" dùng để chỉ *N-glycan* trong đó gốc GlcNAc được liên kết với gốc mannoza tại đầu khử của *N-glycan*. *N-glycan* được chia đôi có thể được đặc trưng bởi công thức $\text{GlcNAc}_3\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$ trong đó mỗi gốc mannoza được liên kết tại đầu không khử của nó với gốc GlcNAc. Ngược lại, khi *N-glycan* nhiều nhánh được mô tả dưới dạng $\text{GlcNAc}_3\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, công thức này chỉ ra rằng hai gốc GlcNAc được liên kết với gốc mannoza tại đầu không khử của một trong hai nhánh của *N-glycan* và một gốc GlcNAc được liên kết với gốc mannoza tại đầu không khử của nhánh *N-glycan* khác.

Các đặc tính tự nhiên của kháng thể

Các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) còn có thể chứa một hoặc nhiều vị trí glycosyl hóa trong vùng biến đổi globulin miễn dịch chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ. Vị trí glycosyl hóa này có thể tạo ra tính kháng nguyên tăng của kháng thể hoặc mảnh hoặc sự biến đổi của pK của kháng thể do liên kết kháng nguyên được biến đổi (Marshall *et al.* (1972) *Annu Rev Biochem* 41:673-702; Gala và Morrison (2004) *J Immunol* 172:5489-94; Wallick *et al* (1988) *J Exp Med* 168:1099-109; Spiro (2002) *Glycobiology* 12:43R-56R; Parekh *et al* (1985) *Nature* 316:452-7; Mimura *et al.* (2000) *Mol Immunol* 37:697-706). Sự glycosyl hóa đã được biết xuất hiện tại motif chứa trình tự N-X-S/T.

Mỗi kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) sẽ có điểm đẳng điện (pI) duy nhất, nhìn chung nằm trong khoảng pH từ 6 đến 9,5. pI đối với kháng thể IgG1 thông thường nằm trong khoảng pH bằng từ 7 đến 9,5 và pI đối với kháng thể IgG4 thông thường nằm trong khoảng pH từ 6 đến 8.

Mỗi kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) sẽ có nhiệt độ nóng chảy đặc trưng, với nhiệt độ nóng chảy cao hơn thể hiện độ ổn định nói chung lớn hơn *in vivo* (Krishnamurthy R và Manning MC (2002) *Curr Pharm Biotechnol* 3:361-71). Nhìn chung, T_{M1} (nhiệt độ không gấp nếp ban đầu) có thể lớn hơn 60°C, lớn hơn 65°C, hoặc lớn hơn 70°C. Nhiệt

độ nóng chảy của kháng thể hoặc mảnh có thể được đo bằng cách sử dụng phương pháp phân tích nhiệt quét vi sai (Chen *et al* (2003) *Pharm Res* 20:1952-60; Ghirlando *et al* (1999) *Immunol Lett* 68:47-52) hoặc máy quang phổ lưỡng sắc tròn (Murray *et al.* (2002) *J. Chromatogr Sci* 40:343-9).

Theo một phương án khác, các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) được lựa chọn để không làm phân hủy nhanh chóng. Sự phân hủy của kháng thể hoặc mảnh có thể được đo bằng cách sử dụng kỹ thuật điện di mao quản (CE) và MALDI-MS (Alexander AJ và Hughes DE (1995) *Anal Chem* 67:3626-32).

Theo một phương án khác, các kháng thể (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được lựa chọn có các tác dụng kết tụ tối thiểu, có thể dẫn đến sự kích hoạt đáp ứng miễn dịch không mong muốn và/hoặc đặc tính được động học được biến đổi hoặc không có lợi. Nhìn chung, các kháng thể và mảnh có thể chấp nhận được với sự kết tụ bằng 25% hoặc nhỏ hơn, 20% hoặc nhỏ hơn, 15% hoặc nhỏ hơn, 10% hoặc nhỏ hơn, hoặc 5% hoặc nhỏ hơn. Sự kết tụ có thể được đo bằng các kỹ thuật khác nhau, bao gồm cột loại trừ kích thước (SEC), phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), và phương pháp tán xạ ánh sáng.

Thể liên hợp kháng thể

Các kháng thể kháng TIGIT và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) cũng có thể được liên hợp với một gốc hóa học. Gốc hóa học có thể là, *không kể những cái khác*, polyme, nuclit phóng xạ hoặc yếu tố gây độc tế bào. Theo các phương án cụ thể, gốc hóa học là polyme làm tăng thời gian bán thải của kháng thể hoặc mảnh trong cơ thể của đối tượng. Polyme thích hợp gồm, nhưng không giới hạn ở, polyme ưa nước gồm, nhưng không giới hạn ở, polyetylen glycol (PEG) (ví dụ, PEG với trọng lượng phân tử bằng 2kDa, 5 kDa, 10 kDa, 12kDa, 20 kDa, 30kDa hoặc 40kDa), dextran và monometoxypolyetylen glycol (mPEG). Lee, *et al.*, (1999) (*Bioconj. Chem.* 10:973-981) bộc lộ kháng thể chuỗi đơn được liên hợp với PEG. Wen, *et al.*, (2001) (*Bioconj.*

Chem. 12:545-553) bộc lộ các kháng thể liên hợp với PEG được gắn với chất tạo chelat kim loại phóng xạ (axit diethylentriaminpentaaxetic (DTPA)).

Các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) cũng có thể được liên hợp với các nhãn như ^{99}Tc , ^{90}Y , ^{111}In , ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H , ^{131}I , ^{11}C , ^{15}O , ^{13}N , ^{18}F , ^{35}S , ^{51}Cr , ^{57}To , ^{226}Ra , ^{60}Co , ^{59}Fe , ^{57}Se , ^{152}Eu , ^{67}Cu , ^{217}Ci , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{47}Sc , ^{109}Pd , ^{234}Th , và ^{40}K , ^{157}Gd , ^{55}Mn , ^{52}Tr , và ^{56}Fe .

Các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) cũng có thể được PEGyl hóa, ví dụ để làm tăng thời gian bán thải (ví dụ, huyết thanh) sinh học của nó. Để PEGyl hóa kháng thể hoặc mảnh, kháng thể hoặc mảnh thông thường được phản ứng với dạng phản ứng của polyetylen glycol (PEG), như este phản ứng hoặc dẫn xuất aldehyt của PEG, trong các điều kiện trong đó một hoặc nhiều nhóm PEG trở nên được gắn với kháng thể hoặc mảnh. Theo các phương án cụ thể, sự PEGyl hóa được tiến hành thông qua phản ứng axyl hóa hoặc phản ứng alkyl hóa với phân tử PEG phản ứng (hoặc polyme hòa tan trong nước có phản ứng tương tự). Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "polyetylen glycol" được dùng để bao gồm dạng bất kỳ trong số các dạng của PEG được sử dụng để tạo dẫn xuất cho các protein khác, như mono (C1-C10) alkoxy hoặc aryloxy-polyetylen glycol hoặc polyetylen glycol-maleimit. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh được PEGyl hóa là kháng thể không được glycosyl hóa hoặc mảnh. Các phương pháp để PEGyl hóa các protein đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và có thể được ứng dụng với các kháng thể theo sáng chế. *Xem, ví dụ*, EP 0 154 316 và EP 0 401 384.

Các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) cũng có thể được liên hợp với các nhãn (chất đánh dấu) huỳnh quang hoặc phát quang hóa học, gồm các chất huỳnh quang như chelat đất hiếm, floresxein và dẫn xuất của nó, rhodamin và dẫn xuất của nó, isothioxyanat, phycoerythrin, phycoxyanin, alophycoxyanin, o-phtaladehyt, florescamin, ^{152}Eu , dansyl, umbeliferon, luxiferin, nhãn luminal, nhãn isoluminal, nhãn acridini este thơm, nhãn imidazol, nhãn muối acridimi, nhãn oxalat este, nhãn aequorin, 2,3-dihydrophtalazindion, biotin/avidin, nhãn quay và các gốc tự do ổn định.

Các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) cũng có thể được liên hợp với yếu tố gây độc tế bào như độc tố bệnh bạch hầu, chuỗi A ngoại độc tố *Pseudomonas aeruginosa*, chuỗi A rixin, chuỗi A abrin, chuỗi A modecxin, alpha-sarxin, protein *Aleurites fordii* và các hợp chất (ví dụ, axit béo), protein dianthin, protein *Phytolacca americana* PAPI, PAPII, và PAP-S, chất ức chế *momordica charantia*, curxin, crotin, chất ức chế *saponaria officinalis*, mitogelin, restrictoxin, phenomyxin, và enomyxin.

Phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật để liên hợp các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) với các gốc khác nhau có thể được sử dụng, bao gồm các phương pháp được mô tả bởi Hunter, *et al.*, (1962) *Nature* 144:945; David, *et al.*, (1974) *Biochemistry* 13:1014; Pain, *et al.*, (1981) *J. Immunol. Meth.* 40:219; và Nygren, J., (1982) *Histochem. và Cytochem.* 30:407. Phương pháp liên hợp các kháng thể và mảnh thông thường và đã biết rất rõ trong lĩnh vực kỹ thuật.

Ứng dụng trong điều trị bệnh của kháng thể kháng TIGIT

Sáng chế còn đề xuất phương pháp điều trị cho đối tượng, bao gồm đối tượng người, cần điều trị bằng các kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên được phân lập của chúng được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng). Theo một phương án của sáng chế, đối tượng này bị bệnh nhiễm trùng hoặc bệnh lây nhiễm. Theo một phương án khác theo sáng chế, đối tượng này bị bệnh ung thư. Theo một phương án, bệnh ung thư là khối u rắn bị thâm nhiễm bởi các lympho bào thâm nhiễm vào khối u mà biểu hiện TIGIT. Theo một phương án, bệnh ung thư là, ví dụ, sarcoma xương, ung thư mô liên kết cơ vân, u nguyên bào thần kinh, bệnh ung thư thận, bệnh bạch cầu, bệnh ung thư tế bào chuyển tiếp trong thận, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư Wilm, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tuyến tụy, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư xương, bệnh ung thư phổi (ví dụ, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ), bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư ruột kết-trực tràng, bệnh ung thư cổ tử cung, sarcoma màng hoạt dịch, bệnh ung thư đầu và cổ, sarcoma tế bào hình vảy, đa u tủy, bệnh ung thư tế bào thận, u nguyên bào võng mạc, u nguyên bào gan, sarcoma tế bào gan, u hắc ác tố, khối u dạng que của thận, sarcoma

Ewing, ung thư xương sụn, bệnh ung thư bào, u nguyên bào thần kinh đệm, u màng não tủy, u tuyến yên, u dây thần kinh thính giác, u thần kinh ngoại bì nguyên thủy, u nguyên bào tủy, u não tế bào hình sao, u sao bào bất sản, u thần kinh đệm ít nhánh, u màng não thất, u nhú đám rối màng mạch, bệnh đa hồng cầu nguyên phát, chứng tăng tiểu cầu nguyên phát, bệnh xơ tủy vô căn, sacôm mô mềm, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư màng trong dạ con, bệnh ung thư hạch hoặc bệnh ung thư gan, bệnh ung thư vú hoặc bệnh ung thư dạ dày. Theo một phương án của sáng chế, bệnh ung thư là bệnh ung thư di căn, ví dụ, của các dạng bệnh khác nhau được mô tả ở trên.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị cho đối tượng sử dụng kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng), trong đó đối tượng bị bệnh nhiễm virus. Theo một phương án, bệnh nhiễm virus là bệnh nhiễm trùng do virus được chọn từ nhóm bao gồm virus gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV), virus viêm gan (A, B, hoặc C), virus herpes (ví dụ, VZV, HSV-I, HAV-6, HSV-II, và CMV, virus Epstein Barr), adenovirus, virus cúm, flavivirus, echovirus, rhinovirus, coxsackie virus, coronavirus, virus hợp bào hô hấp, virus bệnh quai bị, rotavirus, virus sởi, virus rubella, parvovirus, virus bệnh đậu mùa ở súc vật, virus HTLV, virus bệnh sốt xuất huyết, papillomavirus, virus bệnh da nổi đốm, poliovirus, virus bệnh dại, virus JC hoặc virus bệnh viêm não.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị cho đối tượng sử dụng kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế, trong đó đối tượng bị bệnh nhiễm khuẩn. Theo một phương án, bệnh nhiễm khuẩn là bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn được chọn từ nhóm bao gồm *Chlamydia*, vi khuẩn rickettsia, trực khuẩn, tụ cầu khuẩn, khuẩn liên cầu, phế cầu khuẩn, cầu khuẩn màng não và lậu cầu, vi khuẩn gram âm hình que, vi khuẩn proteus, vi khuẩn serratia, vi khuẩn hình que pseudomonas, *Legionella*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Salmonella*, khuẩn hình que, *Vibrio cholerae*, *Clostridium tetan*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium lepromatosis*, và *Borriella*.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị cho đối tượng sử dụng kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế, trong đó đối tượng này bị bệnh nhiễm nấm. Theo một phương án, bệnh nhiễm nấm là

bệnh nhiễm trùng do nấm được chọn từ nhóm bao gồm *Candida* (*albicans*, *krusei*, *glabrata*, *tropicalis*, v.v.), *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* (*fumigatus*, *niger*, v.v.), giống *Mucorales* (*mucor*, *absidia*, *rhizopus*), *Sporothrix schenkii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* và *Histoplasma capsulatum*.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị cho đối tượng sử dụng kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế, trong đó đối tượng bị bệnh nhiễm ký sinh trùng. Theo một phương án, bệnh nhiễm ký sinh trùng là bệnh nhiễm trùng do ký sinh trùng được chọn từ nhóm bao gồm *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium*, *Pneumocystis carinii*, *Plasmodium vivax*, *Babesia microti*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii* và *Nippostrongylus brasiliensis*.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa hoặc ức chế liên kết của TIGIT với MHC lớp II, tăng cường sự hoạt hóa tế bào T đặc hiệu kháng nguyên hoặc kích thích sự sản sinh interleukin-2 bởi tế bào T ở đối tượng (ví dụ, người), ví dụ, trong đó đối tượng bị bệnh ung thư hoặc bệnh lây nhiễm (ví dụ, như được bàn luận trong bản mô tả này) bao gồm việc dùng một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó (ví dụ, 14A6, 28A5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng), tùy ý kết hợp với chất hóa trị liệu khác.

“Đối tượng” có thể là động vật có vú như người, chó, mèo, ngựa, cừu, chuột nhắt, chuột cống, khỉ (ví dụ, khỉ cynomolgus, ví dụ, *Macaca fascicularis*) hoặc thỏ. Theo các phương án được ưu tiên của sáng chế, đối tượng này là người.

Theo các phương án cụ thể, các kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) có thể được sử dụng một mình, hoặc kết hợp với các chất điều trị bệnh khác và/hoặc quy trình điều trị bệnh, để điều trị hoặc ngăn chặn bệnh bất kỳ như bệnh ung thư, ví dụ, như được bàn luận trong bản mô tả này, ở đối tượng cần điều trị hoặc ngăn chặn. Chế phẩm, ví dụ, được phẩm chứa chất mang được dùng, bao gồm các kháng thể và mảnh này kết hợp với chất điều trị bệnh khác là một phần của sáng chế.

Theo các phương án cụ thể, các kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) có thể được sử dụng một mình, hoặc kết hợp với vacxin ung thư.

Theo các phương án cụ thể, các kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) có thể được sử dụng một mình, hoặc kết hợp với chất hóa trị.

Theo các phương án cụ thể, các kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) có thể được sử dụng một mình, hoặc kết hợp với liệu pháp bức xạ.

Theo các phương án cụ thể, các kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) có thể được sử dụng một mình, hoặc kết hợp với các liệu pháp được hướng đích. Các ví dụ về các liệu pháp được hướng đích gồm: liệu pháp hoóc môn, chất ức chế dẫn truyền tín hiệu (ví dụ, chất ức chế EGFR, như cetuximab (Erbix) và erlotinib (Tarceva)); chất ức chế HER2 (ví dụ, trastuzumab (Herceptin) và pertuzumab (Perjeta)); chất ức chế BCR-ABL (như imatinib (Gleevec) và dasatinib (Sprycel)); chất ức chế ALK (như crizotinib (Xalkori) và ceritinib (Zykadia)); chất ức chế BRAF (như vemurafenib (Zelboraf) và dabrafenib (Tafinlar)), chất điều biến sự biểu hiện gen, chất kích thích quá trình chết theo chương trình (ví dụ, bortezomib (Velcade) và carfilzomib (Kymriah)), chất ức chế sự hình thành mạch (ví dụ, bevacizumab (Avastin) và ramucirumab (Cyramza), kháng thể đơn dòng được gắn với các độc tố (ví dụ, brentuximab vedotin (Adcetris) và ado-trastuzumab emtansin (Kadcyla)).

Theo các phương án cụ thể, các kháng thể kháng TIGIT hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) có thể được sử dụng kết hợp với chất điều trị bệnh chống bệnh ung thư hoặc thuốc miễn dịch điều biến như thụ thể điều biến miễn dịch chất ức chế, ví dụ, kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với thụ thể.

Do đó, sáng chế bao gồm chế phẩm bao gồm kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) kết hợp với pembrolizumab; cũng như phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh ung thư ở đối tượng bao gồm bước sử dụng một lượng hữu hiệu của

kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó và pembrolizumab cho đối tượng. Tùy ý, đối tượng cũng được sử dụng chất điều trị bệnh khác.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể được phân lập bao gồm globulin miễn dịch chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:33 và globulin miễn dịch chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:34. SEQ ID NO: 33 và 34 mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của pembrolizumab.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT) hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể được phân lập bao gồm globulin miễn dịch chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:35 và globulin miễn dịch chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:36. SEQ ID NO: 35 và 36 mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của nivolumab.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với một hoặc nhiều: kháng thể kháng PD1 (ví dụ, pembrolizumab, nivolumab, pidilizumab (CT-011)), kháng thể kháng PDL1, kháng thể kháng CTLA4, kháng thể kháng CS1 (ví dụ, elotuzumab), kháng thể kháng KIR2DL1/2/3 (ví dụ, lirilumab), kháng thể kháng CD137 (ví dụ, urelumab), kháng thể kháng GITR (ví dụ, TRX518), kháng thể kháng PD-L1 (ví dụ, BMS-936559, MSB0010718C hoặc MPDL3280A), kháng thể kháng PD-L2, kháng thể kháng ILT1, kháng thể kháng ILT2, kháng thể kháng ILT3, kháng thể kháng ILT4, kháng thể kháng ILT5, kháng thể kháng ILT6, kháng thể kháng ILT7, kháng thể kháng ILT8, kháng thể kháng CD40, kháng thể kháng OX40, kháng thể kháng ICOS, kháng thể kháng SIRP α , kháng thể kháng KIR2DL1, kháng thể kháng KIR2DL2/3, kháng thể kháng KIR2DL4, kháng thể kháng KIR2DL5A, kháng thể kháng KIR2DL5B, kháng thể kháng KIR3DL1, kháng thể kháng KIR3DL2, kháng thể kháng KIR3DL3, kháng thể kháng NKG2A, kháng thể kháng NKG2C, kháng thể kháng NKG2E, kháng thể kháng 4-1BB (ví dụ, PF-05082566), kháng thể kháng TSLP, kháng thể kháng IL-10, IL-10 hoặc IL-10 PEGyl hóa, hoặc chất ức chế phân tử hữu cơ nhỏ bất kỳ của các đích này.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng PD1.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng PDL1 (ví dụ, BMS-936559, MSB0010718C hoặc MPDL3280A).

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng CTLA4.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng CS1.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng KIR2DL1/2/3.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng CD137 (ví dụ, urelumab).

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng GITR (ví dụ, TRX518).

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng PD-L2.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng ITL1.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng ITL2.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng ITL3.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng ITL4.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng ITL5.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng ITL6.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng ITL7.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng ITL8.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng CD40.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng OX40.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng KIR2DL1.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng KIR2DL2/3.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng KIR2DL4.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng KIR2DL5A.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng KIR2DL5B.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng KIR3DL1.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng KIR3DL2.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng KIR3DL3.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng NKG2A.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng NKG2C.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng ICOS.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng SIRP α .

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng 4-1BB.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng IL-10.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với kháng thể kháng TSLP.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với IL-10 hoặc IL-10 PEGyl hóa.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với một hoặc nhiều chất ức chế (ví dụ, phân tử hữu cơ nhỏ hoặc kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó) như: chất ức chế MTOR (đích động vật có vú của rapamycin), chất gây độc tế bào, chất platin, chất ức chế EGFR, chất ức chế VEGF, chất ổn định vi ống, taxan, chất ức chế CD20, chất ức chế CD52, chất ức chế CD30, chất ức chế RANK (chất hoạt hóa thụ thể của kapa-B yếu tố nhân), RANKL (chất hoạt hóa thụ thể của phối tử kapa-B yếu tố nhân), chất ức chế ERK, chất ức chế MAP Kinaza, chất ức chế AKT, chất ức chế MEK, chất ức chế PI3K, chất ức chế HER1, chất ức chế HER2, chất ức chế HER3, chất ức chế HER4, chất ức chế Bcl2, chất ức chế CD22, chất ức chế CD79b, chất ức chế ErbB2, hoặc chất ức chế farnesyl protein transferaza.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với một hoặc nhiều hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất sau: axit 13-cis-retinoic, 3-[5-(metylsulfonylpiperadinmetyl)-indolyl]-quinolon, 4-hydroxytamoxifen, 5-deoxyuridin, 5'-deoxy-5-flouridin, 5-flouraxil, 6-mecaptopurin, 7-hydroxystaurosporin, A-443654, abirateronaxetat, abraxa, ABT-578, acolbifen, ADS-100380, ALT-110, altretamin, amifostin, aminoglutethimit, amrubixin, Amsacrin,

anagrelit, anastrozol, angiostatin, AP-23573, ARQ-197, arzoxifen, AS-252424, AS-605240, asparaginaza, AT-9263, atrasentan, axitinib, AZD1152, *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG) vaccin, batabulin, BC-210, besodutox, bevacizumab, bicalutamid, Bio111, BIO140, bleomycin, BMS-214662, BMS-247550, BMS-275291, BMS-310705, bortezomib, buserelin, busulfan, calcitriol, camptothecin, canertinib, capecitabin, carboplatin, carmustin, CC8490, Cediranib, CG-1521, CG-781, clamydixin, cloambuxil, clotoxin, xilengitit, ximitidin, xisplatin, cladribin, clodronat, COL-3, CP-724714, xyclophosphamid, xyproteron, xyproteronaxetat, xytarabin, xytosinearabinosit, dacarbazin, dacinostat, dactinomycin, dalotuzumab, danusertib, dasatanib, daunorubicin, decatanib, deguelin, denileukin, deoxycoformycin, depsipeptit, diarylpropionitril, diethylstilbestrol, diftiox, docetaxel, dovitinib, doxorubicin, droloxifen, edotecarin, edotreotit được đánh dấu y-tri-90, edotreotit, EKB-569, EMD121974, endostatin, enzalutamid, enzastaurin, epirubicin, epithilon B, ERA-923, Erbitux, erlotinib, estradiol, estramustin, etoposid, everolimus, exemestan, ficlatuzumab, finasterit, flavopiridol, floxuridin, fludarabin, fludrocortison, fluoxymesteron, flutamid, FOLFOX regimen, Fulvestrant, galeteron, gefitinib, gemxitabin, gimatecan, goserelin, goserelin axetat, gosypol, GSK461364, GSK690693, HMR-3339, hydroxyprogesteroncaproat, hydroxyure, IC87114, idarubicin, idoxyfen, ifosfamid, IM862, imatinib, IMC-1C11, INCB24360, INO1001, interferon, interleukin-12, ipilimumab, irinotecan, JNJ-16241199, ketoconazol, KRX-0402, lapatinib, lasofoxifen, letrozol, leucovorin, leuprolit, leuprolit axetat, levamisol, paclitaxel được giữ ở liposom, lomustin, lonafarnib, lucanthone, LY292223, LY292696, LY293646, LY293684, LY294002, LY317615, marimastat, mecloethamin, medroxyprogesteroneaxetat, megestrolaxetat, melphalan, mercaptopurin, mesna, metotrexat, mithramycin, mitomycin, mitotan, mitoxantron, tozasertib, MLN8054, neovastat, Neratinib, neuradiab, nilotinib, nilutimit, nolatrexed, NVP-BEZ235, oblimersen, octreotit, ofatumumab, hoặc egovomab, hoặc teronel, oxaliplatin, paclitaxel, palbociclib, pamidronat, panitumumab, pazopanib, PD0325901, PD184352, PEG-interferon, pemetrexed, pentostatin, perifosin, phenylalaninmustard, PI-103, pictilisib, PIK-75, pipendoxifen, PKI-166, plicamycin, porfime, prednison, procarbazin, progestin, PX-866, R-763, raloxifen, raltitrexed, razoxin, ridaforolimus, rituximab,

romidepsin, RTA744, rubitecan, scriptaid, Sdx102, seliciclib, selumetinib, semaxanib, SF1126, sirolimus, SN36093, sorafenib, spironolacton, squalamin, SR13668, streptozoxin, SU6668, axit suberoylanalit hydroxamic, sunitinib, estrogen tổng hợp, talampanel, talimogen laherparepvec, tamoxifen, temozolomit, temsirolimus, teniposit, tesmilifen, testosteron, tetrandrin, TGX-221, thalidomit, thioguanin, thiotepa, ticilimumab, tipifarnib, tivozanib, TKI-258, TLK286, topotecan, toremifen xitrat, trabectedin, trastuzumab, tretinoin, trichostatin A, triciribinephosphat monohydrat, triptorelin pamoat, TSE-424, uracil mustard, axit valproic, valrubixin, vandetanib, vatalanib, VEGF trap, vinblastin, vincristin, vindesin, vinorelbin, vitaxin, vitespan, vorinostat, VX-745, wortmannin, Xr311, zanolimumab, ZK186619, ZK-304709, ZM336372, ZSTK474.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với một hoặc nhiều thuốc chống nôn mửa gồm, nhưng không giới hạn ở: casopitant (GlaxoSmithKline), Netupitant (MGI-Helsinn) và thụ thể chất khối kháng NK-1 khác, palonosetron (được bán dưới tên Aloxi bởi MGI Pharma), aprepitant (được bán dưới tên Emend bởi Merck và Co.; Rahway, NJ), diphenhydramin (được bán dưới tên Benadryl® bởi Pfizer; New York, NY), hydroxyzin (được bán dưới tên Atarax® bởi Pfizer; New York, NY), metoclopramit (được bán dưới tên Reglan® bởi AH Robins Co.; Richmond, VA), lorazepam (được bán dưới tên Ativan® bởi Wyeth; Madison, NJ), alprazolam (được bán dưới tên Xanax® bởi Pfizer; New York, NY), haloperidol (được bán dưới tên Haldol® bởi Ortho-McNeil; Raritan, NJ), droperidol (Inapsine®), dronabinol (được bán dưới tên Marinol® bởi Solvay Pharmaceuticals, Inc.; Marietta, GA), dexametason (được bán dưới tên Decadron® bởi Merck và Co.; Rahway, NJ), methylprednisolon (được bán dưới tên Medrol® bởi Pfizer; New York, NY), procloperazin (được bán dưới tên Compazine® bởi Glaxosmithkline; Research Triangle Park, NC), granisetron (được bán dưới tên Kytril® bởi Hoffmann-La Roche Inc.; Nutley, NJ), ondansetron (được bán dưới tên Zofran® bởi Glaxosmithkline; Research Triangle Park, NC), dolasetron (được bán dưới tên Anzemet® bởi Sanofi-Aventis; New York, NY), tropisetron (được bán dưới tên Navoban® bởi Novartis; East Hanover, NJ).

Các tác dụng phụ khác của việc điều trị bệnh ung thư bao gồm sự thiếu hụt tế bào máu trắng và máu đỏ. Do đó, theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được kết hợp với tác nhân điều trị hoặc ngăn ngừa sự thiếu hụt này, như, *ví dụ*, filgrastim, PEG-filgrastim, erythropoietin, epoetin alfa hoặc darbepoetin alfa.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) được sử dụng kết hợp với liệu pháp bức xạ chống bệnh ung thư. Ví dụ, theo một phương án của sáng chế, liệu pháp bức xạ là liệu pháp xạ trị ngoài (EBT): phương pháp phân phối tia bức xạ của các tia X năng lượng cao vào vị trí của khối u. Tia bức xạ này được sinh ra ngoài cơ thể bệnh nhân (ví dụ, bởi máy gia tốc tuyến tính) và được hướng đích tại vị trí của khối u. Các tia X này có thể phá hủy các tế bào ung thư và kế hoạch điều trị cẩn thận cho phép các mô bình thường bao quanh không bị ảnh hưởng. Không có nguồn phóng xạ được đặt bên trong cơ thể người. Theo một phương án của sáng chế, liệu pháp bức xạ là liệu pháp tia bức xạ proton: loại trị liệu bảo giác tấn công mô bị bệnh bằng các proton thay vì tia X. Theo một phương án của sáng chế, liệu pháp bức xạ là liệu pháp bức xạ tia ngoài bảo giác: quy trình sử dụng kỹ thuật cải tiến để biến đổi liệu pháp bức xạ theo cấu tạo cơ thể của mỗi người. Theo một phương án của sáng chế, liệu pháp bức xạ là liệu pháp tia phóng xạ để gần: sự sắp xếp tạm thời của vật liệu có hoạt tính phóng xạ trong cơ thể, thường được sử dụng để tạo ra liều lượng thêm-hoặc tăng thêm-của sự bức xạ vào một vùng.

Theo một phương án của sáng chế, quy trình phẫu thuật được sử dụng kết hợp với kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) là phẫu thuật loại bỏ khối u.

Thuật ngữ “kết hợp với” chỉ ra rằng các thành phần được sử dụng trong phương pháp theo sáng chế (ví dụ, kháng thể kháng TIGIT (ví dụ, kháng thể được nhân hóa) hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) cùng với pembrolizumab) có thể được bào chế thành chế phẩm đơn để phân phối đồng thời hoặc được bào chế riêng rẽ thành hai hoặc nhiều chế phẩm (ví dụ, kit). Mỗi thành phần có thể được dùng cho đối tượng ở thời điểm khác nhau khi các thành phần khác được dùng; ví dụ, mỗi lần dùng có thể được tiến hành không đồng thời

(ví dụ, riêng rẽ hoặc tuần tự) ở các khoảng thời gian khác nhau so với khoảng thời gian đã cho. Hơn nữa, các thành phần riêng rẽ có thể được dùng cho đối tượng bằng đường dùng giống hoặc khác nhau.

Cách sử dụng theo thử nghiệm và chẩn đoán

Các kháng thể kháng TIGIT và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) có thể được sử dụng làm chất tinh chế ái lực. Trong quy trình này, các kháng thể kháng TIGIT và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được giữ cố định trên pha rắn như Sephadex, thủy tinh hoặc nhựa agarosa hoặc giấy lọc, sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Kháng thể hoặc mảnh đã cố định được cho tiếp xúc với mẫu chứa protein TIGIT (hoặc mảnh của nó) được tinh chế, và sau đó nên được rửa bằng dung môi thích hợp mà sẽ loại bỏ về cơ bản tất cả các vật liệu trong mẫu ngoại trừ protein TIGIT, được liên kết với kháng thể hoặc mảnh đã cố định. Cuối cùng, nên (giá thể) được rửa bằng dung môi rửa giải TIGIT được liên kết (ví dụ, protein A). Các kháng thể và mảnh được cố định này tạo ra một phần của sáng chế.

Sáng chế còn đề xuất các kháng nguyên để tạo ra các kháng thể thứ cấp là hữu ích, ví dụ, để tiến hành phương pháp Western blot và các thử nghiệm miễn dịch khác được bàn luận ở đây. Cụ thể, polypeptit được bộc lộ bao gồm vùng biến đổi và/hoặc trình tự CDR của kháng thể điều trị bệnh được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5 hoặc 31C6) và có thể được sử dụng để tạo ra các kháng thể kháng idiotyp để sử dụng để phát hiện đặc hiệu sự có mặt của kháng thể, *ví dụ*, trong lĩnh vực điều trị bệnh.

Các kháng thể kháng TIGIT (ví dụ, các kháng thể được nhân hóa) và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng cũng có thể hữu ích trong các thử nghiệm chẩn đoán đối với protein TIGIT, *ví dụ*, phát hiện sự biểu hiện của nó trong các tế bào, mô, hoặc huyết thanh đặc hiệu, *ví dụ*, các tế bào khối u như tế bào u hắc sắc tố. Các phương pháp chẩn đoán này có thể hữu ích trong các phương pháp chẩn đoán bệnh khác nhau.

Sáng chế bao gồm thử nghiệm ELISA (thử nghiệm hấp thụ miễn dịch gắn enzym) kết hợp việc sử dụng kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6 hoặc kiểu được nhân hóa của nó).

Ví dụ, phương pháp này bao gồm các bước sau đây:

- (a) phủ cơ chất (ví dụ, bề mặt lỗ của đĩa chuẩn độ vi lượng, *ví dụ*, đĩa nhựa) với kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó;
- (b) bồi mẫu được thử nghiệm về sự có mặt của TIGIT lên cơ chất;
- (c) rửa đĩa, để cho vật liệu không liên kết trong mẫu được loại bỏ;
- (d) bồi các kháng thể được đánh dấu có thể phát hiện được (ví dụ, các kháng thể được liên kết enzym) cũng đặc hiệu với kháng nguyên TIGIT;
- (e) rửa cơ chất, để cho các kháng thể được đánh dấu, không được liên kết được loại bỏ;
- (f) nếu các kháng thể được đánh dấu là được liên kết enzym, thì bồi chất hóa học được biến đổi bởi enzym này thành tín hiệu huỳnh quang; và
- (g) phát hiện với sự có mặt của kháng thể được đánh dấu.

Phát hiện chất đánh dấu liên kết với cơ chất chỉ ra sự có mặt của protein TIGIT.

Theo một phương án khác, kháng thể được đánh dấu hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được đánh dấu bằng peroxidaza phản ứng với ABTS (ví dụ, axit 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazolin-6-sulphonic)) hoặc 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin để tạo ra sự thay đổi màu sắc có thể phát hiện được. Theo cách khác, kháng thể được đánh dấu hoặc mảnh được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ có thể phát hiện được (ví dụ, ^3H) có thể được phát hiện bằng máy đếm nhấp nháy với sự có mặt của chất nhấp nháy.

Kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) có thể được sử dụng trong quy trình thẩm protein miễn dịch hoặc Western blot. Các dạng quy trình này tạo ra một phần của sáng chế và bao gồm, *ví dụ*,:

(1) tùy ý chuyển các protein từ mẫu được thử nghiệm với sự có mặt của TIGIT (ví dụ, từ sự tách điện di PAGE hoặc SDS-PAGE của các protein trong mẫu) lên trên màng hoặc cơ chất rắn khác sử dụng phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này (ví dụ, thẩm tách nửa khô hoặc thẩm tách thùng); cho màng hoặc cơ chất khác được thử nghiệm với sự có mặt của TIGIT được liên kết hoặc mảnh của nó tiếp xúc với kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế.

Màng này có thể ở dạng màng nitroxenluloza hoặc màng trên cơ sở vinyl (ví dụ, polyvinyliden florua (PVDF)) mà protein được thử nghiệm về sự có mặt của TIGIT trong gel PAGE (điện di trên gel polyacrylamit) không biến tính hoặc gel SDS-PAGE (điện di trên gel polyacrylamit natri dodecyl sulfat) đã được chuyển sang (ví dụ, sau khi

tách điện di trong gel). Trước khi cho màng tiếp xúc với kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh, màng này tùy ý được phong bế, *ví dụ*, với sữa khô không béo hoặc dạng tương tự để liên kết vị trí liên kết protein không đặc hiệu trên màng.

(2) rửa màng một hoặc nhiều lần để loại bỏ kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh không liên kết và các chất không liên kết khác; và

(3) phát hiện kháng thể kháng TIGIT được liên kết hoặc mảnh.

Việc phát hiện kháng thể được liên kết hoặc mảnh chỉ ra rằng protein TIGIT có mặt trên màng hoặc cơ chất và trong mẫu. Việc phát hiện kháng thể được liên kết hoặc mảnh có thể bằng cách liên kết kháng thể hoặc mảnh với kháng thể thứ cấp (kháng thể kháng globulin miễn dịch) được đánh dấu có thể phát hiện và, sau đó, phát hiện với sự có mặt của kháng thể thứ hai này.

Các kháng thể kháng TIGIT và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) cũng có thể được sử dụng đối với hóa mô miễn dịch. Phương pháp này tạo ra một phần của sáng chế và bao gồm, *ví dụ*,

(1) cho tế bào (ví dụ, tế bào khối u như tế bào u hắc sắc tố) được thử nghiệm về sự có mặt của protein TIGIT tiếp xúc với kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế; và

(2) phát hiện kháng thể hoặc mảnh trên hoặc trong tế bào.

Nếu bản thân kháng thể hoặc mảnh được đánh dấu có thể phát hiện, nó có thể được phát hiện trực tiếp. Theo cách khác, kháng thể hoặc mảnh có thể được liên kết bằng kháng thể thứ cấp mà được phát hiện được đánh dấu có thể phát hiện.

Các kháng thể kháng TIGIT đã biết và các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) cũng có thể được sử dụng đối với sự tạo ảnh khối u *in vivo*. Phương pháp này có thể bao gồm bước tiêm kháng thể được đánh dấu phóng xạ kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó vào cơ thể bệnh nhân được thử nghiệm với sự có mặt của khối u có liên quan đến sự biểu hiện TIGIT (ví dụ, biểu hiện TIGIT, ví dụ, trên bề mặt tế bào khối u) tiếp theo là tạo ảnh hạt nhân của cơ thể bệnh nhân để phát hiện sự có mặt của kháng thể được đánh dấu hoặc mảnh, *ví dụ*, tại locut bao gồm nồng độ cao của kháng

thể hoặc mảnh được liên kết với khối u. Sự phát hiện locut chỉ ra sự có mặt của khối u TIGIT⁺ và các tế bào khối u.

Các kỹ thuật tạo ảnh bao gồm sự tạo ảnh SPECT (chụp X quang bằng máy tính phát xạ photon đơn) hoặc tạo ảnh PET (chụp X quang phát xạ positron). Các nhãn (chất đánh dấu) bao gồm, ví dụ, iốt-123 (¹²³I) và techneti-99m (^{99m}Tc), ví dụ, kết hợp với sự tạo ảnh SPECT hoặc ¹¹C, ¹³N, ¹⁵O hoặc ¹⁸F, ví dụ, kết hợp với sự tạo ảnh PET hoặc Indi-111 (xem, ví dụ, Gordon *et al.*, (2005) *International Rev. Neurobiol.* 67:385-440).

Dược phẩm và cách dùng

Để điều chế dược phẩm hoặc chế phẩm vô trùng chứa các kháng thể kháng TIGIT và các mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng), kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được trộn lẫn với chất mang dược dụng hoặc tá dược. Xem, ví dụ, *Remington's Pharmaceutical Sciences* and *U.S. Pharmacopeia: National Formulary*, Mack Publishing Company, Easton, PA (1984).

Các chế phẩm chứa các chất chẩn đoán và điều trị bệnh có thể được bào chế bằng cách trộn với chất mang chấp nhận được, tá dược, hoặc chất ổn định dưới dạng, ví dụ, bột đông khô, huyền phù đặc, dung dịch hoặc huyền phù trong nước (xem, ví dụ, Hardman, *et al.* (2001) *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, McGraw-Hill, New York, NY; Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, Lippincott, Williams, và Wilkins, New York, NY; Avis, *et al.* (eds.) (1993) *Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications*, Marcel Dekker, NY; Lieberman, *et al.* (eds.) (1990) *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*, Marcel Dekker, NY; Lieberman, *et al.* (eds.) (1990) *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems*, Marcel Dekker, NY; Weiner và Kotkoskie (2000) *Excipient Toxicity và Safety*, Marcel Dekker, Inc., New York, NY).

Độc tính và hiệu quả điều trị bệnh của các kháng thể theo sáng chế, được sử dụng một mình hoặc kết hợp với chất điều trị bệnh khác, có thể được xác định bằng các quy trình y học tiêu chuẩn trong các môi trường nuôi cấy tế bào hoặc động vật thí nghiệm, ví dụ, để xác định LD₅₀ (liều gây chết đối với 50% quần thể) và ED₅₀ (liều cho hiệu quả điều trị bệnh trong 50% quần thể). Tỷ lệ liều lượng giữa tác dụng gây độc và tác dụng

điều trị bệnh là chỉ số trị liệu (LD_{50}/ED_{50}). Dữ liệu thu được từ các thử nghiệm nuôi cấy tế bào này và các nghiên cứu trên động vật có thể được sử dụng trong bào chế khoảng liều dùng để sử dụng cho người. Liều dùng của các hợp chất này tốt hơn nếu nằm trong khoảng nồng độ tuần hoàn bao gồm ED_{50} với độc tính ít hoặc không có độc tính. Liều dùng có thể thay đổi trong khoảng này phụ thuộc vào dạng liều dùng được sử dụng và đường dùng.

Theo một phương án khác, chất điều trị bệnh khác được dùng cho đối tượng kết hợp với kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6) phù hợp với Dược thư tham khảo cho bác sỹ - Physicians' Desk Reference 2003 (Thomson Healthcare; 57th edition (November 1, 2002)).

Chế độ dùng có thể thay đổi. Đường dùng bao gồm qua đường miệng, qua trực tràng, qua niêm mạc, trong ruột, ngoài đường tiêu hóa; trong cơ, dưới da, trong da, trong tủy xương, nội tủy mạc, trực tiếp vào trong thất, trong tĩnh mạch, trong màng bụng, trong mũi, trong nhãn cầu, đường xông, đường bơm, khu trú, tại da, qua da, hoặc trong động mạch.

Theo các phương án cụ thể, các kháng thể kháng TIGIT hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) có thể được dùng bằng đường xâm lấn như bằng cách tiêm. Theo các phương án khác của sáng chế, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, hoặc được phẩm chứa chúng, được dùng trong tĩnh mạch, dưới da, trong cơ, trong động mạch, trong khối u, hoặc bằng đường xông, phân phối bằng bình xịt. Việc dùng bằng các đường không xâm lấn (ví dụ, đường miệng; ví dụ, trong viên tròn, viên nang hoặc viên nén) cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Sáng chế đề xuất bình (ví dụ, lọ nhựa hoặc lọ thủy tinh, *ví dụ*, có nắp hoặc cột sắc ký, kim có lỗ rỗng hoặc xy lanh tiêm) bao gồm kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) hoặc được phẩm chứa chúng. Sáng chế cũng đề xuất dụng cụ tiêm bao gồm kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) hoặc được phẩm chứa chúng. Dụng cụ tiêm là dụng cụ mà đưa chất vào cơ thể của bệnh nhân thông qua đường ngoài đường tiêu hóa, *ví dụ*, trong cơ, dưới da hoặc

trong tĩnh mạch. Ví dụ, dụng cụ tiêm có thể là ống tiêm (ví dụ, được nạp sẵn dược phẩm, như dụng cụ tự tiêm), ví dụ, bao gồm xi-lanh hoặc ống để giữ chất lỏng được tiêm (ví dụ, kháng thể hoặc mảnh hoặc dược phẩm chứa chúng), kim để luồn vào da và/hoặc các mạch máu để tiêm chất lỏng; và pit-tông để đẩy chất lỏng ra khỏi xi-lanh và đi qua lỗ của kim tiêm. Theo một phương án của sáng chế, dụng cụ tiêm chứa kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế hoặc dược phẩm chứa chúng là dụng cụ tiêm trong tĩnh mạch (IV). Dụng cụ này bao gồm kháng thể hoặc mảnh hoặc dược phẩm chứa chúng trong ống thông dò hoặc giùi chọc/kim tiêm có thể được gắn vào ống mà có thể được gắn vào túi hoặc vật chứa chất lỏng lưu giữ (ví dụ, nước muối; hoặc dung dịch ringer được lactat hóa bao gồm NaCl, natri lactat, KCl, CaCl₂ và tùy ý bao gồm glucoza) được đưa vào cơ thể bệnh nhân thông qua ống thông dò hoặc giùi chọc/kim tiêm. Kháng thể hoặc mảnh hoặc dược phẩm chứa chúng có thể, theo một phương án của sáng chế, được đưa vào dụng cụ này ngay khi giùi chọc và ống thông dò được luồn qua tĩnh mạch của đối tượng và giùi chọc này được loại bỏ khỏi ống thông dò được luồn vào. Dụng cụ IV có thể, ví dụ, được luồn vào tĩnh mạch ngoại vi (ví dụ, trong bàn tay hoặc cánh tay); tĩnh mạch chủ trên hoặc tĩnh mạch chủ dưới, hoặc trong tâm nhĩ phải của tim (ví dụ, IV trung tâm); hoặc vào dưới xương đòn, tĩnh mạch cảnh trong, hoặc tĩnh mạch đùi và, ví dụ, tiến ra theo hướng tim cho đến khi tiến đến tĩnh mạch chủ trên hoặc tâm nhĩ phải (ví dụ, đường tĩnh mạch trung tâm). Theo một phương án của sáng chế, dụng cụ tiêm là dụng cụ tự tiêm; vòi phun tia hoặc bơm truyền ngoài. Vòi phun tia sử dụng vòi phun hẹp áp lực cao chứa chất lỏng thấm qua biểu bì để đưa kháng thể hoặc mảnh hoặc dược phẩm chứa chúng vào cơ thể bệnh nhân. Bơm truyền ngoài là dụng cụ y học phân phối kháng thể hoặc mảnh hoặc dược phẩm chứa chúng vào cơ thể bệnh nhân với lượng được kiểm soát. Bơm truyền ngoài có thể được chạy bằng điện hoặc cơ học. Các bơm khác nhau hoạt động theo các cách khác nhau, ví dụ, bơm tiêm giữ chất lỏng trong vùng chứa của ống tiêm, và pit-tông có thể di chuyển kiểm soát sự phân phối chất lỏng, bơm polyme đàn hồi giữ chất lỏng trong vùng chứa hình cầu kéo dẫn được, và áp lực từ thành đàn hồi của bình cầu điều khiển sự phân phối chất lỏng. Trong bơm nhu động, một bộ con lăn ép lên chiều dài của ống dễ uốn, đẩy chất lỏng về phía trước. Trong bơm nhiều kênh, chất lỏng có thể được phân phối từ nhiều vùng chứa ở nhiều tốc độ.

Dược phẩm được bộc lộ trong bản mô tả này cũng có thể được dùng với dụng cụ tiêm dưới da không cần kim tiêm; như các dụng cụ được bộc lộ trong Patent Mỹ số 6,620,135; 6,096,002; 5,399,163; 5,383,851; 5,312,335; 5,064,413; 4,941,880; 4,790,824 hoặc 4,596,556. Thiết bị không có kim tiêm này bao gồm dược phẩm cũng là một phần của sáng chế. Dược phẩm được bộc lộ trong bản mô tả này cũng có thể được sử dụng bằng cách truyền. Các ví dụ về thể cấy và mô-đun để dùng dược phẩm bao gồm các dụng cụ được bộc lộ trong: Patent Mỹ số 4,487,603, bộc lộ bơm vi truyền có thể cấy dưới da để phân phối dược phẩm ở tốc độ được kiểm soát; Patent Mỹ số 4,447,233, bộc lộ bơm truyền dược phẩm để phân phối dược phẩm ở tốc độ truyền chính xác; Patent Mỹ số 4,447,224, bộc lộ dụng cụ truyền có thể cấy dưới da để phân phối liên tục thuốc; Patent Mỹ số 4,439,196, bộc lộ hệ thống phân phối thuốc thẩm thấu có các ngăn nhiều khoang. Nhiều thể cấy, hệ thống phân phối và mô-đun như vậy khác là đã biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này và các dụng cụ bao gồm dược phẩm theo sáng chế nằm trong phạm vi của sáng chế.

Theo cách khác, một người có thể dùng kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) trong một vùng hơn là toàn thân, ví dụ, thông qua việc tiêm kháng thể hoặc mảnh trực tiếp vào khối u, ví dụ, khối u TIGIT⁺. Hơn thế nữa, một người có thể dùng kháng thể hoặc mảnh trong hệ thống phân phối thuốc được hướng đích, ví dụ, trong liposom được phủ kháng thể đặc hiệu mô, hướng đích, ví dụ, khối u, ví dụ, khối u TIGIT⁺, ví dụ, được đặc trưng bởi bệnh lý miễn dịch. Các liposom sẽ được hướng đích vào và được hấp thụ chọn lọc bởi mô bị đau. Phương pháp này và các liposom là một phần của sáng chế.

Chế độ dùng phụ thuộc vào các yếu tố khác nhau, bao gồm tốc độ luân chuyển trong mô hoặc huyết thanh của kháng thể dùng để điều trị bệnh hoặc mảnh liên kết kháng nguyên, mức độ của các triệu chứng, tính kháng nguyên (tính sinh miễn dịch) của kháng thể dùng để điều trị bệnh, và khả năng tới được các tế bào đích trong chất nền sinh học. Tốt hơn nếu chế độ dùng phân phối kháng thể hoặc mảnh dùng để điều trị bệnh đủ để cải thiện tình trạng bệnh đích, trong khi giảm thiểu đồng thời các tác dụng phụ không mong muốn. Do đó, lượng dược phẩm phân phối sinh học phụ thuộc một phần vào kháng thể điều trị bệnh cụ thể và tính nghiêm trọng của tình trạng bệnh lý được điều trị. Phần

hướng dẫn lựa chọn liều lượng thích hợp của các kháng thể hoặc mảnh điều trị bệnh là sẵn có (xem, ví dụ, Wawrzynczak (1996) *Antibody Therapy*, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina (ed.) (1991) *Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis*, Marcel Dekker, New York, NY; Bach (ed.) (1993) *Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases*, Marcel Dekker, New York, NY; Baert, *et al.* (2003) *New Engl. J. Med.* 348:601-608; Milgrom *et al.* (1999) *New Engl. J. Med.* 341:1966-1973; Slamon *et al.* (2001) *New Engl. J. Med.* 344:783-792; Beniaminovitz *et al.* (2000) *New Engl. J. Med.* 342:613-619; Ghosh *et al.* (2003) *New Engl. J. Med.* 348:24-32; Lipsky *et al.* (2000) *New Engl. J. Med.* 343:1594-1602).

Việc xác định liều dùng thích hợp được thực hiện bởi chuyên viên lâm sàng, ví dụ, sử dụng các thông số hoặc yếu tố đã biết hoặc nghi ngờ trong lĩnh vực này để tác động đến việc điều trị. Nhìn chung, liều lượng bắt đầu với lượng nhỏ hơn một chút so với liều lượng tối ưu và được làm tăng lên bằng các độ lớn nhỏ sau đó cho đến khi tác dụng mong muốn hoặc tối ưu đạt được so với các tác dụng phụ âm tính bất kỳ. Các số đo chẩn đoán quan trọng bao gồm các số đo triệu chứng của, ví dụ, chứng viêm hoặc mức xytokin viêm được tạo ra. Nhìn chung, mong muốn rằng chất sinh học sẽ được sử dụng là thu được từ các loài giống như động vật được hướng đích để điều trị bệnh, nhờ đó giảm thiểu đáp ứng miễn dịch bất kỳ cho chất thử. Trong trường hợp đối tượng là người, ví dụ, kháng thể đầy đủ ở người và được nhân hóa có thể mong muốn.

Các kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng được bộc lộ trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 và kiểu được nhân hóa của chúng) có thể được dùng bằng cách truyền liên tục, hoặc bằng các liều lượng được dùng, ví dụ, hằng ngày, từ 1 đến 7 lần mỗi tuần, hằng tuần, hai tuần một lần, hằng tháng, hai tháng một lần, hằng quý, nửa năm một lần, hằng năm v.v.. Liều có thể được dùng, ví dụ, trong tĩnh mạch, dưới da, khu trú, qua miệng, qua mũi, qua trực tràng, trong cơ, trong não, trong cột sống, hoặc bằng đường xông. Liều hằng tuần tổng số nhìn chung ít nhất là 0,05 µg/kg cân nặng, nhìn chung ít nhất là 0,2 µg/kg, 0,5 µg/kg, 1 µg/kg, 10 µg/kg, 100 µg/kg, 0,25 mg/kg, 1,0 mg/kg, 2,0 mg/kg, 5,0 mg/ml, 10 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg hoặc lớn hơn (xem, ví dụ, Yang, *et al.* (2003) *New Engl. J. Med.* 349:427-434; Herold, *et al.* (2002) *New Engl. J. Med.* 346:1692-1698; Liu, *et al.* (1999) *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 67:451-456; Portielji, *et al.* (20003) *Cancer Immunol. Immunother.* 52:151-144). Liều

cũng có thể được dùng để đạt được nồng độ đích định trước của kháng thể kháng TIGIT trong huyết thanh của đối tượng, như 0,1, 0,3, 1, 3, 10, 30, 100, 300 $\mu\text{g/ml}$ hoặc lớn hơn. Theo các phương án khác, kháng thể kháng TIGIT theo sáng chế được dùng, *ví dụ*, dưới da hoặc trong tĩnh mạch, trên cơ sở hằng tuần, hai tuần một lần, "4 tuần một lần," hằng tháng, hai tháng một lần, hoặc hằng quý ở 10, 20, 50, 80, 100, 200, 500, 1000 hoặc 2500 mg/đối tượng.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "lượng hữu hiệu" dùng để chỉ lượng kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6 được nhân hóa hoặc 28H5 được nhân hóa), khi được sử dụng một mình hoặc kết hợp với chất điều trị bệnh bổ sung cho tế bào, mô, hoặc đối tượng, có hiệu quả để tạo ra sự cải thiện có thể đo được trong một hoặc nhiều triệu chứng bệnh, ví dụ bệnh ung thư hoặc sự tiến triển của bệnh ung thư. Liều hữu hiệu còn dùng để chỉ lượng kháng thể hoặc mảnh đủ để tạo ra ít nhất một phần sự cải thiện các triệu chứng, *ví dụ*, sự co hoặc sự bài tiết khối u, thiếu hụt sự phát triển của khối u, tăng thời gian sống. Khi được áp dụng cho mỗi hoạt chất riêng lẻ được dùng một mình, liều hữu hiệu dùng để chỉ một thành phần. Khi được áp dụng cho hỗn hợp, liều hữu hiệu dùng để chỉ các lượng kết hợp của các hoạt chất tạo ra tác dụng điều trị bệnh, bất kể được dùng kết hợp, theo thời kỳ hoặc đồng thời. Lượng hữu hiệu của chất điều trị bệnh sẽ tạo ra sự cải thiện số đo hoặc thông số chẩn đoán bằng ít nhất 10%; thường là ít nhất 20%; tốt hơn nếu ít nhất là khoảng 30%; tốt hơn nữa nếu ít nhất là 40%, và tốt hơn nhất nếu ít nhất là 50%. Lượng hữu hiệu này cũng có thể dẫn đến sự cải thiện số đo chủ quan trong các trường hợp trong đó các số đo chủ quan được sử dụng để đánh giá tính nghiêm trọng của bệnh.

Kit

Sáng chế còn đề xuất kit bao gồm một hoặc nhiều thành phần gồm, nhưng không giới hạn ở, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên, như được bàn luận trong bản mô tả này (ví dụ, 14A6 được nhân hóa hoặc 28H5 được nhân hóa hoặc 31C6 được nhân hóa) kết hợp với một hoặc nhiều thành phần bổ sung gồm, nhưng không giới hạn ở, chất mang dược dụng và/hoặc chất điều trị bệnh, như được bàn luận trong bản mô tả này. Kháng thể hoặc mảnh và/hoặc chất điều trị bệnh có thể được bào chế dưới dạng chế phẩm tinh khiết hoặc kết hợp với chất mang dược dụng, trong dược phẩm.

Theo một phương án, kit bao gồm kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6 được nhân hóa hoặc 28H5 được nhân hóa hoặc 31C6 được nhân hóa) hoặc được phẩm chứa chúng trong một vật chứa (ví dụ, lọ thủy tinh hoặc nhựa vô trùng) và được phẩm chứa chúng và/hoặc chất điều trị bệnh trong một vật chứa khác (ví dụ, trong lọ thủy tinh hoặc nhựa vô trùng).

Theo một phương án khác, kit chứa hỗn hợp theo sáng chế, bao gồm kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6 được nhân hóa hoặc 28H5 được nhân hóa hoặc 31C6 được nhân hóa) cùng với chất mang được dụng, tùy ý kết hợp với một hoặc nhiều chất điều trị bệnh được bào chế cùng nhau, tùy ý, trong được phẩm, trong vật chứa riêng, chung.

Nếu bit bao gồm được phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa cho đối tượng, thì kit này có thể gồm dụng cụ để thực hiện việc dùng này. Ví dụ, kit có thể gồm một hoặc nhiều kim tiêm dưới da hoặc các dụng cụ tiêm khác được bàn luận ở trên.

Kit có thể gồm tờ hướng dẫn sử dụng trong bao bì bao gồm thông tin liên quan đến được phẩm và liều dùng trong kit. Nhìn chung, thông tin này hỗ trợ bệnh nhân và bác sỹ khi sử dụng được phẩm kèm theo và dạng liều dùng hiệu quả và an toàn. Ví dụ, thông tin sau đây liên quan đến hỗn hợp theo sáng chế có thể được cung cấp trong tờ hướng dẫn: được lực học, được động học, nghiên cứu lâm sàng, thông số hiệu lực, các chỉ định và cách sử dụng, chống chỉ định, cảnh báo, đề phòng, phản ứng bất lợi, sử dụng quá liều lượng, liều dùng thích hợp và đường dùng, được cung cấp thể nào, điều kiện bảo quản thích hợp, thông tin tham khảo, thông tin của nhà sản xuất/nhà phân phối và thông tin về bằng sáng chế.

Kit phát hiện và kit điều trị bệnh

Như một vấn đề về sự tiện lợi, kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo sáng chế (ví dụ, 14A6, 28H5, 31C6 hoặc kiểu được nhân hóa của chúng) có thể được cung cấp trong kit, nghĩa là, hỗn hợp được đóng gói chứa chất thử (thuốc thử) với lượng định trước với các hướng dẫn để thực hiện thử nghiệm phát hiện hoặc chẩn đoán. Khi kháng thể hoặc mảnh được đánh dấu bằng enzym, kit sẽ bao gồm cơ chất và đồng yếu tố cần đến enzym (ví dụ, tiền cơ chất tạo ra sắc thể hoặc chất huỳnh quang có thể phát hiện). Ngoài ra, các chất bổ trợ khác có thể được bao gồm như chất

ổn định, dung dịch đệm (ví dụ, dung dịch đệm phong bế hoặc dung dịch đệm phân giải) và các dung dịch tương tự. Các lượng tương đối của các chất thử khác nhau có thể được thay đổi nhiều để tạo ra các nồng độ trong dung dịch chứa chất thử về cơ bản tối ưu hóa độ nhạy của thử nghiệm. Cụ thể, chất thử có thể được cung cấp dưới dạng bột khô, thường được đông khô, bao gồm tá dược dựa trên sự hòa tan sẽ tạo ra dung dịch chất thử có nồng độ thích hợp.

Sáng chế cũng đề xuất các chất thử chẩn đoán hoặc phát hiện và kit bao gồm một hoặc nhiều chất thử này để sử dụng trong các thử nghiệm phát hiện khác nhau, bao gồm, ví dụ, các thử nghiệm miễn dịch như ELISA (loại kẹp hoặc dạng cạnh tranh). Các thành phần của kit có thể được gắn trước với chất nền rắn, hoặc có thể được phủ lên bề mặt của chất nền rắn khi kit được sử dụng. Theo một số phương án của sáng chế, sự phát tín hiệu có thể được kết hợp trước với kháng thể hoặc mảnh theo sáng chế hoặc có thể cần đến sự kết hợp với một hoặc nhiều thành phần, *ví dụ*, dung dịch đệm, thể liên hợp kháng thể-enzym, cơ chất enzym, hoặc dạng tương tự, trước khi sử dụng. Kit cũng có thể bao gồm các chất thử bổ sung, *ví dụ*, chất thử phong bế để khử liên kết không đặc hiệu với bề mặt pha rắn, chất thử rửa, cơ chất enzym, và các chất tương tự. Bề mặt pha rắn này có thể có dạng ống, hạt, đĩa chuẩn độ vi lượng, vi cầu, hoặc các vật liệu khác thích hợp để cố định các protein, peptit, hoặc polypeptit. Theo các khía cạnh cụ thể, enzym xúc tác sự tạo thành sản phẩm phát quang hóa học hoặc sinh màu hoặc sự khử cơ chất phát quang hóa học hoặc sinh màu là thành phần của các phương tiện tạo ra tín hiệu. Các enzym này đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Kit có thể bao gồm chất bất kỳ trong số các chất thu giữ và chất thử phát hiện được mô tả ở đây. Tùy ý, kit cũng có thể bao gồm các hướng dẫn để thực hiện các phương pháp theo sáng chế.

Sáng chế cũng đề xuất kit bao gồm kháng thể kháng TIGIT (ví dụ, kháng thể được nhân hóa) hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó được đóng gói trong vật chứa, như lọ nhỏ hoặc bình, và còn bao gồm nhãn được gắn vào hoặc được bao gói bởi vật chứa, nhãn bao gồm các nội dung của vật chứa và cung cấp các chỉ dẫn về các chỉ định và/hoặc các chỉ dẫn liên quan đến việc sử dụng thể tích của vật chứa để điều trị một hoặc nhiều tình trạng bệnh như được mô tả ở đây.

Theo một khía cạnh, kit dùng để điều trị bệnh ung thư và bao gồm kháng thể kháng TIGIT (ví dụ, kháng thể được nhân hóa) hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của

nó và chất điều trị bệnh khác hoặc vaccin. Kit tùy ý có thể bao gồm thêm ống tiêm để dùng ngoài đường tiêu hóa, *ví dụ*, dùng trong tĩnh mạch. Theo một khía cạnh khác, kit bao gồm kháng thể kháng TIGIT (ví dụ, kháng thể được nhân hóa) hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó và nhãn được gắn vào hoặc được bao gói cùng với vật chứa để mô tả việc sử dụng kháng thể hoặc mảnh với vaccin hoặc chất điều trị bệnh khác. Theo một khía cạnh khác nữa, kit bao gồm vaccin hoặc chất điều trị bệnh khác và nhãn được gắn vào hoặc được bao gói cùng với vật chứa để mô tả việc sử dụng vaccin hoặc chất điều trị bệnh khác với kháng thể kháng TIGIT hoặc mảnh. Theo một số phương án, kháng thể kháng TIGIT và vaccin hoặc chất điều trị bệnh khác trong các lọ nhỏ riêng rẽ hoặc được kết hợp cùng nhau trong cùng một loại dược phẩm.

Như được bàn luận ở trên trong phần trị liệu kết hợp, việc dùng đồng thời hai chất điều trị bệnh không cần đến các tác nhân được sử dụng đồng thời hoặc cùng một đường dùng, miễn là có sự trùng lặp trong khoảng thời gian trong khi các tác nhân này tạo ra được tác dụng điều trị bệnh của chúng. Việc dùng đồng thời hoặc tuần tự được dự tính, như là việc dùng vào các ngày hoặc các tuần khác nhau.

Kit phát hiện và điều trị bệnh được bộc lộ trong bản mô tả này cũng có thể được bào chế mà chứa ít nhất một trong số các kháng thể, peptit, mảnh liên kết kháng nguyên, hoặc polynucleotit được bộc lộ trong bản mô tả này và hướng dẫn sử dụng chế phẩm làm chất thử phát hiện hoặc chất điều trị bệnh. Các vật chứa để sử dụng trong kit này thông thường có thể bao gồm ít nhất một lọ nhỏ, ống thí nghiệm, bình tam giác, bình, ống tiêm hoặc các vật chứa thích hợp khác, có thể được đưa vào một hoặc nhiều (các) chế phẩm phát hiện và/hoặc điều trị bệnh, và tốt hơn nếu được tạo phần mẫu thích hợp. Trong đó chất điều trị bệnh thứ hai cũng được đề xuất, kit cũng có thể chứa một vật chứa riêng biệt thứ hai có thể được đưa vào chế phẩm phát hiện và/hoặc điều trị bệnh thứ hai. Theo cách khác, nhiều hợp chất có thể được điều chế trong dược phẩm đơn, và có thể được đóng gói trong vật chứa đơn, như lọ nhỏ, bình tam giác, ống tiêm, bình, hoặc vật chứa đơn thích hợp khác. Kit được bộc lộ trong bản mô tả này thông thường cũng sẽ bao gồm các phương tiện để chứa (các) lọ nhỏ được bọc kín để bán ra thị trường, như, *ví dụ*, vật chứa bằng nhựa được đúc thổi hoặc phun được giữ lại trong (các) lọ nhỏ được dùng. Trong đó loại nhãn phát hiện đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ, sinh màu, sinh huỳnh quang, hoặc loại nhãn phát hiện khác hoặc các phương tiện phát hiện được bao

gồm trong kit, tác nhân đánh dấu có thể được cung cấp trong vật chứa giống nhau bản thân nó là chế phẩm phát hiện hoặc điều trị bệnh, hoặc theo cách khác có thể được đưa vào trong phương tiện chứa riêng biệt thứ hai để chứa chế phẩm thứ hai và được tạo phân mẫu thích hợp. Theo cách khác, chất thử phát hiện và nhãn có thể được điều chế trong các phương tiện chứa đơn, và trong hầu hết các trường hợp, kit thông thường cũng sẽ bao gồm các phương tiện chứa (các) lọ nhỏ được đóng kín để bán ra thị trường và/hoặc đóng gói và phân phối tiện lợi.

Dụng cụ hoặc thiết bị để tiến hành các phương pháp dò hoặc kiểm tra được mô tả ở đây cũng được đề xuất trong sáng chế. Thiết bị này có thể bao gồm khoang hoặc ống để mẫu có thể được đưa vào, hệ thống xử lý chất lỏng tùy ý bao gồm các van hoặc bơm để đưa trực tiếp dòng mẫu qua dụng cụ này, bộ lọc tùy ý để tách huyết tương hoặc huyết thanh khỏi máu, trộn các khoang để bổ sung các tác nhân thu giữ hoặc chất thử phát hiện, và tùy ý dụng cụ phát hiện để phát hiện lượng nhãn có thể phát hiện được liên kết với phức hệ miễn dịch tác nhân thu giữ. Dòng mẫu có thể thụ động (ví dụ, bằng mao dẫn, thủy tĩnh, hoặc các lực khác mà không cần vận hành thêm dụng cụ khi mẫu được nạp vào) hoặc chủ động (ví dụ, bằng cách tác dụng lực được tạo ra thông qua các bơm cơ học, bơm điện thẩm, lực ly tâm, hoặc áp lực không khí tăng), hoặc bằng cách kết hợp các lực thụ động và chủ động.

Theo các phương án khác, sáng chế cũng đề xuất bộ xử lý, bộ nhớ đọc được bằng máy tính, và tiện ích được lưu trữ trên bộ nhớ đọc được bằng máy tính và được làm thích ứng để được thực hiện trên bộ xử lý để tiến hành phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp được mô tả ở đây. Các ví dụ về các hệ thống máy tính thích hợp, môi trường, và/hoặc các cấu hình thích hợp bao gồm máy tính cá nhân, máy chủ, laptop hoặc máy tính xách tay, hệ thống đa xử lý, hệ thống dựa trên mạch vi xử lý, hộp đặt trên nóc, thiết bị điện tử tiêu thụ có thể lập trình, PC mạng lưới, máy vi tính loại nhỏ, máy tính lớn có bộ nhớ không lồ, môi trường máy tính được phân bố có thể bao gồm hệ thống bất kỳ trong số các hệ thống hoặc thiết bị nêu trên, hoặc các hệ thống bất kỳ khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

PHƯƠNG PHÁP CHUNG

Phương pháp chuẩn trong sinh học phân tử được mô tả trong Sambrook, Fritsch và Maniatis (1982 & 1989 2nd Edition, 2001 3rd Edition) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Sambrook và Russell (2001) *Molecular Cloning, 3rd ed.*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Wu (1993) *Recombinant DNA*, Vol. 217, Academic Press, San Diego, CA). Các phương pháp chuẩn cũng có trong tài liệu Ausbel, *et al.* (2001) *Current Protocols in Molecular Biology, Vols. 1-4*, John Wiley và Sons, Inc. New York, NY, mô tả việc tách dòng trong tế bào vi khuẩn và việc gây đột biến ADN (Vol. 1), tách dòng trong tế bào động vật có vú và nấm men (Vol. 2), glycoconjugat và sự biểu hiện protein (Vol. 3), và tin sinh (Vol. 4).

Các phương pháp để tinh chế protein bao gồm phương pháp kết tủa miễn dịch, sắc ký, điện di, ly tâm, và kết tinh được mô tả (Coligan, *et al.* (2000) *Current Protocols in Protein Science, Vol. 1*, John Wiley và Sons, Inc., New York). Phương pháp phân tích hóa học, biến đổi hóa học, biến đổi sau dịch mã, sản xuất protein dung hợp, sự glycosyl hóa protein được mô tả (xem, *ví dụ*, Coligan, *et al.* (2000) *Current Protocols in Protein Science, Vol. 2*, John Wiley và Sons, Inc., New York; Ausubel, *et al.* (2001) *Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 3*, John Wiley và Sons, Inc., NY, NY, pp. 16.0.5-16.22.17; Sigma-Aldrich, Co. (2001) *Products for Life Science Research*, St. Louis, MO; pp. 45-89; Amersham Pharmacia Biotech (2001) *BioDirectory*, Piscataway, N.J., pp. 384-391). Quá trình sản xuất, tinh chế, và phân mảnh kháng thể đa dòng và đơn dòng được mô tả (Coligan, *et al.* (2001) *Current Protocols in Immunology, Vol. 1*, John Wiley và Sons, Inc., New York; Harlow and Lane (1999) *Using Antibodies*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Harlow và Lane, *supra*). Các kỹ thuật chuẩn để xác định tương tác phối tử/thụ thể là khả dụng (xem, *ví dụ*, Coligan, *et al.* (2001) *Current Protocols in Immunology, Vol. 4*, John Wiley, Inc., New York).

Các kháng thể đơn dòng, đa dòng và kháng thể được nhân hóa có thể được tạo ra (xem, *ví dụ*, Sheperd and Dean (eds.) (2000) *Monoclonal Antibodies*, Oxford Univ. Press, New York, NY; Kontermann and Dubel (eds.) (2001) *Antibodies Engineering*, Springer-Verlag, New York; Harlow and Lane (1988) *Antibodies A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp. 139-243; Carpenter, *et al.* (2000) *J. Immunol.* 165:6205; He, *et al.* (1998) *J. Immunol.* 160:1029; Tang *et al.*

(1999) *J. Biol. Chem.* 274:27371-27378; Baca *et al.* (1997) *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684; Chothia *et al.* (1989) *Nature* 342:877-883; Foote và Winter (1992) *J. Mol. Biol.* 224:487-499; Patent Mỹ số 6,329,511).

Cách khác để nhân hóa là sử dụng các thư viện kháng thể của người được biểu hiện trên thư viện kháng thể thể thực khuẩn hoặc của người ở chuột chuyển gen (Vaughan *et al.* (1996) *Nature Biotechnol.* 14:309-314; Barbas (1995) *Nature Medicine* 1:837-839; Mendez *et al.* (1997) *Nature Genetics* 15:146-156; Hoogenboom và Chames (2000) *Immunol. Today* 21:371-377; Barbas *et al.* (2001) *Phage Display: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York; Kay *et al.* (1996) *Phage Display of Peptides và Proteins: A Laboratory Manual*, Academic Press, San Diego, CA; de Bruin *et al.* (1999) *Nature Biotechnol.* 17:397-399).

Các kháng thể chuỗi đơn và kháng thể thể hai được mô tả (xem, ví dụ, Malecki *et al.* (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:213-218; Conrath *et al.* (2001) *J. Biol. Chem.* 276:7346-7350; Desmyter *et al.* (2001) *J. Biol. Chem.* 276:26285-26290; Hudson và Kortt (1999) *J. Immunol. Methods* 231:177-189; và Patent Mỹ số 4,946,778). Các kháng thể hai chức năng được đề xuất (xem, ví dụ, Mack, *et al.* (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:7021-7025; Carter (2001) *J. Immunol. Methods* 248:7-15; Volkel, *et al.* (2001) *Protein Engineering* 14:815-823; Segal, *et al.* (2001) *J. Immunol. Phương pháp* 248:1-6; Brennan, *et al.* (1985) *Science* 229:81-83; Raso, *et al.* (1997) *J. Biol. Chem.* 272:27623; Morrison (1985) *Science* 229:1202-1207; Traunecker, *et al.* (1991) *EMBO J.* 10:3655-3659; và Patent Mỹ số 5,932,448, 5,532,210, và 6,129,914).

Các kháng thể đặc hiệu kép cũng được đề xuất (xem, ví dụ, Azzoni *et al.* (1998) *J. Immunol.* 161:3493; Kita *et al.* (1999) *J. Immunol.* 162:6901; Merchant *et al.* (2000) *J. Biol. Chem.* 275:9115; Pandey *et al.* (2000) *J. Biol. Chem.* 275:38633; Zheng *et al.* (2001) *J. Biol. Chem.* 276:12999; Propst *et al.* (2000) *J. Immunol.* 165:2214; Long (1999) *Ann. Rev. Immunol.* 17:875).

Việc tinh chế kháng nguyên là không cần thiết để tạo ra các kháng thể. Các con vật có thể được gây miễn dịch bằng các các tế bào mang kháng nguyên quan tâm. Sau đó, tế bào lá lách có thể được phân lập từ các con vật đã được gây miễn dịch, và các tế bào lá lách có thể được dung hợp với dòng tế bào u tủy để tạo ra dòng tế bào lai (xem,

ví dụ, Meyaard *et al.* (1997) *Immunity* 7:283-290; Wright *et al.* (2000) *Immunity* 13:233-242; Preston *et al.*, *supra*; Kaithamana *et al.* (1999) *J. Immunol.* 163:5157-5164).

Các kháng thể có thể được liên hợp, *ví dụ*, với các phân tử thuốc nhỏ, các enzym, liposom, polyetylen glycol (PEG). Các kháng thể có thể sử dụng cho các mục đích trị liệu, chẩn đoán, kit hoặc các mục đích khác, và bao gồm các kháng thể được ghép cặp, *ví dụ*, với thuốc nhuộm, chất đồng vị phóng xạ, enzym, hoặc kim loại, *ví dụ*, vàng dạng keo (xem, *ví dụ*, Le Doussal *et al.* (1991) *J. Immunol.* 146:169-175; Gibellini *et al.* (1998) *J. Immunol.* 160:3891-3898; Hsing và Bishop (1999) *J. Immunol.* 162:2804-2811; Everts *et al.* (2002) *J. Immunol.* 168:883-889).

Phương pháp phân tích tế bào theo dòng, bao gồm việc phân loại tế bào được hoạt hóa bởi sự phát huỳnh quang (fluorescence activated cell sorting-FACS), là sẵn có (xem, *ví dụ*, Owens, *et al.* (1994) *Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ; Givan (2001) *Flow Cytometry*, 2nd ed.; Wiley-Liss, Hoboken, NJ; Shapiro (2003) *Practical Flow Cytometry*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ). Chất phát huỳnh quang thích hợp để biến đổi axit nucleic, bao gồm đoạn môi và đoạn dò axit nucleic, polypeptit, và các kháng thể, để sử dụng, *ví dụ*, làm chất chẩn đoán, là sẵn có (Molecular Probes (2003) *Catalogue*, Molecular Probes, Inc., Eugene, OR; Sigma-Aldrich (2003) *Catalogue*, St. Louis, MO).

Các phương pháp nghiên cứu mô chuẩn đối với hệ miễn dịch được mô tả (xem, *ví dụ*, Muller-Harmelink (ed.) (1986) *Human Thymus: Histopathology and Pathology*, Springer Verlag, New York, NY; Hiatt, *et al.* (2000) *Color Atlas of Histology*, Lippincott, Williams, and Wilkins, Phila, PA; Louis, *et al.* (2002) *Basic Histology: Text and Atlas*, McGraw-Hill, New York, NY).

Các gói phần mềm và cơ sở dữ liệu để xác định, *ví dụ*, mảnh kháng nguyên, trình tự dẫn đầu, sự gấp protein, miền chức năng, vị trí glycosyl hóa, và sự sắp hàng trình tự, là sẵn có (xem, *ví dụ*, GenBank, Vector NTI® Suite (Informax, Inc, Bethesda, MD); GCG Wisconsin Package (Accelrys, Inc., San Diego, CA); DeCypher® (TimeLogic Corp., Crystal Bay, Nevada); Menne, *et al.* (2000) *Bioinformatics* 16: 741-742; Menne, *et al.* (2000) *Bioinformatics Applications Note* 16:741-742; Wren, *et al.* (2002) *Comput. Phương pháp Programs Biomed.* 68:177-181; von Heijne (1983) *Eur. J. Biochem.* 133:17-21; von Heijne (1986) *Nucleic Acid Res.* 14:4683-4690).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Tạo kháng thể kháng hTIGIT ở chuột cống và chuột nhắt

Để tạo ra các kháng thể đối với TIGIT ở người, chuột cống Lewis được gây miễn dịch bằng protein tái tổ hợp TIGIT ở người được gắn nhãn his từ Sino Biologicals Cat#10917-H08H) sử dụng tá được RIBI và tiêm vào gan bàn chân hai tuần một lần. Theo cách khác, chuột nhắt Balb/C được gây miễn dịch bằng protein tái tổ hợp TIGIT ở người được gắn nhãn Fc sử dụng tá được RIBI và tiêm vào gan bàn chân hai tuần một lần. Các con chuột được gây miễn dịch được lấy máu và hiệu giá huyết thanh được xác định về việc liên kết với các tế bào CHOK1 được chuyển nhiễm TIGIT ở người sử dụng ELISA dựa trên tế bào (được mô tả dưới đây). Các con chuột có hiệu giá cao nhất được tăng cường lần cuối bằng protein tái tổ hợp và các hạch bạch huyết vùng kheo dẫn lưu được phân lập bốn ngày sau đó. Dòng tế bào lai được tạo ra bằng phương pháp dung hợp bằng điện các lympho bào đã phân lập với đối tác (thành phần) dung hợp u tủy P3X63-AG8.653 sử dụng hệ thống dung hợp bằng điện Cytopulse Hybrimmune. Các tế bào sau khi dung hợp được cấy vào các đĩa 96 giếng (lỗ) chứa DMEM/F12, 15% BCS, HAT, IL-6, chất bổ sung OPI, và gentamycin.

Phần dịch nổi dòng tế bào lai được phân tích về khả năng liên kết với các tế bào CHOK1 biểu hiện TIGIT ở người và tính phản ứng chéo với các tế bào CHO biểu hiện TIGIT ở khỉ rhesus sử dụng thử nghiệm ELISA dựa trên tế bào. Các tế bào CHO-K1 biểu hiện TIGIT ở người và TIGIT ở khỉ rhesus được cấy vào các đĩa nuôi cấy mô 96 giếng chứa 50 μ l DMEM/F12, 10% BCS và gentamycin (môi trường CHO-K1). Các tế bào được cấy vào đĩa ở mật độ 2×10^4 tế bào/giếng hai ngày trước khi phân tích hoặc 4×10^4 tế bào/giếng một ngày trước khi phân tích. Môi trường được lấy ra khỏi các giếng trước khi phân tích và thêm 50 μ l phần dịch nổi dòng tế bào lai. Phần dịch nổi dòng tế bào lai được ủ trong 30-60 phút ở nhiệt độ trong phòng và được rửa 3 lần bằng PBS/0,05% Tween 20 sử dụng quy trình rửa ELISA tế bào trên máy rửa đĩa Biotek EL405x Select CW. 50 microlít kháng thể dò (kháng thể dê kháng IgG chuột cống được liên hợp với HRP (Southern Biotech cat# 3030-05) hoặc kháng thể dê kháng IgG chuột

nhất được liên hợp với HRP (Southern Biotech cat# 1043-05)), được bổ sung ở tỷ lệ pha loãng 1:2000 trong môi trường CHO-K1 và được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 30-60 phút. Các đĩa phân tích được rửa như trên và được phát triển bằng TMB và dừng bằng dung dịch dừng TMB (KPL cat# 50-85-06) hoặc axit phosphoric 0,1N. Tỷ lệ hấp thụ ở bước sóng 450nm-620nm được xác định. Dòng dương tính có tính phản ứng với cả tế bào CHO-K1 được chuyển nhiễm TIGIT ở người và TIGIT ở khỉ rhesus, và không liên kết với các tế bào CHO-K1 bố mẹ. Trong các thử nghiệm này, nếu kháng thể cho thấy có liên kết với các tế bào CHO-K1 bố mẹ (không được chuyển nhiễm); có thể loại bỏ việc kháng thể sàng lọc không đặc hiệu với TIGIT.

Dòng tế bào lai dương tính được tái tạo dòng bằng cách pha loãng giới hạn hoặc được tái tạo dòng bằng cách cấy dòng tế bào lai trong môi trường bán rắn và các dòng được chọn lọc trên ClonePix® (Genetix). Thực hiện hai vòng tái tạo dòng trên dòng tế bào lai bố mẹ. Các dòng tái tạo cuối cùng được phát triển trong môi trường nuôi cấy tế bào quy mô nhỏ trong môi trường sản xuất dòng tế bào lai không chứa huyết thanh và được tinh chế để tạo ra kháng thể được tinh chế để mô tả đặc điểm thêm.

Khoảng 819 dòng tế bào lai được tạo ra khi sử dụng các phương pháp này.

Ví dụ 2

Mô tả đặc điểm các kháng thể kháng hTIGIT

Phần dịch nổi từ dòng dương tính được kiểm tra khả năng chặn protein CD155-huFc tái tổ hợp ở người liên kết với các tế bào CHO-K1 hTIGIT trong thử nghiệm ELISA dựa trên tế bào. Các tế bào TIGIT-CHO-K1 ở người được cấy vào đĩa 96 giếng như được mô tả ở trên. Môi trường được lấy ra khỏi các đĩa và 50 µl phần dịch nổi dòng tế bào lai được ủ bằng các tế bào CHO-K1 TIGIT ở người ở 4°C trong 30 phút. Thêm 50 microlít CD155-huFc ở người vào đĩa để thu được nồng độ cuối là 0,5µg/ml CD155-huFc ở người và được ủ trong 30 phút ở 4°C. Các đĩa phân tích được rửa 3 lần bằng PBS/0,05% Tween-20 như trên. Sự liên kết của CD155-huFc ở người với các tế bào hTIGIT-CHO-K1 được phát hiện sử dụng kháng thể thứ cấp F(ab)'₂ của dê kháng IgG người liên hợp với HRP (Jackson 109-036-098) ở tỷ lệ pha loãng 1:2000 trong môi trường CHO-K1. Các đĩa được phát triển bằng cách sử dụng TMB và được dừng bằng

cách sử dụng dung dịch dừng TMB như được mô tả ở trên và A450-620nm được xác định.

Kháng thể của chuột cống được tạo ra theo phương pháp đã nêu ở trên được đề cập đến dưới dạng 14A6, và thu được từ dòng vô tính LB155.14A6.G2.A8. Kháng thể của chuột cống này (14A6) có isotyp IgG2/kapa và bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có SEQ ID NO:7 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO:8. Kháng thể 14A6 được tinh chế liên kết với TIGIT của người và TIGIT ở khỉ rhesus như được xác định bằng ELISA dựa trên tế bào liên kết với các tế bào TIGIT ở người-CHOK1 và TIGIT ở khỉ rhesus-CHOK1 (Fig. 1) sử dụng phương pháp được mô tả ở trên. (Kháng thể đối chứng isotyp không thể hiện bất kỳ liên kết nào (dữ liệu không được thể hiện). Kháng thể 14A6 được tinh chế cũng có thể chặn tương tác giữa hTIGIT và hCD155 bằng cách sử dụng thử nghiệm phong bế ELISA trên cơ sở tế bào (Fig. 3) sử dụng phương pháp được mô tả ở trên.

Kháng thể chuột nhắt được tạo ra theo phương pháp đã nêu ở trên được đề cập đến dưới dạng 28H5, và thu được từ dòng vô tính TC167.28H5.H5. Kháng thể chuột nhắt này (28H5) có isotyp IgG1/kapa và bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có SEQ ID NO:63 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO:64. Kháng thể 28H5 được tinh chế cũng liên kết với TIGIT của người và TIGIT ở khỉ rhesus như được xác định bằng ELISA dựa trên tế bào liên kết với các tế bào TIGIT ở người-CHOK1 và TIGIT ở khỉ rhesus-CHOK1 (Fig. 2) sử dụng phương pháp được mô tả ở trên. Kháng thể 28H5 được tinh chế cũng chặn tương tác giữa hTIGIT và hCD155 sử dụng thử nghiệm phong bế ELISA trên cơ sở tế bào (Fig. 3) sử dụng phương pháp được mô tả ở trên.

Kháng thể chuột nhắt khác được tạo ra theo phương pháp đã nêu ở trên được đề cập đến dưới dạng 31C6, và thu được từ dòng vô tính MEB125.31C6.A1.205. Kháng thể chuột nhắt này (31C6) có isotyp IgG1/kapa và bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có SEQ ID NO:94 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có SEQ ID NO:95. Kháng thể 31C6 được tinh chế cũng liên kết với TIGIT và TIGIT ở khỉ rhesus như được xác định bằng ELISA dựa trên tế bào liên kết với các tế bào TIGIT ở người-CHOK1 và TIGIT ở khỉ rhesus-CHOK1 (Fig. 4) sử dụng phương pháp được mô tả ở trên. Kháng thể 31C6 được tinh chế cũng chặn tương tác giữa hTIGIT và hCD155 sử dụng thử nghiệm phong bế ELISA trên cơ sở tế bào (Fig. 4) sử dụng phương pháp được mô tả ở trên.

Xác định ái lực liên kết của các kháng thể kháng TIGIT bố mẹ (không phải người) với protein tái tổ hợp TIGIT ở người: hoạt tính liên kết động học của các kháng thể kháng TIGIT ở người 14A6 và 31C6 (được thực hiện như được mô tả trong Ví dụ 1) và của kháng thể thương mại MBSA43 được xác định bằng phép cộng hưởng plasmon bề mặt sử dụng hệ Biacore T200 (Biacore, GE Healthcare, Piscataway, NJ). Khoảng 5000 RU của kháng IgG chuột nhắt, GE Healthcare Catalog Number BR-1008-38, hoặc khoảng 13.000 RU kháng thể dê kháng Fc gamma của IgG chuột cống, đặc hiệu mảnh, Jackson ImmunoResearch Catalog Number 112-006-071, được cố định thông qua sự ghép cặp amin trên chip cảm biến Series S CM5, số catalog BR-1005-30. Các dòng vô tính kháng TIGIT ở người của chuột nhắt, 31C6 và MBSA43, mỗi loại được tiêm lên bề mặt kháng chuột nhắt đã cố định ở 1 $\mu\text{g/mL}$ đối với mức bắt giữ 40 RU. Dòng vô tính kháng TIGIT ở người của chuột cống 14A6 được tiêm lên bề mặt kháng chuột cống đã cố định ở 1 $\mu\text{g/mL}$ đối với mức bắt giữ 40 RU. Đệm HBS-EP+ (BR-1006-69) được sử dụng làm đệm chạy với lưu lượng là 30 $\mu\text{L/phút}$. Các nồng độ thay đổi của protein TIGIT-His ở người hoặc protein TIGIT-Fc, nằm trong khoảng từ 0,29nM đến 40nM, ở lưu lượng bằng 45 $\mu\text{L/phút}$ được tiêm lên bề mặt kháng thể. Sau mỗi chu trình tiêm kháng TIGIT ở người của chuột nhắt đối với các dòng vô tính 31C6 và MBSA43, bề mặt chip Series S CM5 được tái tạo sử dụng một lần tiêm ba phút Glyxin 10mM, pH = 1,7 ở lưu lượng bằng 10 $\mu\text{L/phút}$. Sau mỗi chu trình tiêm kháng TIGIT ở người của chuột cống, bề mặt chip Series S CM5 được tái tạo sử dụng một lần tiêm 20 giây Glyxin 10mM, pH = 1,5 sau đó là hai lần tiêm 10 giây NaOH 12,5mM ở lưu lượng bằng 60 $\mu\text{L/phút}$.

Đồ thị cảm biến liên kết trừ nền được sử dụng để phân tích hằng số tốc độ kết hợp (k_a) và phân ly (k_d), và hằng số phân ly cân bằng K_D . Tập hợp số liệu thu được được làm khớp bằng mô hình liên kết Langmuir 1:1 sử dụng phần mềm đánh giá Biacore T200 (version 2.0). Bảng 3 tổng kết ái lực của các kháng thể kháng TIGIT ở người với protein TIGIT-His ở người và protein TIGIT-Fc.

Bảng 3: Đo ái lực của các kháng thể kháng TIGIT ở người với protein TIGIT-His ở người và protein TIGIT-Fc sử dụng BIAcore

Dòng vô tính	BIAcore KD (TIGIT ở người- His) (pM)	BIAcore KD (TIGIT ở người- Fc) (pM)
14A6 (rIgG2a/K)	3,09	3,12
31C6 (mIgG1/K)	34,4	10,9
Mẫu so sánh MBSA43 (mIgG1)	36,3	16,5

Ví dụ 3

Thử nghiệm hoạt tính tế bào T in vitro đối với các kháng thể đối kháng kháng hTIGIT

Trong số các kháng thể được thử nghiệm, khoảng 352 kháng thể đơn dòng thể hiện tác dụng chặn liên kết của CD155-Fc với các tế bào CHO biểu hiện hTIGIT được sàng lọc khả năng tăng cường hoạt tính tế bào T *in vitro* của chúng sử dụng các thử nghiệm chức năng dựa trên tế bào.

Một thử nghiệm được phát triển để mô tả đặc điểm hệ quả chức năng của việc phong tỏa thụ thể TIGIT ở người sử dụng các tế bào Jurkat, dòng lympho bào T của người đã cố định (dòng vô tính, E6-1; ATCC TIB-152), được thao tác di truyền để biểu hiện quá mức TIGIT ở người (hTIGIT-Jurkat) mà được đồng nuôi cấy với các tế bào THP-1, dòng tế bào đơn bào của người trong điều kiện có mặt hoặc không có mặt một trong số các phối tử TIGIT, CD155 và CD112. Các tế bào hTIGIT-Jurkat được đồng nuôi cấy với các tế bào THP-1 và được kích thích bằng mAb kháng CD3 liên kết với đĩa tạo ra IL-2, nhưng khi bổ sung phối tử TIGIT (CD155 hoặc CD112) vào môi trường đồng nuôi cấy, mức IL-2 bị giảm theo cách phụ thuộc phối tử. Việc xử lý bằng các kháng thể chặn tương tác CD155- hoặc CD112-TIGIT, như Ab kháng hTIGIT có trên thị trường, dòng vô tính MBSA43 (eBioscience Cat# 12-9500-42), sẽ hỗ trợ (giải cứu) việc sản xuất IL-2 trong thử nghiệm này theo cách phụ thuộc liều (Fig. 5).

Các đĩa đáy phẳng 96 giếng được phủ kháng thể chuột nhất kháng CD3 người (1 μ g/ml trong PBS; Dòng vô tính HIT3a; BD Pharmingen Cat# 555336) qua đêm ở 4°C. Ngày tiếp theo, các tế bào hTIGIT-Jurkat (50,000) được dàn trên các đĩa được phủ trước và được ủ trước trong thời gian 30-60 phút với mAb ở các nồng độ khác nhau. Các tế

bào THP-1 (50.000) được bổ sung vào môi trường nuôi cấy sau đó thêm CD155-Fc (ECD của CD155 ở người được dung hợp với Fc của người; 1,0 µg/ml) hoặc CD112-Fc (ECD của CD112 của người được dung hợp với Fc của người; 0,5 µg/ml). Sau khi ủ trong 18-24 giờ ở 37°C và 5,0% CO₂, mức IL-2 được đánh giá trong phần dịch nổi của môi trường nuôi cấy bởi Meso Scale (Human IL-2 Tissue Culture MESO Kit: Cat#K151AHB-2). Việc xử lý với MBSA43 (10 µg/ml) sẽ giúp IL-2 đến được mức bằng với khi các tế bào hTIGIT Jurkat đã hoạt hóa được nuôi cấy với THP-1 khi vắng mặt CD155 hoặc CD112.

Như được thể hiện trên Fig. 5, hiệu giá của dòng vô tính kháng hTIGIT 14A6 từ 30 µg/ml xuống còn 0,04 µg/ml cho giá trị EC₅₀ bằng 0,190 µg/ml so với MBSA43 ở 0,24 µg/ml khi sử dụng thử nghiệm này. Dòng vô tính 14A6 (30 µg/ml) giúp mức IL-2 lên đến 82% của MBSA43 (10 µg/ml).

Cũng được thể hiện trên Fig. 5, hiệu giá của dòng vô tính kháng hTIGIT 28H5 từ 30 µg/ml xuống còn 0,04 µg/ml cho giá trị EC₅₀ bằng 0,24 µg/ml so với MBSA43 ở 0,24 µg/ml khi sử dụng thử nghiệm này.

Cũng được thể hiện trên Fig. 6, hiệu giá của dòng vô tính kháng hTIGIT 31C6 từ 30 µg/ml xuống còn 0,04 µg/ml cho giá trị EC₅₀ bằng 0,14 µg/ml so với MBSA43 ở 0,24 µg/ml khi sử dụng thử nghiệm này. Dòng vô tính 31C6 (30 µg/ml) giúp mức IL-2 lên đến 118% của MBSA43 (10 µg/ml).

Trong số 352 kháng thể đơn dòng được thử nghiệm, khoảng 113 có thể tăng cường hoạt tính tế bào T *in vitro* sử dụng thử nghiệm chức năng dựa trên tế bào.

Ví dụ 4

Thử nghiệm hoạt tính tế bào T *in vitro* đối với các kháng thể đối kháng kháng hTIGIT

Các tác giả sáng chế đã phân tích thêm sự đối kháng về chức năng tương đối của TIGIT và hỗ trợ sự hoạt hóa tế bào T và chức năng tác động khi sử dụng dòng tế bào T sơ cấp của người biểu hiện TIGIT nội sinh dựa trên sự hoạt hóa thụ thể tế bào T (TCR). Dòng tế bào T của người 49 dòng vô tính BC4 là dòng vô tính tế bào T CD4⁺ của người đặc hiệu kháng nguyên đồng loài biểu hiện TCR đặc hiệu phân tử MHC HLA-lớp II được biểu hiện trên dòng tế bào biến nạp EBV, JY (HLA-DR1,4). Dòng tế bào T của người 49 dòng vô tính BC4 đòi hỏi việc tái kích thích bằng kháng nguyên đồng loài hai tuần một lần, sử dụng các tế bào kích thích JY được chiếu xạ (5000 Rad), PBMC được chiếu xạ (4000 Rad) được phân lập từ hai lớp bạch-tiểu cầu và PHA-P (2,5 µg/ml; Sigma), cũng như 10 ng/ml chất bổ sung IL-2 của người (R&D) mỗi 3-4 ngày sau khi tái kích thích và mở rộng. Nhiều dòng vô tính tế bào T (BC1-6, BC4-27, BC4-49) được phân tích bằng PCR và sau đó bằng máy phân tích tế bào theo dòng đối với sự biểu hiện tương đối của TIGIT sau khi tái kích thích và dòng vô tính BC4 49 được chọn vì nó có mức biểu hiện TIGIT cao nhất so với các dòng vô tính khác. Sự biểu hiện tương đối và các thông số động học của TIGIT, CD226, CD96 và CD155 được giám sát theo sự tái kích thích bằng các tế bào kích thích JY được chiếu xạ (5000 Rads), PBMC và PHA-P được chiếu xạ để đánh giá thời gian tốt nhất để thử nghiệm các mAb đối kháng đối với hoạt tính đối kháng TIGIT tương đối. Mức biểu hiện đỉnh của TIGIT được quan sát ở thời điểm 3-4 ngày sau khi tái kích thích, trong khi mức biểu hiện của CD226 và CD96 giảm trong cùng khoảng thời gian đó. Sau đó, mức biểu hiện của TIGIT giảm, trong khi mức biểu hiện của CD226 và CD96 tăng lần nữa ở ngày 6 sau khi tái kích thích (Fig. 7). Do đó, mAb đối kháng TIGIT ứng cử được đánh giá ở thời điểm 3-4 ngày sau khi tái kích thích. Tế bào chuyển nhiễm JY biểu hiện quá mức CD155 ở người được tạo ra sử dụng vector retrovirus PMX->huTIGIT làm phương tiện để ức chế các đáp ứng tế bào T dòng vô tính BC4 47 trong thử nghiệm sinh học tế bào T sơ cấp và để đánh giá khả năng tương đối của mAb kháng TIGIT trong việc chống lại sự hoạt hóa CD155 của TIGIT và hỗ trợ sự tăng sinh tế bào T và IFN γ ba ngày sau.

Thử nghiệm tế bào T sơ cấp đối với các mAb đối kháng kháng hTIGIT tương đối được thiết lập như sau. Dòng vô tính BC4 49 dòng tế bào T CD4⁺ của người được đồng nuôi cấy với CD155-Fc phong tỏa mAb đặc hiệu hTIGIT ở nhiều nồng độ khác nhau (33, 11, 3,7, 1,2, 0,4 và 0,1 µg/ml) trong 30 phút và sau đó được cấy vào đĩa 96 giếng đáy tròn (2×10^4 c/tế bào). Tác nhân chuyển nhiễm JY-hCD155, biểu hiện kháng nguyên đồng loài và các mức hCD155 cao, được chiếu xạ (5000 Rads), được rửa và sau đó được thêm vào các giếng chứa các tế bào T dòng vô tính BC4 49 được xử lý mAb kháng TIGIT cho nồng độ cuối là 1×10^4 (tỷ lệ tế bào T:tế bào đích 2:1) hoặc 5×10^3 (tỷ lệ tế bào T:tế bào đích 1:4) trong tổng thể tích là 200 µl/giếng. Các đối chứng bao gồm mẫu không xử lý mAb, đồng nuôi cấy với các tế bào T được xử lý isotyp mAb, chỉ có tế bào T và chỉ có tế bào JY-CD155. Sau ba hoặc bốn ngày đồng nuôi cấy, phần dịch nổi được thu hoạch để định lượng xytokin interferon-gama (IFN γ), và các tế bào T được rung trong 6 giờ với thymidin được triti hóa để đánh giá sự tăng sinh tương đối.

Như được thể hiện trên Fig. 8A và 8B, việc xử lý mAb kháng hTIGIT 14A6, 28H5 và 31C6 của các tế bào T dòng vô tính BC4 49 sẽ trợ giúp IFN γ và các đáp ứng tăng sinh như được đánh giá bởi các đáp ứng tăng so với isotyp và các tế bào T không được xử lý. Kháng thể MBSA43 thương mại và các kháng thể 37D10 và 25G10 (các kháng thể kháng TIGIT được tạo ra như được mô tả trong Ví dụ 1) cũng thể hiện hoạt tính trong thử nghiệm này. Việc tăng sản xuất IFN γ sau khi xử lý với 14A6, 28H5 và 31C6 là khoảng gấp hai lần so với trung bình.

Ví dụ 5

Hoạt tính kháng khối u của các kháng thể kháng TIGIT và kháng PD1 trong mẫu khối u động vật

Chuột nhắt: Chuột nhắt BALB/cAnN cái khoảng bảy đến tám tuần tuổi với cân nặng trung bình là 20 g được lấy từ Taconic Laboratory (Germantown, NY). Thức ăn và nước cho chuột thông thường được cung cấp tùy ý.

Chất thử kháng thể: kháng thể đơn dòng của isotyp IgG1 của chuột kháng lại PD-1 của chuột và các đối chứng isotyp thu được từ các nguồn bên trong làm nguồn cung đông lạnh (-80°C). Kháng thể kháng TIGIT chuột nhắt (GIGD7) của chuột cống thu được từ eBioscience làm nguồn cung 4°C. Đối chứng isotyp IgG1 là kháng thể đơn dòng

của chuột nhất đặc hiệu với hexon 25 của adenovirut. Đối chứng isotyp IgG2a là kháng thể đơn dòng của chuột cống đặc hiệu beta-galactosidaza. Isotyp IgG1 của chuột là isotyp của chuột tương ứng với isotyp IgG4 của người.

Điều chế theo công thức chất thử kháng thể: Đệm điều chế công thức dành riêng cho từng kháng thể để làm ổn định các protein và ngăn sự kết tủa. Công thức điều chế là như sau: mIgG1: NaCl 75mM, natri phosphat 10mM, sucroza 3%, pH=7,3; kháng PD-1: natri axetat 20mM, 7% sucroza, pH=5,5; IgG2a của chuột cống: 20mM natri axetat, sucroza 9% pH=5,5; và kháng TIGIT (GIGD7): PBS pH=7,0.

Tạo dòng tế bào khối u và cấy: các tế bào caxinom ruột kết CT26 được nuôi cấy trong môi trường RPMI có bổ sung 10% huyết thanh thai bò đã vô hoạt bằng nhiệt. 3×10^5 tế bào CT26 pha log và tế bào CT26 dưới mức hợp dòng được tiêm dưới da (SC) trong 100 μ L thể tích RPMI không chứa huyết thanh vào sườn lưng dưới bên phải của mỗi con chuột nhất. Các con chuột trước tiên được cạo lông bằng tông đơ điện ở vùng được sử dụng để cấy.

CT-26 là dòng tế bào ung thư biểu mô tuyến ở ruột kết-trực tràng của chuột đồng gen với chủng chuột nhất BALB/c. CT-26 là hệ mẫu tương đương để đánh giá cơ chế tác động của kháng thể kháng PD-1 do profin phân tử có thể dịch được của khối u này sau liệu pháp kháng PD-1.

Các thông số đo của khối u và cân nặng: Khối u được đo vào ngày trước ngày dùng liều đầu tiên và hai lần một tuần sau đó. Chiều dài và chiều rộng của khối u được đo bằng cách sử dụng thước cặp điện tử và thể tích khối u được xác định bằng cách sử dụng công thức Thể tích (mm^3) = $0,5 \times \text{Chiều dài} \times \text{Chiều rộng}^2$ trong đó chiều dài là kích thước lớn hơn. Chuột được cân định kỳ để kiểm tra tình trạng sức khỏe chung mà cũng để đánh giá sự phân phối liều lượng mg/kg thực tế đối với mỗi con chuột nhất khi cần. Trước khi điều trị, chuột được cân và khối u từ mỗi con chuột được đo. Để ngăn độ sai lệch, các khoảng lệch bất kỳ về trọng lượng hoặc thể tích khối u được loại bỏ và các con chuột còn lại được chia ngẫu nhiên thành các nhóm điều trị khác nhau với kích cỡ khối u trung bình tương đương. Khi thể tích khối u trung bình trong con chuột mang khối u CT26 đạt đến $\sim 100 \text{ mm}^3$, khoảng 7 ngày sau khi cấy dưới da, các con vật được chia ngẫu nhiên thành các nhóm điều trị gồm 10 con chuột mỗi nhóm và việc định liều bắt đầu. Các con vật được sử dụng ở nồng độ liều dùng được định rõ dưới đây.

Chuẩn bị dung dịch liều, sử dụng và phân tích: Kho dự trữ đông lạnh của các kháng thể được thử nghiệm trong mô hình động vật được làm tan và được chuyển vào đá ướt. Để tránh việc rã đông nhiều lần, mỗi lọ dữ trữ được làm rã một lần và phần mẫu được tạo ra trong thể tích nhỏ đủ cho một lần sử dụng. Các ống polypropylen có độ dính thấp được sử dụng cho mục đích này. Phần mẫu được làm đông lạnh đột ngột trong đá khô và được bảo quản ở nhiệt độ -80°C . Trước mỗi lần định liều, một phần mẫu được làm rã và được pha loãng đến nồng độ danh nghĩa trong chất pha loãng thích hợp và được định liều ngay lập tức. Phần mẫu của các dung dịch định liều được làm đông lạnh đột ngột trong đá khô và được bảo quản ở nhiệt độ -80°C cho đến khi phân tích. Dung dịch định liều được đánh giá bằng cách sử dụng nền tảng Meso Scale Discovery (MSD®, Rockville, MD) dựa trên kỹ thuật đa mảng; kết hợp phương pháp dò điện hóa phát quang và các mảng được tạo kiểu.

Kết quả điều trị dùng liều kháng TIGIT/ kháng PD1: các con chuột nhắt BALB/cAnN mang khối u CT26 được sử dụng kháng TIGIT chuột nhắt của chuột cống (GIGD7) ở liều 20mg/kg, IP, 4 ngày một lần trong mỗi 5 chu kỳ. Kháng thể kháng PD-1 chuột nhắt (được mô tả ở trên) được sử dụng ở liều lượng 10 mg/kg, IP, 4 ngày một lần trong mỗi 5 chu kỳ. Sau khi định liều, các con vật tiếp tục được theo dõi và thể tích khối u được đo ngoài 36 ngày. Việc xử lý được bắt đầu khi kích thước khối u đạt trung bình 100 mm^3 ($75\text{ mm}^3 - 115\text{ mm}^3$). Các khối u được đo hai lần một tuần. Như được chứng minh bằng các kết quả, được thể hiện trên Fig. 9, đáp ứng kháng khối u trung bình của liệu pháp kết hợp với chất đối kháng PD-1 và chất đối kháng TIGIT lớn hơn đáp ứng kháng khối u quan sát được với điều trị bằng tác nhân đơn kháng PD1 ($p<0,05$) hoặc tác nhân đơn kháng TIGIT ($p<0,005$). Đối với việc điều trị bằng tác nhân đơn kháng TIGIT, tỷ lệ ức chế sự sinh trưởng của khối u (TGI) bằng 21% được quan sát vào ngày 14. Đối với việc điều trị tác nhân đơn kháng PD1, 52% TGI được quan sát vào ngày 14. Việc điều trị kết hợp dẫn đến 85% TGI vào ngày 14 và chứng minh rằng 40% sự thoái triển hoàn toàn (CR) để cho không khối u đo được nào còn lại ở 4 trong số 10 con chuột nhắt đến ngày 36. Hiệu quả kháng khối u với kháng thể được phân phối làm liệu pháp đơn là 0-10% CR.

Nhân hóa kháng thể

Kháng thể của chuột cống 14A6 và chuột nhắt 31C6 được nhân hóa sử dụng phương pháp được nêu trong bản mô tả này. Từ kháng thể của chuột cống 14A6, vùng biến đổi chuỗi nặng được nhân hóa sau đây được tạo cấu trúc: SEQ ID NO: 9-24 và SEQ ID NO: 37-47; và các vùng biến đổi chuỗi nhẹ được nhân hóa sau đây được tạo cấu trúc: SEQ ID NO: 25-30 và SEQ ID NO: 48-52. Từ kháng thể chuột nhắt 31C6, vùng biến đổi chuỗi nặng được nhân hóa sau đây được tạo cấu trúc: SEQ ID NO: 124-129; và các vùng biến đổi chuỗi nhẹ được nhân hóa sau đây được tạo cấu trúc: SEQ ID NO: 130-133.

Ví dụ 7

Tác dụng của Isotyp Fc đối với hoạt tính chống khối u của các kháng thể kháng TIGIT trong mô hình khối u của động vật

Chuột nhắt: Chuột nhắt BALB/cAnN cái khoảng bảy đến tám tuần tuổi có cân nặng trung bình bằng 20 gam được thu từ phòng thí nghiệm Taconic Laboratory (Germantown, NY). Thức ăn thông thường dùng cho động vật và nước được cung cấp tùy ý.

Chất thử kháng thể:

- Kháng thể chuột kháng PD1 chuột nhắt - Kiểu phụ IgG1
- Kháng thể chuột cống kháng TIGIT chuột nhắt(18G10) - Kiểu phụ IgG1 ở chuột cống. Kháng thể này được mô tả trên các hình vẽ là 18G10 gốc. Kháng thể 18G10 có trình tự VH có SEQ ID NO:136 và trình tự VL có SEQ ID NO:137.
- Kháng thể chuột cống kháng TIGIT chuột nhắt thể khảm (18G10) - bao gồm vùng Fc ở chuột nhắt của kiểu phụ mIgG1. Kháng thể này được mô tả trên các hình vẽ là 18G10-G2a. (isotyp IgG1 của chuột là isotyp ở chuột tương ứng với isotyp IgG4 ở người.)
- Kháng thể chuột cống kháng TIGIT chuột nhắt 18G10 thể khảm - bao gồm vùng Fc ở chuột nhắt của kiểu phụ mIgG2a. Kháng thể này được mô tả

trên các hình vẽ là 18G10-G2a. (Isotyp IgG2a của chuột là isotyp ở chuột tương ứng với isotyp IgG1 ở người.)

- Kháng thể IgG1 của chuột đối chứng isotyp (kháng thể đơn dòng đối chứng tương ứng với isotyp IgG1 ở chuột nhất đặc hiệu với hexon 25 của adenovirut))
- Kháng thể IgG1 ở chuột công đối chứng isotyp (kháng thể đơn dòng đối chứng tương ứng với isotyp IgG1 ở chuột công đặc hiệu với IL-4 ở người)
- Kháng thể IgG2a chuột đối chứng isotyp (kháng thể đơn dòng đối chứng tương ứng với isotyp IgG2a ở chuột nhất đặc hiệu với hexon 25 của adenovirut).

Chế phẩm chứa chất thử kháng thể: Các chế phẩm chứa các chất sau đây:

- mIgG1: 75mM NaCl, 10mM natri phosphat, 3% sucroza, pH=7,4;
- kháng PD-1: 20mM natri axetat, 9% sucroza, pH=5,5; mIgG2a: 75mM NaCl, 10mM natri phosphat, 3% sucroza, pH=7,3;
- IgG1 ở chuột công: 20mM natri axetat, 7% sucroza pH=5,5; 18G10: 20mM NaAc, 100mM NaCl, 3% sucroza; 18G10-G1: 20mM NaAc, 9% sucroza, pH=5,5; 18G10-G2a: 20mM NaAc, 9% sucroza, pH=5,5.

Chuẩn bị và cấy dưới da dòng tế bào khối u: các tế bào caxinom ruột kết CT26 được nuôi cấy trong môi trường RPMI được bổ sung 10% huyết thanh bào thai bò được bất hoạt nhiệt. 3×10^5 pha log và các tế bào CT26 dưới mức hợp dòng được tiêm dưới da (SC) với thể tích 100 μ L của RPMI không chứa huyết thanh vào sườn lưng phía dưới bên phải của mỗi con chuột nhất. Chuột đầu tiên được cạo lông bằng tông đơ điện ở vùng sẽ được sử dụng để cấy dưới da.

CT-26 là dòng tế bào ung thư biểu mô tuyến ruột kết-trực tràng ở chuột cùng gen với chủng chuột nhất BALB/c. CT-26 là hệ thống mô hình có liên quan để đánh giá cơ chế tác dụng đối với kháng thể kháng PD-1 do profin phân tử có thể dịch mã của khối u này sau liệu pháp kháng PD-1.

Các phép đo khối u và cân nặng: Khối u được đo vào ngày trước liều dùng thứ nhất và hai lần một tuần sau đó. Chiều dài và chiều rộng của khối u được đo bằng cách sử dụng thước cặp điện tử và thể tích khối u được xác định bằng cách sử dụng công thức Thể tích (mm^3) = $0,5 \times \text{Chiều dài} \times \text{Chiều rộng}^2$ trong đó chiều dài là kích thước lớn

hơn. Chuột được cân định kỳ để kiểm tra tình trạng sức khỏe chung mà cũng để đánh giá sự phân phối liều lượng mg/kg thực tế đối với mỗi con chuột nhất khi cần. Trước khi điều trị, chuột được cân và khối u từ mỗi con chuột được đo. Để ngăn độ sai lệch, các khoảng lệch bất kỳ về trọng lượng hoặc thể tích khối u được loại bỏ và các con chuột còn lại được chia ngẫu nhiên thành các nhóm điều trị khác nhau với kích cỡ khối u trung bình tương đương.

Chế phẩm dung dịch định liều, sử dụng, và các phép phân tích: Kho dự trữ đông lạnh chứa các kháng thể được thử nghiệm trong mô hình động vật được làm tan và được chuyển vào đá urot. Để tránh việc rã đông nhiều lần, mỗi lọ dữ trữ được làm rã đông một lần và phần mẫu được tạo ra trong thể tích nhỏ đủ cho một lần sử dụng. Các ống polypropylen có độ dính thấp được sử dụng cho mục đích này. Phần mẫu được làm đông lạnh đột ngột trong đá khô và được bảo quản ở nhiệt độ -80°C . Trước mỗi lần định liều, một phần mẫu được làm rã đông và được pha loãng đến nồng độ danh nghĩa trong chất pha loãng thích hợp và được định liều ngay lập tức. Phần mẫu của các dung dịch định liều được làm đông lạnh đột ngột trong đá khô và được bảo quản ở nhiệt độ -80°C cho đến khi phân tích. Dung dịch định liều được đánh giá bằng cách sử dụng nền tảng Meso Scale Discovery (MSD[®], Rockville, MD) dựa trên kỹ thuật đa mảng; kết hợp phương pháp dò điện hóa phát quang và các mảng được tạo kiểu.

Các kết quả điều trị bằng kháng thể Kháng TIGIT/Kháng PD1 theo liều lượng: chuột nhắt BALB/cAnN mang khối u CT26 được chia ngẫu nhiên thành 10 nhóm điều trị khi thể tích khối u trung bình của những con chuột này đạt đến kích thước khối u trung bình bằng 100 mm^3 ($80\text{ mm}^3 - 119\text{ mm}^3$): (1) đối chứng isotyp muIgG1 + đối chứng isotyp IgG1 ở chuột cống; (2) đối chứng isotyp muIgG1 + đối chứng isotyp muIgG2a; (3) muDX400 + đối chứng isotyp IgG1 ở chuột cống; (4) muDX400 + đối chứng isotyp muIgG2a; (5) đối chứng isotyp muIgG1 + 18G10; (6) đối chứng isotyp muIgG1 + 18G10-G1; (7) đối chứng isotyp muIgG1 + 18G10-G2a; (8) muDX400 + 18G10; (9) muDX400 + 18G10_G1; (10) muDX400 + 18G10_G2a. Các con vật được sử dụng kháng thể chuột cống kháng TIGIT chuột nhắt (18G10) hoặc kháng thể kháng TIGIT thể khảm 18G10-G1 hoặc 18G10-G2a (được mô tả ở trên) ở liều lượng 18mg/kg, IP, mỗi 4 ngày đối với mỗi trong 6 chu kỳ. Kháng PD-1 chuột nhắt (được mô tả ở trên) được dùng ở liều lượng 10 mg/kg, IP, mỗi 4 ngày đối với mỗi trong 6 chu kỳ. Sau khi

định liều, các con vật tiếp tục được theo dõi và thể tích khối u được đo ngoài 76 ngày đối với một số nhóm điều trị. Các khối u được đo hai lần một tuần. Các kết quả được thể hiện trên các hình vẽ Fig. 10 và Fig. 11. Việc điều trị bằng kháng thể kháng TIGIT tác nhân đơn sử dụng 18G10-G2a thể hiện 44% ức chế sự sinh trưởng của khối u (TGI) vào ngày 13; trong khi kháng thể gốc 18G10 thể hiện 38% và kháng thể 18G10-G1 thể hiện 36%. Đối với việc điều trị bằng kháng PD1 tác nhân đơn kết hợp với đối chứng isotyp rIgG1, 51% TGI được quan sát vào ngày 13. Khi kháng thể kháng PD-1 được kết hợp với đối chứng isotyp muIgG2a, 50% TGI và 10% thoái triển hoàn toàn (CR) được quan sát vào ngày 18, để cho 1 con vật đáp ứng hoàn toàn trong số 10 con vật được quan sát. Hỗn hợp chứa kháng thể kháng PD1 và kháng thể 18G10 gốc thể hiện 80% TGI vào ngày 13 và chứng minh 300% CR vào ngày 39. Hỗn hợp chứa kháng thể kháng PD1 và 18G10-G1 thể hiện 59% TGI vào ngày 13 và chứng minh rằng 10% CR vào ngày 13. Hỗn hợp chứa kháng thể kháng PD1 và 18G10-G2a thể hiện 88% TGI vào ngày 13 và chứng minh 60% CR vào ngày 63. Hỗn hợp chứa kháng thể kháng PD1 và 18G10-G2a thể hiện hoạt tính chống khối u lớn hơn và sự thoái triển hoàn toàn hơn so với các hỗn hợp chứa kháng thể kháng PD1 với 18G10 gốc hoặc 18G10-G1. Không có sự sụt giảm cân nặng đáng kể liên quan đến việc dùng các tác nhân đơn hoặc liệu pháp kết hợp cho thấy rằng các lần điều trị được dung nạp tốt.

Ví dụ 8

Tác dụng của Isotyp Fc đối với hoạt tính chống khối u của các kháng thể kháng TIGIT ở mẫu khối u động vật

Lặp lại thử nghiệm được mô tả trong ví dụ 7, ngoại trừ việc kháng thể 18G10 của chuột cống được thay bằng kháng thể 11A11 của chuột cống.

Chuột nhắt: chuột nhắt BALB/cAnN cái, khoảng bảy đến tám tuần tuổi có cân nặng trung bình là 20 g lấy từ Taconic Laboratory (Germantown, NY). Thức ăn và nước cho chuột thông thường được cung cấp tùy ý.

Chất thử kháng thể:

- Kháng thể chuột kháng PD1 chuột nhắt- Kiểu phụ IgG1

- Kháng thể chuột chống kháng TIGIT chuột nhắt(11A11) - Kiểu phụ IgG1 ở chuột cống. Kháng thể này được mô tả trên các hình vẽ là 11A11 gốc. Kháng thể 11A11 có trình tự VH có SEQ ID NO:138 và trình tự VL có SEQ ID NO:139.
- Kháng thể chuột chống kháng TIGIT chuột nhắt thể khảm (11A11) - bao gồm vùng Fc ở chuột nhắt của kiểu phụ mIgG1. Kháng thể này được mô tả trên các hình vẽ là 11A11-G2a. (isotyp IgG1 ở chuột là isotyp ở chuột tương ứng với isotyp IgG4 ở người.)
- Kháng thể TIGIT 11A11 kháng chuột ở chuột thể khảm - bao gồm vùng Fc ở chuột nhắt có kiểu phụ mIgG2a. Kháng thể này được mô tả trên các hình vẽ là 11A11-G2a. (Isotyp IgG2a ở chuột là isotyp ở chuột tương ứng với isotyp IgG1 ở người.)
- Kháng thể IgG1 chuột đối chứng isotyp (kháng thể đơn dòng đối chứng tương ứng với isotyp IgG1 ở chuột nhắt đặc hiệu với hexon 25 của adenovirut))
- Kháng thể IgG1 ở chuột cống đối chứng isotyp (kháng thể đơn dòng đối chứng tương ứng với isotyp IgG1 ở chuột cống đặc hiệu với IL-4 ở người)
- Kháng thể IgG2a chuột đối chứng isotyp (kháng thể đơn dòng đối chứng tương ứng với isotyp IgG2a ở chuột nhắt đặc hiệu với hexon 25 của adenovirut).

Chế phẩm chứa chất thử kháng thể: Chế phẩm này chứa các chất sau đây:

- mIgG1: 75mM NaCl, 10mM natri phosphat, 3% sucroza, pH=7,4;
- kháng PD-1: 20mM natri axetat, 9% sucroza, pH=5,5; mIgG2a: 75mM NaCl, 10mM natri phosphat, 3% sucroza, pH=7,3;
- IgG1 ở chuột: 20mM natri axetat, 7% sucroza pH=5,5; 11A11: 20mM NaAc, 100mM NaCl, 3% sucroza pH5.5; 11A11-G1: 20mM NaAc, 9% sucroza, pH 5,5; 11A11-G2a: 20mM NaAc, 9% sucroza, pH=5,5.

Chuẩn bị và cấy dưới da dòng tế bào khối u: các tế bào caxinom ruột kết CT26 được nuôi cấy trong môi trường RPMI có bổ sung huyết thanh bào thai bò được bất hoạt nhiệt 10%. 3×10^5 pha log và các tế bào CT26 dưới mức hợp dòng được tiêm dưới da

(SC) trong 100 μ L thể tích của RPMI không chứa huyết thanh vào sườn lưng phía dưới bên phải của mỗi con chuột nhắt. Chuột trước hết được cạo lông bằng tông đơ điện ở vùng mà sẽ được cấy dưới da.

CT-26 là dòng tế bào caxinom tuyến ruột kết-trực tràng ở chuột cùng gen với chủng BALB/c ở chuột nhắt. CT-26 là hệ thống mô hình có liên quan để đánh giá cơ chế tác động đối với kháng thể kháng PD-1 do profin phân tử có thể dịch mã của của khối u này sau liệu pháp kháng PD-1.

Các số đo khối u và cân nặng: Khối u được đo vào ngày trước liều thứ nhất và hai lần một tuần sau đó. Chiều dài và chiều rộng của khối u được đo bằng cách sử dụng thước cặp điện tử và thể tích khối u được xác định bằng cách sử dụng công thức Thể tích (mm^3) = $0,5 \times \text{Chiều dài} \times \text{Chiều rộng}^2$ trong đó chiều dài là kích thước lớn hơn. Chuột được cân định kỳ để kiểm tra tình trạng sức khỏe chung mà cũng để đánh giá sự phân phối liều lượng mg/kg thực tế đối với mỗi con chuột nhắt khi cần. Trước khi điều trị, chuột được cân và khối u từ mỗi con chuột được đo. Để ngăn độ sai lệch, các khoảng lệch bất kỳ về trọng lượng hoặc thể tích khối u được loại bỏ và các con chuột còn lại được chia ngẫu nhiên thành các nhóm điều trị khác nhau với kích cỡ khối u trung bình tương đương. Khi thể tích khối u trung bình trong con chuột mang khối u CT26 đạt đến $\sim 100 \text{ mm}^3$, khoảng 7 ngày sau khi cấy dưới da, các con vật được chia ngẫu nhiên thành các nhóm điều trị gồm 10 con chuột mỗi nhóm và việc định liều bắt đầu. Các con vật được dùng ở nồng độ định liều được định rõ dưới đây.

Điều chế dung dịch định liều, dùng, và phân tích: Kho dự trữ đông lạnh các kháng thể được thử nghiệm trong mô hình động vật được làm rã đông và được chuyển vào đá ướt. Để tránh việc rã đông nhiều lần, mỗi lọ dữ trữ được làm rã một lần và phần mẫu được tạo ra trong thể tích nhỏ đủ cho một lần sử dụng. Các ống polypropylen có độ dính thấp được sử dụng cho mục đích này. Phần mẫu được làm đông lạnh đột ngột trong đá khô và được bảo quản ở nhiệt độ -80°C . Trước mỗi lần định liều, một phần mẫu được làm rã đông và được pha loãng đến nồng độ danh nghĩa trong chất pha loãng thích hợp và được định liều ngay lập tức. Phần mẫu của các dung dịch định liều được làm đông lạnh đột ngột trong đá khô và được bảo quản ở nhiệt độ -80°C cho đến khi phân tích. Dung dịch định liều được đánh giá bằng cách sử dụng nền tảng Meso Scale Discovery

(MSD®, Rockville, MD) dựa trên kỹ thuật đa mảng; kết hợp phương pháp dò điện hóa phát quang và các mảng được tạo kiểu.

Định liều Kháng TIGIT/Kết quả điều trị kháng PD1: Chuột nhắt BALB/cAnN mang khối u CT26 được chia ngẫu nhiên thành 10 nhóm điều trị khi thể tích khối u trung bình của những con chuột này đạt đến kích thước khối u trung bình bằng 100 mm³ (từ 75 mm³ đến 115 mm³): (1) đối chứng isotyp muIgG1 + đối chứng isotyp IgG1 ở chuột; (2) đối chứng isotyp muIgG1 + đối chứng isotyp muIgG2a; (3) muDX400 + đối chứng isotyp IgG1 ở chuột; (4) muDX400 + đối chứng isotyp muIgG2a; (5) đối chứng isotyp muIgG1 + 11A11; (6) đối chứng isotyp muIgG1 + 11A11-G1; (7) đối chứng isotyp muIgG1 + 11A11-G2a; (8) muDX400 + 11A11; (9) muDX400 + 11A11_G1; (10) muDX400 + 11A11_G2a. Các con vật được dùng kháng thể chuột chống kháng TIGIT chuột nhắt (11A11) hoặc kháng thể thể khảm kháng TIGIT 11A11-G1 hoặc 11A11-G2a (được mô tả ở trên) ở liều lượng 20 mg/kg, IP, mỗi 4 ngày đối với mỗi trong 6 chu kỳ. Kháng PD-1 chuột nhắt (được mô tả ở trên) được sử dụng ở liều lượng 10 mg/kg, IP, mỗi 4 ngày đối với mỗi trong 6 chu kỳ. Sau khi định liều, các con vật tiếp tục được theo dõi và thể tích khối u được đo ngoài 54 ngày đối với một vài nhóm điều trị. Các khối u được đo hai lần một tuần. Các kết quả được thể hiện trên Fig. 12 và Fig. 13. Việc điều trị kháng TIGIT tác nhân đơn sử dụng 11A11-G2a thể hiện 52% sự ức chế sự sinh trưởng của khối u (TGI) vào ngày 14; trong khi hoạt tính ít đến không có hoạt tính được quan sát bằng cách sử dụng kháng thể gốc 11A11 hoặc kháng thể 11A11-G1. Đối với việc điều trị kháng PD1 tác nhân đơn, 40-50% TGI được quan sát vào ngày 14. Khi được kết hợp với IgG1 đối chứng isotyp ở chuột cống, kháng PD-1 thể hiện 10% sự thoái triển hoàn toàn (CR) vào ngày 28, để cho 1 con vật đáp ứng hoàn toàn trong số 10 con vật được quan sát. Sự kết hợp của kháng PD1 và 11A11 gốc thể hiện 60% TGI vào ngày 14 và chứng minh được 30% CR vào ngày 54. Sự kết hợp của kháng PD1 và 11A11-G1 thể hiện 56% TGI vào ngày 14 và chứng minh được 30% CR vào ngày 25. Sự kết hợp của kháng PD1 và 11A11-G2a thể hiện 94% TGI vào ngày 14 và chứng minh rằng 70% CR vào ngày 42. Sự kết hợp của kháng PD1 và 11A11-G2a thể hiện hoạt tính chống khối u lớn hơn và sự thoái triển hoàn toàn hơn so với các hỗn hợp của kháng PD1 với 11A11 gốc hoặc 11A11-G1. Không có sự sụt giảm cân nặng đáng kể liên quan đến việc

dùng các tác nhân đơn hoặc liệu pháp kết hợp cho thấy các lần điều trị được dung nạp tốt.

Ví dụ 9

Định vị Epitop của Kháng thể 14A6 hTIGIT bằng Phương pháp phổ khối Trao đổi hydro đơteri

Diện tích tiếp xúc giữa kháng thể kháng TIGIT 14A6 và TIGIT ở người được xác định bằng cách sử dụng phép phân tích phương pháp phổ khối trao đổi hydro đơteri (HDX-MS). HDX-MS đo sự trao đổi của đơteri với hydro trong khung amit của protein. Tốc độ trao đổi bị ảnh hưởng bởi sự tiếp xúc của hydro với dung môi. So sánh mức độ trao đổi trong kháng nguyên khi kháng thể được liên kết có thể nhận biết các vùng của protein tại đó kháng thể đang liên kết.

Vật liệu

- TIGIT-His ở người – Bao gồm miền ngoại bào của hTIGIT (các gốc 25-150 của SEQ ID NO:31) và thẻ histidin (SEQ ID NO:87).
- Kháng thể 14A6 kháng hTIGIT ở chuột cống (bao gồm trình tự VH/VL có SEQ ID NO:7/8 (lot#78AGU) và vùng Fc IgG2a ở chuột cống) (Chuột cống x [TIGIT_H] mAb (LB155.14A6.G2.A8) IgG2a / Kapa (HY)).

Phương pháp sắc ký lỏng-Phương pháp phổ khối

Khối phổ kế là Thermo Scientific Orbitrap-Velos. Đối với phép đo các mẫu được đánh dấu đơteri, khối phổ kế được thiết lập để thu một dữ liệu MS quét đầy đủ trong orbitrap ở độ phân giải 60000, số đếm ion đích 1E6, thời gian tiêm ion tối đa bằng 500 mili giây và hai lần vi quét. Để thu dữ liệu MS/MS đối với các lần nhận biết peptit, khối phổ kế được thiết lập để thu một phổ quét đầy đủ tại độ phân giải 60000 sau đó bằng mười phổ MS/MS phụ thuộc dữ liệu trong bẫy ion.

Hệ thống sắc ký lỏng là Waters® nanoACQUITY đối với gradien cột phân tích và bơm đẳng dòng Waters® 515 để cắt và nạp mẫu. Để cắt và nạp mẫu, dung dịch đệm được sử dụng là 2% axetonitril và 0,05% axit trifloaxetic ở lưu lượng bằng 80 ul/phút. Đối với gradien phân tích, các dung dịch đệm là Dung dịch đệm A) 0,1% axit formic trong nước và Dung dịch đệm B) 0,1% axit formic trong axetonitril.

Gradient ở 40ul/phút từ 2% B đến 36% B trong thời gian 10 phút, sau đó rửa bằng 80% B trong thời gian 2 phút và làm cân bằng lại tại 2% B trong thời gian 3 phút. Cột được rửa bằng cách tuần hoàn gradient giữa 2% và 80% B, ba lần với 1 phút ở mỗi bước, sau đó làm cân bằng lần cuối ở 2% B trong thời gian 5 phút. Cột bẫy là cột Guard Waters® Vanguard C18 BEH 1,7um và cột phân tích là cột Waters® C18 BEH300, 1,7um 1x50mm.

Việc xử lý mẫu để đánh dấu đoteri được thực hiện bởi hệ thống Leaptac H/D-X PAL. Ngăn mẫu đánh dấu được thiết đặt đến nhiệt độ bằng 25°C, ngăn dập tắt được thiết đặt đến nhiệt độ 1,5°C và bẫy và khoang trong cột phân tích được thiết đặt đến nhiệt độ 1,5°C. Cột pepsin được cố định (Porosyme Immobilized Pepsin 2,1x30mm, Life Technologies) được giữ phía ngoài khoang của cột ở nhiệt độ trong phòng.

Đánh dấu đoteri

hTIGIT-His (30 pmol/μl) được trộn với một thể tích tương đương của kháng thể (14 pmol/μl) hoặc, trong đối chứng không được gắn kết, PBS pH=7,6. Các mẫu được liên kết kháng thể và đối chứng không được liên kết được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ trước khi bắt đầu thử nghiệm đánh dấu.

Để đánh dấu đoteri các mẫu, 2μl mẫu được trộn với 25μl PBS trong đoteri oxit pD 7,6. Các thời điểm đánh dấu là 30, 300, 1500, 4500 hoặc 9000 giây. Sau thời gian thiết đặt, 25μl hỗn hợp đánh dấu được bổ sung vào 35μl dung dịch đệm dập tắt lạnh (8M Ure, 100mM TCEP). Mẫu đã dập tắt được ủ ở nhiệt độ 1,5°C trong thời gian một phút. 55μl sau đó được tiêm vào khoang làm mát của cột tại đó mẫu này được chuyển qua cột pepsin và peptit tạo thành được nạp lên trên cột bẫy. Sau thời gian ba phút, bộ ngắt van đưa cột pepsin ra khỏi dòng và bẫy được rửa thêm một phút nữa. Sau khi bẫy được bật đồng thời với cột phân tích và gradient phân tích và khối phổ kế được khởi động.

Mẫu đoteri hóa hoàn toàn được tạo ra bằng cách ủ 2μl hTIGIT với 108μl dung dịch đệm biến tính được đoteri hóa (4M Ure, 100mM TCEP, 0,01% DDM trong 99,5% đoteri oxit). Mẫu được ủ ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. 55μl sau đó được tiêm trực tiếp vào khoang của cột và dữ liệu được thu như trước đó.

Phân tích dữ liệu

Dữ liệu LC-MS/MS được thu của mẫu không được đánh dấu và được tìm kiếm trước khi đánh dấu đoteri để kiểm tra sự cắt thành công các protein và để tạo ra danh

sách các peptit từ sự cắt bằng pepsin. Dữ liệu là cơ sở dữ liệu được tìm kiếm bằng cách sử dụng Proteome Discoverer 1.4 và thuật toán tìm kiếm SEQUEST HT (ThermoFisher Scientific). Cơ sở dữ liệu protein được sử dụng là TIGIT-His ở người và trình tự kháng thể kháng hTIGIT được liên kết với cơ sở dữ liệu Uniprot của nấm men *Saccharomyces cerevisiae* (5/20/13).

Dữ liệu MS từ thử nghiệm đánh dấu đơteri được xử lý bằng HDExaminer (phiên bản 1.3, Sierra Analytics). Thời gian tập hợp và lưu giữ được lựa chọn bằng phần mềm dùng cho mỗi peptit được kiểm tra một cách thủ công.

Kết quả

Peptit TIGIT ở người được bảo vệ bởi kháng thể 14A6 được liên kết được minh họa trong bản đồ nhiệt của Fig. 14 và tương ứng với các gốc axit amin 54-57, 68-70 và 76-81 của SEQ ID NO:31. (Các axit amin tương tự này được thể hiện dưới dạng các gốc 30-33, 44-46 và 52-57 của SEQ ID NO:87.)

Ví dụ 10

Định vị epitop của Kháng thể 31C6 hTIGIT bằng Phương pháp phổ khối Trao đổi hydro đơteri

Diện tích tiếp xúc giữa kháng thể kháng TIGIT 31C6 và TIGIT ở người được xác định bằng cách sử dụng phép phân tích phương pháp phổ khối trao đổi hydro đơteri (HDX-MS). HDX-MS đo sự trao đổi của đơteri với hydro trong khung amit của protein. Một yếu tố ảnh hưởng đến tốc độ trao đổi là sự tiếp xúc của hydro với dung môi. So sánh mức độ trao đổi trong kháng nguyên khi kháng thể được liên kết có thể nhận biết các vùng protein trong đó kháng thể đang liên kết.

Vật liệu

- TIGIT-His ở người – Bao gồm miền ngoại bào của hTIGIT (các gốc 25-145 của SEQ ID NO:31) và thể histidin (SEQ ID NO:87).
- Kháng thể 31C6 kháng hTIGIT ở chuột nhắt (lot# 41AHK) (Chuột nhắt x [TIGIT_H] mAb (MEB125.31C6.A1.205) IgG1 / Kapa (HY))

Phương pháp sắc ký lỏng-Phương pháp phổ khối

Khối phổ kế là Thermo Scientific Orbitrap-Elite. Đối với phép đo các mẫu được đánh dấu đơteri, khối phổ kế được thiết lập để thu một dữ liệu MS quét đầy đủ trong orbitrap ở độ phân giải 120.000, số đếm ion đích 1E6, thời gian tiêm ion tối đa là 500

mili giây và hai lần vi quét. Để thu dữ liệu MS/MS đối với các lần nhận biết peptit, khối phổ kế được thiết lập để thu một phổ quét đầy đủ ở độ phân giải 120.000 tiếp theo mười phổ MS/MS phụ thuộc dữ liệu trong bẫy ion.

Hệ thống sắc ký lỏng là Waters nanoAcquity đối với gradien cột phân tích và bơm đẳng dòng Waters 515 để cắt và nạp mẫu. Để cắt và nạp mẫu, dung dịch đệm được sử dụng là 2% axetonitril và 0,05% axit trifloaxetic ở lưu lượng bằng 80 μ l/phút. Đối với gradien phân tích, các dung dịch đệm là Dung dịch đệm A) 0,1% axit formic trong nước và Dung dịch đệm B) 0,1% axit formic trong axetonitril.

Gradien là ở 40 μ l/phút từ 2% B đến 36% B trong thời gian 10 phút, sau đó rửa bằng 80% B trong thời gian 2 phút và làm cân bằng lại ở 2% B trong thời gian 3 phút. Cột sau đó được rửa bằng cách tuần hoàn gradien giữa 2% và 80% B, ba lần với 1 phút mỗi bước, sau đó là bước làm cân bằng cuối cùng ở 2% B trong thời gian 5 phút. Cột bẫy là Cột Guard Waters Vanguard CSH C18 1,7 μ m và cột phân tích là cột Waters CSH C18, 1,7 μ m 1x50mm.

Việc xử lý mẫu để đánh dấu đoteri được tiến hành bằng hệ thống Leaptac H/D-X PAL. Ngăn mẫu đánh dấu được thiết lập đến nhiệt độ bằng 25°C, ngăn dập tắt được thiết lập đến nhiệt độ 1,5°C và khoang cột bẫy và cột phân tích được thiết đặt đến nhiệt độ 1,5°C. Cột pepsin được giữ cố định (Enzymate BEH Pepsin, Waters corporation) được giữ bên ngoài khoang cột ở nhiệt độ trong phòng.

Đánh dấu đoteri

hTIGIT-His (63 pmol/ μ l) được trộn với một thể tích tương đương của kháng thể (32 pmol/ μ l) hoặc, trong đối chứng không được gắn kết, PBS pH=7,6. Các mẫu được liên kết kháng thể và đối chứng không được liên kết được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ trước khi bắt đầu thử nghiệm đánh dấu.

Để đánh dấu các mẫu đoteri, 2 μ l mẫu được trộn với 25 μ l PBS trong đoteri oxit ở độ pH=7,6. Các thời điểm đánh dấu là 30, 300, 1500, 4500, 9000 và 13500 giây. Sau thời gian thiết lập này, 25 μ l hỗn hợp đánh dấu được bổ sung vào 35 μ l dung dịch đệm dập tắt lạnh (8M Ure, 100mM TCEP). Mẫu đã dập tắt được ủ ở nhiệt độ 1,5°C trong thời gian một phút. 55 μ l sau đó được tiêm vào buồng làm lạnh cột trong đó mẫu này được chuyển qua cột pepsin và peptit tạo thành được nạp lên trên cột bẫy. Sau thời gian ba phút, bộ ngắt van đưa cột pepsin ra khỏi dòng và bẫy được rửa thêm một phút nữa.

Bấy sau đó được bật đồng thời với cột phân tích và gradien phân tích và bắt đầu thu dữ liệu phổ khối. Mỗi thời điểm được thu ba lần theo thứ tự ngẫu nhiên.

Mẫu được đoteri hóa hoàn toàn được tạo ra bằng cách ủ 2 μ l hTIGIT (63 pmol/ μ l) với 108 μ l dung dịch đệm biến tính được đoteri hóa (4M Ure, 100mM TCEP, 0,01% DDM trong 99,5% đoteri oxit). Mẫu này được ủ ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. 55 μ l sau đó được tiêm trực tiếp vào khoang của cột và dữ liệu được thu như trước đó.

Phân tích dữ liệu

Dữ liệu LC-MS/MS được thu của mẫu không được đánh dấu và dữ liệu được tìm kiếm để kiểm tra sự cắt thành công các protein và tạo ra một loạt (danh sách) các peptit từ sự cắt bằng pepsin. Việc nghiên cứu dữ liệu được thực hiện bằng cách sử dụng Proteome Discoverer 1.4 và thuật toán tìm kiếm SEQUEST HT (ThermoFisher Scientific). Dữ liệu protein được sử dụng là các trình tự kháng thể TIGIT-His ở người và kháng thể kháng hTIGIT được kết hợp với dữ liệu Uniprot của nấm men *Saccharomyces cerevisiae* (5/20/13).

Dữ liệu MS từ thử nghiệm đánh dấu đoteri được xử lý bằng HDEaminer (phiên bản 1.3, Sierra Analytics). Thời gian tập hợp và lưu giữ được lựa chọn bằng phần mềm cho mỗi peptit được kiểm tra một cách thủ công.

Các kết quả

Peptit TIGIT ở người được bảo vệ bằng kháng thể 31C6 được liên kết được minh họa trong bản đồ nhiệt của Fig. 15 và tương ứng với các gốc axit amin 53-57, 60-65, 68-70, 72-81, 94-95, 109-119 của SEQ ID NO:31. (Các axit amin giống nhau này được thể hiện dưới dạng các gốc 29-33, 36-41, 44-46, 48-57, 70-71, 85-95 của SEQ ID NO:87.)

Ví dụ 11

Thử nghiệm hoạt tính của tế bào T *in vitro* đối với các kháng thể kháng hTIGIT được nhân hóa

Chúng tôi đã phân tích thêm hoạt tính của các biến thể được nhân hóa khác nhau của một kháng thể trong số các kháng thể theo sáng chế (31C6). Trong một thử nghiệm, chúng tôi mô tả kết quả chức năng của sự phong bế thụ thể TIGIT ở người sử dụng các tế bào hTIGIT-Jurkat. Trong thử nghiệm này hTIGIT-Jurkat được nuôi cấy đồng thời với các tế bào JY được thao tác di truyền để biểu hiện CD155 ở người (hCD155-JY). Dòng tế bào JY được sử dụng là dòng nguyên bào lympho B được làm bất tử bằng virus

Epstein-Barr (EBV). Như trong thử nghiệm được mô tả ở trên trong Ví dụ 3, khi các tế bào hTIGIT Jurkat được kích thích bằng đĩa được liên kết α -CD3 và được nuôi cấy đồng thời bằng các tế bào JY gốc (không biểu hiện CD155 ở người), chúng tạo ra IL-2. Tuy nhiên, khi hTIGIT-Jurkat được nuôi cấy đồng thời bằng hCD155-JY, các mức IL-2 bị giảm theo cách thức phụ thuộc phối tử. Việc điều trị bằng các kháng thể kháng hTIGIT giải cứu sự sản sinh IL-2 trong thử nghiệm này theo kiểu phụ thuộc liều.

Trong thử nghiệm này, các đĩa đáy phẳng 96-lỗ được phủ kháng thể chuột nhất kháng CD3 ở người ($1\mu\text{g/ml}$ trong PBS; Dòng vô tính HIT3a; BD Pharmingen Cat# 555336) qua đêm ở nhiệt độ 4°C . Ngày tiếp theo, các tế bào Jurkat biểu hiện hTIGIT (50000) được dàn trên các đĩa được phủ trước và được ủ trước trong thời gian từ 30 đến 60 phút bằng mAb ở nồng độ thay đổi. Các tế bào JY biểu hiện CD155 ở người (50000) được bổ sung vào môi trường nuôi cấy. Sau khi ủ trong thời gian từ 18 đến 24 giờ ở nhiệt độ 37°C và $5,0\%$ CO_2 , các mức IL-2 được đánh giá trong phần dịch nổi của môi trường nuôi cấy bằng mesoscale (Kit MESO nuôi cấy mô IL-2 ở người: Cat#K151AHB-2). Các kết quả được thể hiện trên Fig. 16. Hiệu giá của dòng vô tính 31C6 kháng hTIGIT gốc ở chuột nhất (MEB125.31C6.A1.205 mIgG1) từ $30\mu\text{g/ml}$ xuống đến $0,04\mu\text{g/ml}$ tạo ra EC_{50} bằng $0,730\mu\text{g/ml}$, và hiệu giá tương tự của thể khảm 31C6 ở người và chuột nhất (MEB125.31C6.A1.205 IgG1 thể khảm ở người và chuột nhất) tạo ra EC_{50} bằng $0,910\mu\text{g/ml}$. (Thể khảm 31C6 ở người và chuột nhất này bao gồm vùng biến đổi của dòng vô tính 31C6 gốc (SEQ ID NO: 94 và 95) và vùng IgG1 ở người). Tương tự, hiệu giá của biến thể được nhân hóa 31C6 từ $30\mu\text{g/ml}$ xuống đến $0,04\mu\text{g/ml}$ tạo ra các EC_{50} sau đây:

BIẾN THỂ ĐƯỢC NHÂN HÓA	EC_{50}
MEB125.31C6.A1.205 VH4/VL1 (Kháng thể bao gồm VH có SEQ ID NO: 127 và VL có SEQ ID NO:130, và vùng Fc IgG1 ở người)	$0,620\mu\text{g/ml}$
MEB125.31C6.A1.205 VH5/VL4 (Kháng thể bao gồm VH có SEQ ID NO: 128 và VL có SEQ ID NO:133, và vùng Fc IgG1 ở người)	$1,2\mu\text{g/ml}$
MEB125.31C6.A1.205 VH5/VL3	$1,2\mu\text{g/ml}$

(Kháng thể bao gồm VH có SEQ ID NO: 128 và VL có SEQ ID NO:132, và vùng Fc IgG1 ở người)	
--	--

Chúng tôi cũng sử dụng thử nghiệm dựa trên tế bào sơ cấp để chứng minh rằng các kháng thể kháng hTIGIT được nhân hóa có hoạt tính trong các tế bào sơ cấp. Các lô tế bào đơn nhân máu ngoại vi ở người (PBMC) khác nhau được sàng lọc đối với sự biểu hiện TIGIT sau khi kích thích (sự kích thích phản ứng lympho bào hỗn hợp và sự kích thích α -CD3). Các PBMC sau đó được lựa chọn cho các thử nghiệm dựa trên tế bào sơ cấp trên cơ sở sự biểu hiện TIGIT của chúng sau khi kích thích. HuCD155-Fc được phủ lên trên các đĩa nuôi cấy mô và PBMC được kích thích bằng kháng thể kháng CD3.

Trong thử nghiệm này, các đĩa kết dính cao 96 lỗ (Corning 3361) được phủ CD155 ở người-Fc (được tạo ra nội bộ, 1 μ g/ml trong PBS) qua đêm ở nhiệt độ 4°C. Ngày tiếp theo, 50000 PBMC của người (Precision Bioservice Cat#83000C-1.0, lot#12920 trong RPMI+10% huyết thanh người Bio-world cat#30611043-1, lot#V15022401, RBC được loại bỏ bằng BD Pharmlyse BD cat#555899) được dàn trên các đĩa được phủ trước và được ủ trước trong thời gian từ 30 đến 60 phút bằng mAb kháng TIGIT ở các nồng độ khác nhau. Kháng thể kháng CD3 (eBioscience 16-0037-85) ở nồng độ cuối 1 μ g/ml sau đó được bổ sung vào. Sau khi ủ trong thời gian 48 giờ ở nhiệt độ 37°C và 5,0% CO₂, các cytokin tiền viêm (IFN γ , IL1 β , IL6 và TNF α) được đánh giá trong các phần dịch nuôi cấy tế bào bằng thử nghiệm mesoscale (Kit MESO nuôi cấy mô tiền viêm-4 I ở người: Cat#K15009B-4). Như được thể hiện trên Fig. 17, biến thể được nhân hóa của 31C6 có khả năng kích thích IL-6, TNF α và IFN γ theo cách phụ thuộc liều tương tự với kháng thể thể khảm 31C6 ở người và chuột nhắt.

Các phần đánh dấu trên Fig. 17 tương ứng với các kháng thể sau đây:

- MEB125.31C6.A1.205 IgG1 thể khảm chuột nhắt-người tương ứng với kháng thể bao gồm vùng biến đổi của dòng vô tính 31C6 gốc (SEQ ID NO: 94 và 95) và vùng IgG1 ở người.)
- MEB125.31C6.A1.205 VH4/VL1 tương ứng với kháng thể bao gồm VH có SEQ ID NO: 127 và VL có SEQ ID NO:130, và vùng Fc IgG1 ở người)
- MEB125.31C6.A1.205 VH5/VL4 tương ứng với kháng thể bao gồm VH có SEQ ID NO: 128 và VL có SEQ ID NO:133, và vùng Fc IgG1 ở người)

- MEB125.31C6.A1.205 VH5/VL3 tương ứng với kháng thể bao gồm VH có SEQ ID NO: 128 và VL có SEQ ID NO:133, và vùng Fc IgG1 ở người)

Tất cả các tài liệu tham khảo được trích dẫn ở đây được nêu bằng cách viện dẫn ở mức độ nhất định không chỉ là mỗi công bố riêng lẻ, dữ liệu nhập vào (ví dụ trình tự ngân hàng gen hoặc nhập số hiệu gen), đơn sáng chế, hoặc Patent, được chỉ ra một cách cụ thể và riêng rẽ được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Cách diễn đạt được đưa vào đây bằng cách viện dẫn được dùng bởi các chủ đơn, theo 37 C.F.R. §1.57(b)(1), đề cập đến mỗi và từng công bố riêng lẻ, dữ liệu nhập vào (ví dụ trình tự ngân hàng gen hoặc sự nhập số hiệu gen), đơn sáng chế, hoặc Patent, mỗi tài liệu được nhận biết một cách rõ ràng phù hợp với 37 C.F.R. §1.57(b)(2), dù là mỗi tài liệu trích dẫn không được đi kèm theo câu diễn đạt riêng về việc đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Việc bao gồm các câu diễn đạt riêng về việc đưa vào đây bằng cách viện dẫn, nếu có, trong bản mô tả này sẽ không làm ảnh hưởng đến câu diễn đạt chung về việc đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Việc trích dẫn các tài liệu tham khảo ở đây không được thừa nhận rằng tài liệu tham khảo này là tình trạng kỹ thuật thích hợp, nó cũng không cấu thành sự thừa nhận về các nội dung hoặc ngày của các công bố hoặc tài liệu này.

Sáng chế không bị giới hạn ở phạm vi của các phương án cụ thể được mô tả ở đây. Thực vậy, các cải biến khác nhau theo sáng chế ngoài các cải biến được mô tả ở đây sẽ trở nên rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này từ phần mô tả nêu trên và các hình vẽ kèm theo. Các cải biến này được dự định là nằm trong phạm vi của các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Phần mô tả bằng văn bản nêu trên được xem là đủ để làm cho người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này thực hành được sáng chế. Các cải biến khác nhau của sáng chế ngoài các cải biến được thể hiện và được mô tả ở đây sẽ trở nên rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này từ phần mô tả nêu trên và nằm trong phạm vi của yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Bảng 4: Thông tin trình tự

Mô tả	SEQ ID NO:	TRÌNH TỰ
14A6 H - CDR1	1	SDYWG
14A6 H - CDR2	2	FITYSGSTSYNPSLKS
14A6 H - CDR3	3	MPSFITLASLSTWEGYFDF
14A6 L - CDR1	4	KASQSIHKNLA
14A6 L - CDR2	5	YANSLQT
14A6 L - CDR3	6	QQYYSGWT
VH gốc 14A6	7	EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGSSIASDYWGW IRKFPGNKMEWMGFITYSGSTSYNPSLKSRRISITRDT SKNQFFLQLHSVTDDTATYSCARMPSFITLASLST WEGYFDFWGPQTMVTVSS
VL gốc 14A6	8	DIQMTQSPSLLSASVGDRVTLNCKASQSIHKNLA WYQQKLGEAPKFLIYYANSLQTGIPSRFSGSGSGTDFTL TISGLQPEDVATYFCQQYYSGWTFGGGGTKVELK
Hu14A6VH.1	9	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYWGW IRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRRVTISRDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFITLASLSTW EGYFDFWGQGTMTVTVSS
Hu14A6VH.1a	10	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYWGW IRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRRVTISRDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFITLASLSTW EGYFDFWGQGTMTVTVSS
Hu14A6VH.1b	11	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYWGW IRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRRITISRDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFITLASLSTW EGYFDFWGQGTMTVTVSS
Hu14A6VH.1c	12	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYWGW IRQPPGKGLEWMGFITYSGSTSYNPSLKSRRITISRDT SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFITLASLSTW EGYFDFWGQGTMTVTVSS
Hu14A6VH.1d	13	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYWGW IRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRRVTISRDT

		KNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARM <u>PSFITLASLSTW</u> <u>EGYFDFWGQGTMTVSS</u>
Hu14A6VH.1e	14	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYWGWI IRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRTISRDTSK KNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARM <u>PSFITLASLSTW</u> <u>EGYFDFWGQGTMTVSS</u>
Hu14A6VH.1f	15	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYWGWI RQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRTISRDTSK KNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARM <u>PSFITLASLSTW</u> <u>EGYFDFWGQGTMTVSS</u>
Hu14A6VH.1g	16	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSDYWGWI RQPPGKGLEWMGFITYSGSTSYNPSLKSRTISVDTS KNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARM <u>PSFITLASLSTW</u> <u>EGYFDFWGQGTMTVSS</u>
Hu14A6VH.2	17	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSDYWGWI IRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARM <u>PSFITLASLSTW</u> <u>EGYFDFWGQGTMTVSS</u>
Hu14A6VH.2a	18	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSDYWGWI IRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRTISRDTSK KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARM <u>PSFITLASLSTW</u> <u>EGYFDFWGQGTMTVSS</u>
Hu14A6VH.2b	19	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSDYWGWI IRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRTISRDTSK KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARM <u>PSFITLASLSTW</u> <u>EGYFDFWGQGTMTVSS</u>
Hu14A6VH.2c	20	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGGSISSDYWGWI RQPPGKGLEWMGFITYSGSTSYNPSLKSRTISRDTSK KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARM <u>PSFITLASLSTW</u> <u>EGYFDFWGQGTMTVSS</u>
Hu14A6VH.2d	21	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSDYWGWI IRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRTISRDTSK KNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARM <u>PSFITLASLSTW</u> <u>EGYFDFWGQGTMTVSS</u>
Hu14A6VH.2e	22	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSDYWGWI IRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRTISRDTSK

		<u>NQFSLKLHSVTAADTAVYYCARMPSFITLASLSTWE</u> <u>GYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
Hu14A6VH.2f	23	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGSSISSDYWGWI RQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRTISRDTSK <u>NQFSLKLHSVTAADTAVYYCARMPSFITLASLSTWE</u> <u>GYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
Hu14A6VH.2e	24	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGSSISSDYWGWI RQPPGKGLEWMGFITYSGSTSYNPSLKSRTISRDTSK <u>KNQFSLKLHSVTAADTAVYYCARMPSFITLASLSTW</u> <u>EGYFDFWGQGTMTVTVSS</u>
Hu14A6Vk.1	25	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLAWY QQKPGKAPKLLIYYANSLQTGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQYYSGWTFGGGTKVEIK
Hu14A6Vk.1a	26	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLAWY QQKPGKAPKFLIYYANSLQTGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQYYSGWTFGGGTKVEIK
Hu14A6Vk.1b	27	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLAWY QQKPGKAPKFLIYYANSLQTGIPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYYSGWTFGGGTKVEIK
Hu14A6Vk.2	28	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLAWY QQKPGKVPKLLIYYANSLQTGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDVATYYCQQYYSGWTFGGGTKVEIK
Hu14A6Vk.2a	29	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLAWY QQKPGKVPKFLIYYANSLQTGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDVATYYCQQYYSGWTFGGGTKVEIK
Hu14A6Vk.2b	30	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLAWY QQKPGKVPKFLIYYANSLQTGIPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDVATYYCQQYYSGWTFGGGTKVEIK
TIGIT ở người	31	mrwclliwa qglrqaplas gmmgtgiett gnisaekggs iilqchlsst taqv tg ynwe qdqql ai en adlgw his ps fkdrrvapgp lgltlqsltv ndtgeyfcy htydpdgytg riflevless vaehgarfq pllgamaatl vvictavivv valtrkkkal rihsvegdlr rksagqeevs psapsppgsc vqaeaapagl cgeqrgecdca elhdyfnvls yrslgncsff tetg
TIGIT ở khi rhesus/Cyno	32	mrwclfliwa qglrqaplas gmmgtgiett gnisakkggs vilqchlsst maqvtqynwe qhdhslair naelgwhiyp afkdrrvapgp glgltlqslt mndtgeyfet yhtypdgytr griflevles svaehsarfq ipllgamamm

		lvviciaviv vvvlarckks lrihsvesgl qrkstgqeeq ipsapsppgs cvqaeaapag lcgeqqgddc aelhdyfnvl syrslgscsf ftetg
Pembrolizumab chuỗi nặng	33	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYM YWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTNFKNEKFKNRV TLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRF DMGFDYWGGQTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSN TKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
Pembrolizumab chuỗi nhẹ	34	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYL HWYQQKPGQAPRLLIYLA SYLESGVPARFSGSGSGT DFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C
Nivolumab chuỗi nặng	35	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMH WVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKRYYADSVKGRFT ISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWG QGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVES KYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLGLGK
Nivolumab Chuỗi nhẹ	36	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
16AHA_tigit_14 a6_ĐƯỢC NHÂN HÓA_VH1	37	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSIASDYWGW IRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKS RV TISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFITLASLSTW EGYFDFWGGQGTMTVTSSAS

LB155.14A6.G2. A8_VH1		
18AHA_tigit_14 a6_ĐUỖC NHÂN HÓA_VH2 LB155.14A6.G2. A8_VH2	38	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYWG IRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRVTISRDT KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFITLASLSTW EGYFDFWGQGTMTVTVSS
20AHA_tigit_14 a6_ĐUỖC NHÂN HÓA_VH3 LB155.14A6.G2. A8_VH3	39	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYWG IRKPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRVTISRDT KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFITLASLSTW EGYFDFWGQGTMTVTVSS
21AHA_tigit_14 a6_ĐUỖC NHÂN HÓA_VH4 LB155.14A6.G2. A8_VH4	40	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYWG IRQPPGKLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRVTISRDT KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFITLASLSTW EGYFDFWGQGTMTVTVSS
19AHA_tigit_14 a6_ĐUỖC NHÂN HÓA_VH5 LB155.14A6.G2. A8_VH5	41	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYWG IRQPPGKGM EWIGFITYSGSTSYNPSLKSRVTISRDT KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFITLASLSTW EGYFDFWGQGTMTVTVSS
22AHA_tigit_14 a6_ĐUỖC NHÂN HÓA_VH6 LB155.14A6.G2. A8_VH6	42	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYWG IRKPPGKKMEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRVTISRDT KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFITLASLSTW EGYFDFWGQGTMTVTVSS
23AHA_tigit_14 a6_ĐUỖC	43	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSIADYWG IRQPPGKGLEWIGFITYSGSTSYNPSLKSRVTISRDT

NHÂN HÓA_VH7 LB155.14A6.G2. A8_VH7		KNQFSLKLSSVTADDTAVYYCARMPSFITLASLSTW <u>EGYFDFWGQGTMTVSS</u>
24AHA_tigit_14 a6_ĐƯỢC NHÂN HÓA_VH8 LB155.14A6.G2. A8_VH8	44	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGSSI ^{ASDY} WGW IRKPPGKKMEWIGFITYSGSTS ^{YNPSL} KSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFITLASLSTW <u>EGYFDFWGQGTMTVSS</u>
25AHA_tigit_14 a6_ĐƯỢC NHÂN HÓA_VH9 LB155.14A6.G2. A8_VH9	45	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCSVTGSSI ^{ASDY} WGW IRQPPGKGLEWIGFITYSGSTS ^{YNPSL} KSRVTISRDT KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFITLASLSTW <u>EGYFDFWGQGTMTVSS</u>
26AHA_tigit_14 a6_ĐƯỢC NHÂN HÓA_VH10 LB155.14A6.G2. A8_VH10	46	EVQLQQSGAGLLKPSETLSLTCSVTGSSI ^{ASDY} WGW IRQPPGKGLEWIGFITYSGSTS ^{YNPSL} KSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFITLASLSTW <u>EGYFDFWGQGTMTVSS</u>
27AHA_tigit_14 a6_ĐƯỢC NHÂN HÓA_VH11 LB155.14A6.G2. A8_VH11	47	EVQLQESGPGLVKPPGTL ^{SLTCSVTGSSI} ASDYWGW VRQPPGKGLEWIGFITYSGSTS ^{YNPSL} KSRVTISVD SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMPSFITLASLST <u>WEGYFDFWGQGTMTVSS</u>
09AHA_tigit_14 a6_ĐƯỢC NHÂN HÓA_VL1 LB155.14A6.G2. A8_VL1	48	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLAWY QQKPGKAPKLLIYYANSLQ ^{TGVPSR} FGSGSGTDF LTISSLQPEDFATYYCQ ^{QYYSGW} TFGGGTKVEIK

11AHA_tigit_14 a6_ĐUỖC NHÂN HÓA_VL2 LB155.14A6.G2. A8_VL2	49	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLAWY QQKPGKAPKFLIYYANSLQTGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQYYSGWTFGGGTKVEIK
12AHA_tigit_14 a6_ĐUỖC NHÂN HÓA_VL3 LB155.14A6.G2. A8_VL3	50	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLAWY QQKPGKAPKLLIYYANSLQTGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYFCQQYYSGWTFGGGTKVEIK
13AHA_tigit_14 a6_ĐUỖC NHÂN HÓA_VL4 LB155.14A6.G2. A8_VL4	51	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLAWY QQKPGKAPKFLIYYANSLQTGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYFCQQYYSGWTFGGGTKVEIK
15AHA_tigit_14 a6_ĐUỖC NHÂN HÓA_VL5 LB155.14A6.G2. A8_VL5	52	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLAWY QQKPGKAPKLLIYYANSLQTGIPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQYYSGWTFGGGTKVEIK
Trình tự dẫn đầu chuỗi nặng	53	MEWSWVFLFFLSVTTGVHS
Trình tự dẫn đầu chuỗi nhẹ	54	MSVPTQVLGLLLLWLT DARC
Miền hằng định chuỗi nặng– IgG4 S228P	55	TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCP APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR VVSFLTTLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SLGK

Miền hằng định chuỗi nhẹ kapa	56	VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
28H5 H - CDR1	57	GYSITSDYAWN
28H5 H - CDR2	58	YISNSGSASYNPSLKS
28H5 H - CDR3	59	LIYYDYGGAMNF
28H5 L - CDR1	60	KASQGVSTTVA
28H5 L - CDR2	61	SASYRYT
28H5 L - CDR3	62	QHYYSTPWT
28H5 VH GỐC	63	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWN WIRQFPGNKLEWMGYISNSGSASYNPSLKS SRISITRD TSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCATLIYYDYGGAM NFWGQGTSTVTSS
28H5 VL GỐC	64	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQGVSTTVAW YQQKPGQSPKLLIYSASYRYTGVPDRFTGSGSGTDF TFTISSVQSEDLAVYYCQHYYSTPWTFGGGTKLEIK
14H6 L – CDR2 BIẾN THỂ	65	YASNLQT
14H6 L – CDR2 BIẾN THỂ	65	YASSLQT
14H6 L – CDR2 BIẾN THỂ	67	YASTLQT
14H6 L – CDR2 BIẾN THỂ	68	YATTLQT
14H6 L – CDR2 BIẾN THỂ	69	YASYLQT
14H6 L – CDR2 BIẾN THỂ	70	YANQLQT
14H6 L – CDR2 BIẾN THỂ	71	YAGSLQT
14H6 L – CDR2 BIẾN THỂ	72	YASQLQT
14H6 L – CDR2 BIẾN THỂ	73	YADSLQT
14H6 L – CDR3 BIẾN THỂ	74	QQYYSGFT
14H6 L – CDR3 BIẾN THỂ	75	QQYYSGYT
14H6 L – CDR3 BIẾN THỂ	76	QQYYSGIT
14H6 L – CDR3 BIẾN THỂ	77	QQYYSGVT

14H6 L – CDR3 BIẾN THỂ	78	QQYYSGLT
14H6 H – CDR3 BIẾN THỂ	79	MPSFITLASLSTFEGYFDF
14H6 H – CDR3 BIẾN THỂ	80	MPSFITLASLSTYEGYFDF
14H6 H – CDR3 BIẾN THỂ	81	MPSFITLASLSTIEGYFDF
14H6 H – CDR3 BIẾN THỂ	82	MPSFITLASLSTVEGYFDF
14H6 H – CDR3 BIẾN THỂ	83	MPSFITLASLSTLEGYFDF
Axit nucleic mã hóa 28H5 VH GỐC	84	GATGTGCAGCTTCAGGAGTCGGGACCTGGCCTGG TGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTCACCTGCACT GTCAGTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTG GAACTGGATCCGACAGTTTCCAGGAAACAACTG GAGTGGATGGGCTACATAAGCAACAGTGGTAGCG CTAGCTACAACCCATCTCTCAAAAGTCGCATCTCT ATCACTCGAGACACATCCAAGAACCAGTTCTTCC TGCAGTTGAATTCTGTGACTACTGAGGACACAGC CACATATTACTGTGCAACCCTGATCTACTATGATT ACGGGGGGGGCTATGAACTTCTGGGGTCAAGGAAC CTCAGTCACCGTCTCCTCA
Axit nucleic mã hóa 28H5 VL GỐC	85	GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTC CACATCAGTAGGAGACAGGGTCAGCATCACCTGC AAGGCCAGTCAGGGTGTGAGTACTACTGTGGCCT GGTATCAACAGAAACCAGGACAATCTCCTAAACT ACTGATTTACTCGGCATCCTACCGGTACACTGGA GTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGA CGGATTTCACTTTACCATCAGCAGTGTGCAGTCT GAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAGCATTATTA TAGTACTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAG CTGGAAATCAAA
Miền hằng định chuỗi nặng– IgG1	86	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK
hTIGIT-HIS	87	gtiett gnisaekggs iilqchlsst taqvtqvnwe qdqllaicn adlgwhisps fkdrvapppg lgltlqsltv ndtgeyfcy htypdgytg riflevless vaehgarfqj pllga hhhhhhhhhgggq

31C6 H -CDR1	88	SYVMH
31C6 H -CDR2	89	YIDPYNDGAKYNEKFKG
31C6 H -CDR3	90	GGPYGWYFDV
31C6 L - CDR1	91	RASEHIYSYLS
31C6 L – CDR2	92	NAKTLAE
31C6 L – CDR3	93	QHHFGSPLT
31C6 VH gốc (với các CDR được gạch dưới)	94	EVQLQQSGPELVKPGSSVKMSCKASGYTFSS <u>SYVMH</u> WVKQKPGQGLEWIGYIDPYNDGAKYNEKFKGKAT LTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARG <u>GPYGW</u> <u>YFDVWGAGTTVT</u> VSS
31C6 PARENTAL VL (với các CDR được gạch dưới)	95	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASEHIYSYLSWYQ QKQKGKSPQLLVYNAKTLAEGVPSRFSGSGSGTQFSL KINSLQPEDFGTYYCQH <u>HFGSPLTF</u> GAGTTLELK
31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ (D56R)	96	YIDPYNrGAKYNEKFG
31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ (D56L)	97	YIDPYNiGAKYNEKG F
31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ (D56K)	98	YIDPYNkGAKYNEKFG
31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ (D56F)	99	YIDPYNfGAKYNEKFG
31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ (D56S)	100	YIDPYNsGAKYNEKFG
31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ (D56Y)	101	YIDPYNyGAKYNEKFG
31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ (D56V)	102	YIDPYNvGAKYNEKFG
31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ (G57R)	103	YIDPYNDrAKYNEKFKG

31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ (G57N)	104	YIDPYND _n AKYNEKFKG
31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ (G57Q)	105	YIDPYND _q AKYNEKFKG
31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ (G57E)	106	YIDPYND _e AKYNEKFKG
31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ (G57L)	107	YIDPYND _l AKYNEKFKG
31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ (G57K)	108	YIDPYND _k AKYNEKFKG
31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ (G57S)	109	YIDPYND _s AKYNEKFKG
31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ (G57Y)	110	YIDPYND _y AKYNEKFKG
31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ (G57V)	111	YIDPYND _v AKYNEKFKG
31C6 L – CDR2 BIẾN THỂ (N50A)	112	AAKTLAE
31C6 L – CDR2 BIẾN THỂ (N50Y)	113	YAKTLAE
31C6 L – CDR2 BIẾN THỂ (N50W)	114	WAKTLAE
31C6 L – CDR2 BIẾN THỂ (N50S)	115	SAKTLAE
31C6 L – CDR2 BIẾN THỂ (N50T)	116	TAKTLAE
31C6 L – CDR2 BIẾN THỂ (N50I)	117	IAKTLAE
31C6 L – CDR2 BIẾN THỂ (N50V)	118	VAKTLAE

31C6 L – CDR2 BIẾN THỂ (A51N)	119	NNKTLAE
31C6 L – CDR2 BIẾN THỂ (A51I)	120	NIKTLAE
31C6 L – CDR2 BIẾN THỂ (A51L)	121	NLLTLAE
31C6 L – CDR2 BIẾN THỂ (A51T)	122	NTKTLAE
31C6 L – CDR2 BIẾN THỂ (A51V)	123	NVKTLAE
31C6_HUMZ_V H1 (với các CDR được gạch dưới)	124	<u>EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSSYVMH</u> <u>WVRQAPGQRLIEWIGYIDPYNDGAKYSQKFQGRVT</u> <u>TRDTSASTAYMELSSLRSED</u> <u>AVYYCARGGPYGWY</u> <u>FDVWGQGTTVTVSS</u>
31C6_HUMZ_V H2 (với các CDR được gạch dưới)	125	<u>EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSSYVMH</u> <u>WVRQAPGQRLIEWIGYIDPYNDGAKYSQKFQGRVT</u> <u>TSDKSASTAYMELSSLRSED</u> <u>AVYYCARGGPYGWY</u> <u>FDVWGQGTTVTVSS</u>
31C6_HUMZ_V H3 (với các CDR được gạch dưới)	126	<u>EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSSYVMH</u> <u>WVRQAPGQGLEWIGYIDPYNDGAKY A Q K F Q G R V T</u> <u>LTRDTSTSTVYMELSSLRSED</u> <u>AVYYCARGGPYGW</u> <u>YFDVWGQGTTVTVSS</u>
31C6_HUMZ_V H4 (với các CDR được gạch dưới)	127	<u>EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSSYVMH</u> <u>WVRQAPGQGLEWIGYIDPYNDGAKY A Q K F Q G R V T</u> <u>LTSDKSTSTVYMELSSLRSED</u> <u>AVYYCARGGPYGW</u> <u>YFDVWGQGTTVTVSS</u>
31C6_HUMZ_V H5 (với các CDR được gạch dưới)	128	<u>EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYVMH</u> <u>WVRQAPGQGLEWIGYIDPYNDGAKY A Q K F Q G R V T</u> <u>LTSDKSTSTAYMELSSLRSED</u> <u>AVYYCARGGPYGW</u> <u>YFDVWGQGTTVTVSS</u>
31C6_HUMZ_V H6 (với các CDR được gạch dưới)	129	<u>EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSSYVMH</u> <u>WVRQAPGQGLEWIGYIDPYNDGAKY A Q K F Q G R V T</u> <u>LTSDKSISTAYMEL SRL R S D D T V V Y Y C A R G G P Y G W</u> <u>YFDVWGQGTTVTVSS</u>

31C6_Humz_L1 (với các CDR được gạch dưới)	130	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEHIYSYLSWYQ QKPGKAPKLLIYN <u>AKTLAEGVPSRFSGSGSGTDFTL</u> TISSLQPEDFATYYCQH <u>HFGSPLTFGQGTRLEIK</u>
31C6_Humz_L2 (với các CDR được gạch dưới)	131	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEHIYSYLSWYQ QKPGKAPKLLIYN <u>AKTLAEGVPSRFSGSGSGTQFTL</u> TISSLQPEDFATYYCQH <u>HFGSPLTFGQGTRLEIK</u>
31C6_Humz_L3 (với các CDR được gạch dưới)	132	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEHIYSYLSWYQ QKPGKVPKLLIYN <u>AKTLAEGVPSRFSGSGSGTDFTL</u> TISSLQPEDVATYYCQH <u>HFGSPLTFGQGTRLEIK</u>
31C6_Humz_L4 (với các CDR được gạch dưới)	133	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEHIYSYLSWYQ QKPGKVPKLLIYN <u>AKTLAEGVPSRFSGSGSGTQFTL</u> TISSLQPEDVATYYCQH <u>HFGSPLTFGQGTRLEIK</u>
31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ	134	YIDPYNDGAKYAQKFQG
31C6 H – CDR2 BIẾN THỂ	135	YIDPYNDGAKYSQKFQG
18G10 – VH trình tự	136	QVQLMESGPGLVQPSQTLSTCTVSGFPLTSYTVHW VRQPPGKGLEWIGAIWSSGSTDYNSALKSRNLNIRD SSKSQVFLKMNSLQTEDTAIFYCTKSGWAFFDYWG QGVMTVSS
18G10 – VL trình tự	137	DIQMTQSPSLLSASVGDRVTNLNCIASQNIYKSLAWY QLKLGEAPKLLIYNANSLQAGIPSRFSGSGSGTDFAL TISGLQPEDVATYFCQQYSGGYTFGAGTKLELK
11A11 – VH trình tự	138	EVQLVESGGDLVQPGRSLKISCVASGFTFSDYYMA WVRLAPQKGLEWVASISYEGSRTHYGDSVRGRFIIS RDNPKNILYLQMNSLGSEDTATYFCARHTGTLDWL VYWGQGTLLIVSS
11A11 – VL trình tự	139	NIVMAQSPKSMSSISAGDRVTMNCKASQNVNINIAW YQQKPGQSPKLLIFYASNRYSGVPDRFTGGGYGTDF TLTIKSVQAEDAAFYCYCQRIYNFPTFGSGTKLEIK
14A6 H - CDR3 TRÌNH TỰ LIÊN ỨNG	140	MPSFITLASLSTXEGYFDF X= W, F, Y, I, V, L
14A6 L - CDR2 TRÌNH TỰ LIÊN ỨNG	141	YAX ₁ X ₂ LQT X ₁ = N, S, T, G, D X ₂ = S, N, S, T, Y, Q
14A6 L - CDR3 TRÌNH TỰ LIÊN ỨNG	142	QQYYSGXT X= W, F, Y, I, V, L
14A6 VH TRÌNH TỰ LIÊN ỨNG GỐC	143	EVQLQX ₁ SGX ₂ GLX ₃ KPX ₄ X ₅ X ₆ LSLTCX ₇ VX ₈ GX ₃₀ SIX ₃ <u>1SDYWG</u> WX ₉ RX ₁₀ X ₁₁ PGX ₁₂ X ₁₃ X ₁₄ EWX ₁₅ <u>GFITYSGSTS</u> <u>YNPSLKSRX</u> ₁₆ X ₁₇ IX ₁₈ X ₁₉ DTSKNQFX ₂₀ LX ₂₁ LX ₂₂ SVTX <u>23X₂₄DTAX₂₅Y</u>

		X_{26}CAR<u>MPSFITLASLST</u>X_{27}<u>EGYFDFWG</u>X_{32}GTX$X_{28}$$X_{29}$T VSS X_1= E hoặc Q X_2= P hoặc A X_3= V hoặc L X_4= S hoặc P X_5= Q hoặc E hoặc G X_6= S hoặc T X_7= S hoặc T hoặc A X_8= T hoặc S X_9= I hoặc V X_{10}= K hoặc Q X_{11}= F hoặc P X_{12}= N hoặc K X_{13}= K hoặc G X_{14}= M hoặc L X_{15}= M hoặc I X_{16}= I hoặc V X_{17}= S hoặc T X_{18}= T hoặc S X_{19}= R hoặc V X_{20}= F hoặc S X_{21}= Q hoặc K X_{22}= H hoặc S X_{23}= T hoặc A X_{24}= D hoặc A X_{25}= T hoặc V X_{26}= S hoặc Y, X_{27}= W, F, Y, I, V hoặc L X_{28}= M, V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W hoặc Y X_{29}= V, T hoặc L X_{30}= S hoặc G hoặc Y X_{31}= A hoặc S X_{31}= P hoặc Q
14A6 VH TRÌNH TỰ LIÊN ỨNG ĐƯỢC NHÂN HÓA	144	EVQLQX$_1$SGX$_2$GLX$_3$KPX$_4$X$_5$TLSLTCX$_6$VX$_7$GX$_8$SIX$_9$S DYWGWX$_{10}$RX$_{11}$X$_{12}$PGKX$_{13}$X$_{14}$EWX$_{15}$GFITYSGSTSY NPSLKSRX$_{16}$TISX$_{17}$DTSKNQFSLKLX$_{18}$SVTAX$_{19}$DTA VYYCAR<u>MPSFITLASLST</u>X_{20}<u>EGYFDFWG</u>QGTGX$_{21}$X$_{22}$ TVSS X_1 = E hoặc Q X_2= P hoặc A X_3 = V hoặc L X_4 = S hoặc P X_5= E hoặc G

		$X_6 = T$ hoặc A hoặc S $X_7 = S$ hoặc T $X_8 = G$ hoặc S hoặc Y $X_9 = S$ hoặc A $X_{10} = I$ hoặc V $X_{11} = Q$ hoặc K $X_{12} = P$ hoặc F $X_{13} = G$ hoặc K $X_{14} = L$ hoặc M $X_{15} = I$ hoặc M $X_{16} = V$ hoặc I $X_{17} = V$ hoặc R $X_{18} = S$ hoặc H $X_{19} = A$ hoặc D $X_{20} = W, F, Y, I, V, L$ $X_{21} = M, V, L, A, R, N, P, Q, E, G, I, H, K, F, S, T, W$ hoặc Y $X_{22} = V, T$ hoặc L
14A6 VL TRÌNH TỰ LIÊN ỨNG GỐC	145	$DIQMTQSPSX_1LSASVGDRVTX_2X_3CKASQSIHKNLA$ $WYQQKX_4GX_5X_{15}PKX_6LIYYAX_7X_8LQTGX_9PSRFSGS$ $GSGTDFTLTISX_{10}LQPEDX_{11}ATYX_{12}CQQYYSGX_{13}TF$ $GGGTVEX_{14}K$ $X_1 = L$ hoặc S $X_2 = L$ hoặc I $X_3 = N$ hoặc T $X_4 = L$ hoặc P $X_5 = E$ hoặc K $X_6 = F$ hoặc L $X_7 = N, S, T, G$ hoặc D $X_8 = S, N, T, Y$ hoặc Q $X_9 = I$ hoặc V $X_{10} = G$ hoặc S $X_{11} = V$ hoặc F $X_{12} = F$ hoặc Y $X_{13} = W, F, Y, I, V$ hoặc L $X_{14} = L$ hoặc I $X_{15} = A$ hoặc V
14A6 VL TRÌNH TỰ LIÊN ỨNG ĐƯỢC NHÂN HÓA	146	$DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIHKNLA$ $WYQQKPGKX_6PKX_1LIYYAX_2X_3LQTGX_4PSRFSGSGSGT$ $DFTLTISLQPEDX_7ATYYCQQYYSGX_5TFGGGTVKVE$ IK $X_1 = L$ hoặc F $X_2 = N, S, T, G$ hoặc D $X_3 = S, N, T, Y$ hoặc Q $X_4 = V$ hoặc I

		$X_5 = W, F, Y, I, V$ hoặc L $X_6 = A$ hoặc V $X_7 = F$ hoặc V
31C6 H -CDR2 TRÌNH TỰ LIÊN ỨNG	147	YIDPYN X_1X_2 AKY X_3X_4 KFX X_5 G $X_1 = D, R, L, K, F, S, Y$ hoặc V $X_2 = G, R, N, Q, E, L, K, S, Y$ hoặc V $X_3 = N, A$ hoặc S $X_4 = E$ hoặc Q $X_5 = K$ hoặc Q
31C6 L – CDR2 TRÌNH TỰ LIÊN ỨNG	148	X_1X_2 KT LAE $X_1 = N, A, V, W, S, T, R, H, G, I$ hoặc V $X_2 = A, N, I, L, T$ hoặc V
31C6 VH TRÌNH TỰ LIÊN ỨNG GỐC	149	EVQLX X_1 QSGX X_2 EX X_3 X X_4 KPGX X_5 SVKX X_6 SCKASGYTFSSY <u>VMH</u> WVX X_7 QX X_8 PGQX X_9 LEWIGYIDPYN <u>XX_{10}XX_{11}AKYXX_{12}XX_{13}KFXX_{14}GXX_{15}XX_{16}TLTXX_{17}DXX_{18}SXX_{19}STXX_{20}</u> <u>YMEL</u> SX X_{21} LX X_{22} SX X_{23} DX X_{24} X X_{25} VYYCARGGPYGX X_{26} <u>YFD</u> <u>VWGXX_{27}GTTVT</u> VSS $X_1 = Q$ hoặc V $X_2 = P$ hoặc A $X_3 = V$ hoặc L $X_4 = V$ hoặc K $X_5 = S$ hoặc A $X_6 = M$ hoặc V $X_7 = K$ hoặc R $X_8 = K$ hoặc A $X_9 = G$ hoặc R $X_{10} = D, R, L, K, F, S, Y$ hoặc V $X_{11} = G, R, N, Q, E, L, K, S, Y$ hoặc V $X_{12} = N, A$ hoặc S $X_{13} = E$ hoặc Q $X_{14} = K$ hoặc Q $X_{15} = R$ hoặc K $X_{16} = A$ hoặc V $X_{17} = S$ hoặc R $X_{18} = K$ hoặc T $X_{19} = S, I, A$ hoặc T $X_{20} = A$ hoặc V $X_{21} = R$ hoặc S $X_{22} = T$ hoặc R $X_{23} = D$ hoặc E $X_{24} = S$ hoặc T $X_{25} = A$ hoặc V $X_{26} = W, A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V$ hoặc Y $X_{27} = A$ hoặc Q
31C6 VH	150	EVQLVQSGAEVKKPGX X_1 SVKVSCKASGYTFSSY <u>VM</u> <u>H</u> WVRQAPGQX X_2 LEWIG

TRÌNH TỰ LIÊN ỨNG ĐƯỢC NHÂN HÓA		<u>YIDPYNX₃X₄AKYX₅X₅KFX₇GRVTLTX₈DX₉SX₁₀STX₁</u> <u>1YMELSX₁₂LRSX₁₃DT</u> <u>X₁₄VYYCARGGPYGX₁₅YFDVWGQGTTVTVSS</u> X ₁ = A hoặc S X ₂ = R hoặc G X ₃ = D, R, L, K, F, S, Y hoặc V X ₄ = G, R, N, Q, E, L K, S, Y hoặc V X ₅ = N, A hoặc S X ₆ = E hoặc Q X ₇ = K hoặc Q X ₈ = R hoặc S X ₉ = T hoặc K X ₁₀ = A, T hoặc I X ₁₁ = A hoặc V X ₁₂ = S hoặc R X ₁₃ = E hoặc D X ₁₄ = A hoặc V X ₁₅ = W, A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V hoặc Y
31C6 VL TRÌNH TỰ LIÊN ỨNG GỐC	151	DIQMTQSPX ₁ SLSASVGX ₂ X ₃ VTITCRASEHIYSYLSW YQKKX ₄ GKX ₅ PX ₆ LLX ₇ YX ₈ X ₉ KTLAEGVPSRFSGSGS GTX ₁₀ FX ₁₁ LX ₁₂ IX ₁₃ SLQPEDX ₁₄ X ₁₅ TYYCQH HFGSPLT FGX ₁₆ GTX ₁₇ LEX ₁₈ K X ₁ = A hoặc S X ₂ = E hoặc D X ₃ = T hoặc R X ₄ = Q hoặc P X ₅ = S, A hoặc V X ₆ = Q hoặc K X ₇ = V hoặc I X ₈ = N, A, Y, W, S, T, I hoặc V X ₉ = A, N, I, L, T hoặc V X ₁₀ = Q hoặc D X ₁₁ = S hoặc T X ₁₂ = K hoặc T X ₁₃ = N hoặc S X ₁₄ = F hoặc V X ₁₅ = G hoặc A X ₁₆ = A hoặc Q X ₁₇ = T hoặc R X ₁₈ = L hoặc I
31C6 L – VL TRÌNH TỰ LIÊN ỨNG ĐƯỢC NHÂN HÓA	152	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEHIYSYLSWYQ QKPGKX ₁ PKLLIY <u>X₂X₃KTLAEGVPSRFSGSGSGTX₄FTLTISLQPEDX₅A</u> <u>TYYCQH HFGSPLTFGQGTRLEIK</u> X ₁ = A hoặc V X ₂ = N, A, W, W, S, T, I hoặc V

		$X_3 = A, N, I, L, T$ hoặc V $X_4 = D$ hoặc Q $X_5 = F$ hoặc V
31C6 H -CDR3 TRÌNH TỰ LIÊN ỨNG	153	GGPYGXYFDV $X_{15} = W, A, D, E, F, G, I, K, N, Q, R, S, T, V$ hoặc Y
31C6 H -CDR3 BIẾN THỂ	154	GGPYGAYFDV
31C6 H -CDR3 BIẾN THỂ	155	GGPYGDYFDV
31C6 H -CDR3 BIẾN THỂ	156	GGPYGEYFDV
31C6 H -CDR3 BIẾN THỂ	157	GGPYGFYFDV
31C6 H -CDR3 BIẾN THỂ	158	GGPYGGYFDV
31C6 H -CDR3 BIẾN THỂ	159	GGPYGIYFDV
31C6 H -CDR3 BIẾN THỂ	160	GGPYGKYFDV
31C6 H -CDR3 BIẾN THỂ	161	GGPYGNYFDV
31C6 H -CDR3	162	GGPYGQYFDV
BIẾN THỂ	163	GGPYGRYFDV
31C6 H -CDR3	164	GGPYGSYFDV
BIẾN THỂ	165	GGPYGTYFDV
31C6 H -CDR3	166	GGPYGVYFDV
BIẾN THỂ	167	GGPYGYFDV

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT thuần thực ở người, trong đó kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên này bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:88, CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:89, và CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:90, và trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:91, CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:92, và CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:93.
2. Kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT thuần thực ở người, trong đó kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:88, CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 134, và CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:90, và trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm CDR1 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:91, CDR2 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:92, và CDR3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:93.
3. Kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 2, trong đó kháng thể đơn dòng và mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm:
 - a. vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:128 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:132;
 - b. vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:127 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:130;
 - c. vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:128 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:133;
 - d. vùng biến đổi chuỗi nặng có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 97% so với trình tự SEQ ID NO:128 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có độ đồng nhất trình tự ít nhất là

97% so với trình tự SEQ ID NO: 132, trong đó các biến thể trình tự bất kỳ xuất hiện trong vùng khung của kháng thể;

e. vùng biến đổi chuỗi nặng có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 97% so với trình tự SEQ ID NO:127 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 97% so với trình tự SEQ ID NO: 130, trong đó các biến thể trình tự bất kỳ xuất hiện trong vùng khung của kháng thể; hoặc

f. vùng biến đổi chuỗi nặng có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 97% so với trình tự SEQ ID NO:128 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 97% so với trình tự SEQ ID NO: 133, trong đó các biến thể trình tự bất kỳ xuất hiện trong vùng khung của kháng thể.

4. Kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 1, trong đó kháng thể đơn dòng này hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT thuần thực ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ 1×10^{-9} M đến 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt.

5. Kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 1, là kháng thể đơn dòng bao gồm hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ.

6. Kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 1, là kháng thể đơn dòng, trong đó kháng thể đơn dòng này bao gồm miền hằng định của IgG1 ở người và miền hằng định kapa ở người.

7. Chế phẩm bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 1 và chất mang hoặc chất pha loãng được dụng.

8. Chế phẩm theo điểm 7, trong đó chế phẩm này còn bao gồm kháng thể đơn dòng kháng PD1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó.

9. Chế phẩm theo điểm 7, trong đó chế phẩm này còn bao gồm kháng thể đơn dòng kháng PD1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trong đó kháng thể đơn dòng kháng PD1 là nivolumab.

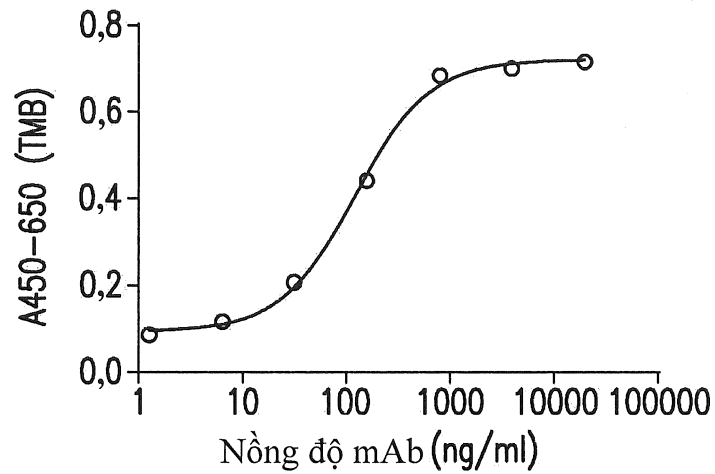
10. Chế phẩm theo điểm 7, trong đó chế phẩm này còn bao gồm kháng thể đơn dòng kháng PD1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trong đó kháng thể đơn dòng kháng PD1 là pembrolizumab.

11. Kháng thể đơn dòng liên kết với TIGIT thuần thực ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:128 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:132.
12. Kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 3, là kháng thể đơn dòng bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 97% so với trình tự SEQ ID NO:128 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 97% so với trình tự SEQ ID NO: 132, trong đó các biến thể trình tự bất kỳ xuất hiện trong vùng khung của kháng thể.
13. Kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 2, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT thuần thực ở người với trị số KD nằm trong khoảng từ 1×10^{-9} M đến 1×10^{-12} M như được xác định bởi cộng hưởng plasmon bề mặt.
14. Kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 2, là kháng thể đơn dòng bao gồm hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ.
15. Kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 2, là kháng thể đơn dòng, trong đó kháng thể đơn dòng này bao gồm miền hằng định của IgG1 ở người và miền hằng định kapa ở người.
16. Kháng thể đơn dòng theo điểm 15, trong đó miền hằng định của IgG1 ở người chứa trình tự SEQ ID NO: 86 và miền hằng định kapa ở người chứa trình tự SEQ ID NO: 56.
17. Kháng thể đơn dòng theo điểm 6, trong đó miền hằng định của IgG1 ở người chứa trình tự SEQ ID NO: 86 và miền hằng định kapa ở người chứa trình tự SEQ ID NO: 56.
18. Kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 1, là kháng thể đơn dòng, trong đó kháng thể đơn dòng chứa miền hằng định IgG4 ở người và miền hằng định kapa ở người.
19. Kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 2, là kháng thể đơn dòng, trong đó kháng thể đơn dòng chứa miền hằng định của IgG4 ở người và miền hằng định kapa ở người.

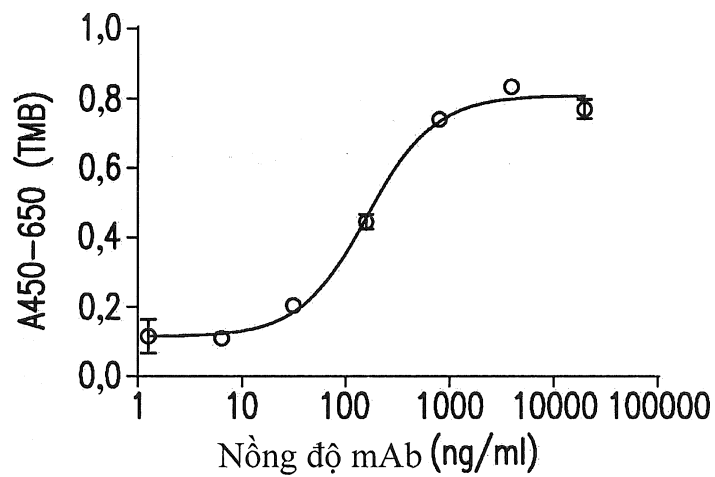
20. Kháng thể đơn dòng theo điểm 18, trong đó miền hằng định của IgG4 ở người chứa trình tự SEQ ID NO: 55 và miền hằng định kapa ở người chứa trình tự SEQ ID NO: 56.
21. Kháng thể đơn dòng theo điểm 19, trong đó miền hằng định của IgG4 ở người chứa trình tự SEQ ID NO: 55 và miền hằng định kapa ở người chứa trình tự SEQ ID NO: 56.
22. Chế phẩm bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 2 và chất mang hoặc chất pha loãng được dụng.
23. Chế phẩm theo điểm 22, trong đó chế phẩm này còn bao gồm kháng thể đơn dòng kháng PD1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó.
24. Chế phẩm theo điểm 22, trong đó chế phẩm này còn bao gồm kháng thể đơn dòng kháng PD1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trong đó kháng thể đơn dòng kháng PD1 là nivolumab.
25. Chế phẩm theo điểm 22, trong đó chế phẩm này còn bao gồm kháng thể đơn dòng kháng PD1 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trong đó kháng thể đơn dòng kháng PD1 là pembrolizumab.
26. Kháng thể đơn dòng bao gồm hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ, trong đó chuỗi nặng bao gồm (i) vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự SEQ ID NO: 128 và (ii) miền hằng định của IgG1 chứa trình tự SEQ ID NO: 86, và trong đó chuỗi nhẹ bao gồm (i) vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự SEQ ID NO: 132 và (ii) miền hằng định kapa ở người chứa trình tự SEQ ID NO: 56.
27. Kháng thể đơn dòng bao gồm hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ, trong đó chuỗi nặng bao gồm (i) vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự SEQ ID NO: 128 và (ii) miền hằng định của IgG4 chứa trình tự SEQ ID NO: 55, và trong đó chuỗi nhẹ bao gồm (i) vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự SEQ ID NO: 132 và (ii) miền hằng định kapa ở người chứa trình tự SEQ ID NO: 56.
28. Chế phẩm bao gồm (a) kháng thể đơn dòng bao gồm hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ, trong đó chuỗi nặng bao gồm (i) vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự SEQ ID NO: 128 và (ii) miền hằng định của IgG1 chứa trình tự SEQ ID NO: 86, và trong đó chuỗi nhẹ bao gồm (i) vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự SEQ ID NO: 132 và (ii) miền hằng định kapa ở người chứa trình tự SEQ ID NO: 56 và (b) pembrolizumab.

29. Chế phẩm bao gồm (a) kháng thể đơn dòng bao gồm hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ, trong đó chuỗi nặng bao gồm (i) vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự SEQ ID NO: 128 và (ii) miền hằng định của IgG4 chứa trình tự SEQ ID NO: 55, và trong đó chuỗi nhẹ bao gồm (i) vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự SEQ ID NO: 132 và (ii) miền hằng định kapa ở người chứa trình tự SEQ ID NO: 56 và (b) pembrolizumab.
30. Chế phẩm theo điểm 7, trong đó chế phẩm này còn chứa kháng thể đơn dòng kháng PDL-1.
31. Chế phẩm theo điểm 30, trong đó kháng thể đơn dòng kháng PDL-1 là MPDL3280A.
32. Kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 1, trong đó kháng thể đơn dòng và mảnh liên kết kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 94 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 95.

Liên kết với các tế bào TIGIT-CHO-K1 ở người



Liên kết với các tế bào TIGIT-CHO K1 ở khỉ rhesus



Liên kết với các tế bào CHO-K1 gốc

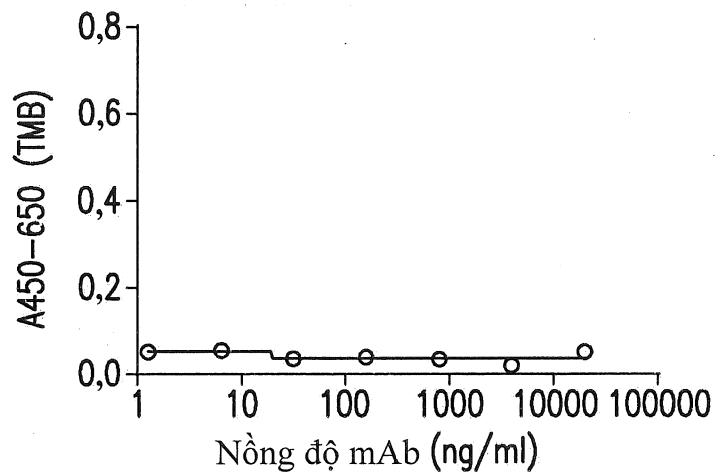


FIG.1

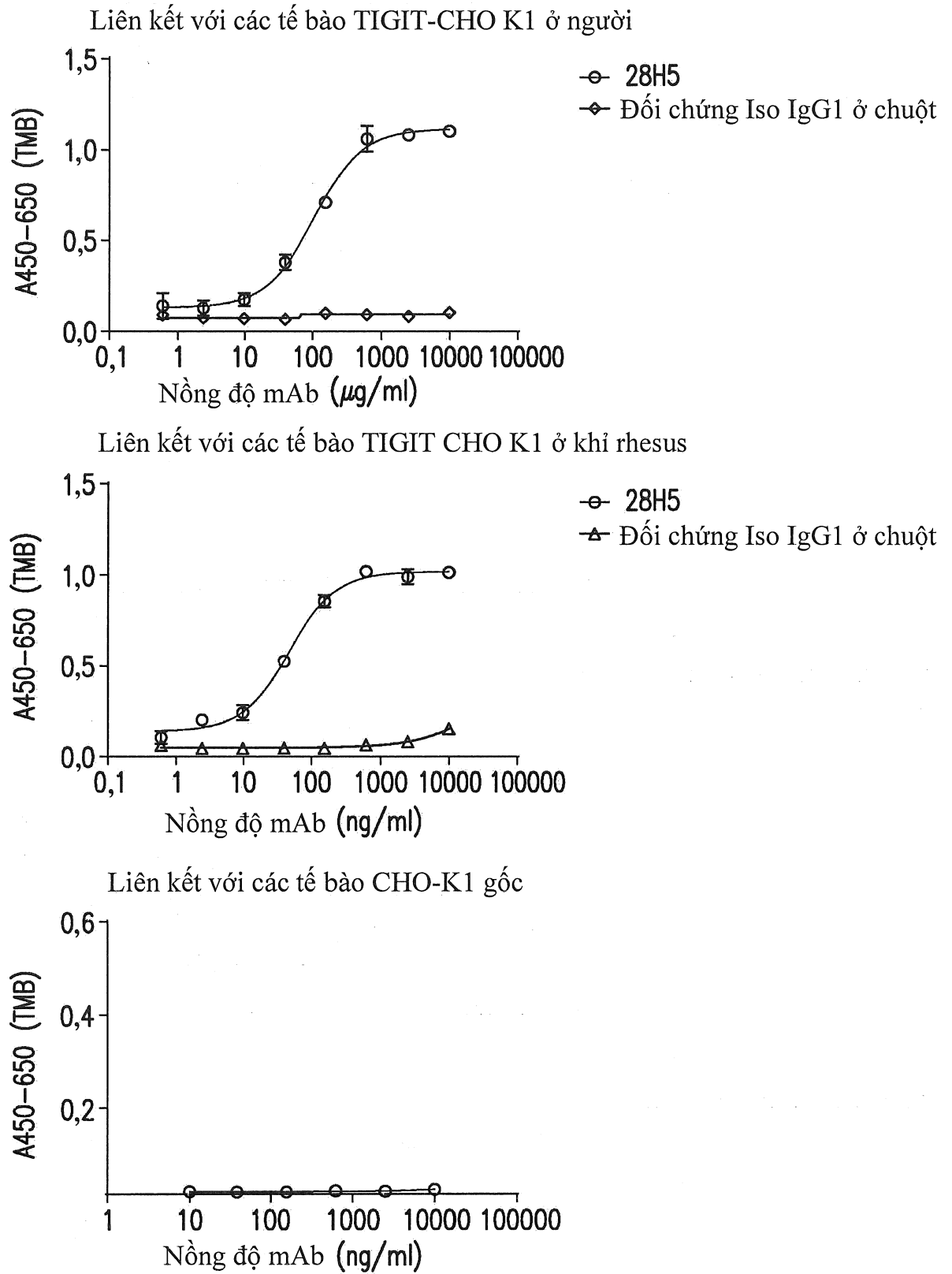
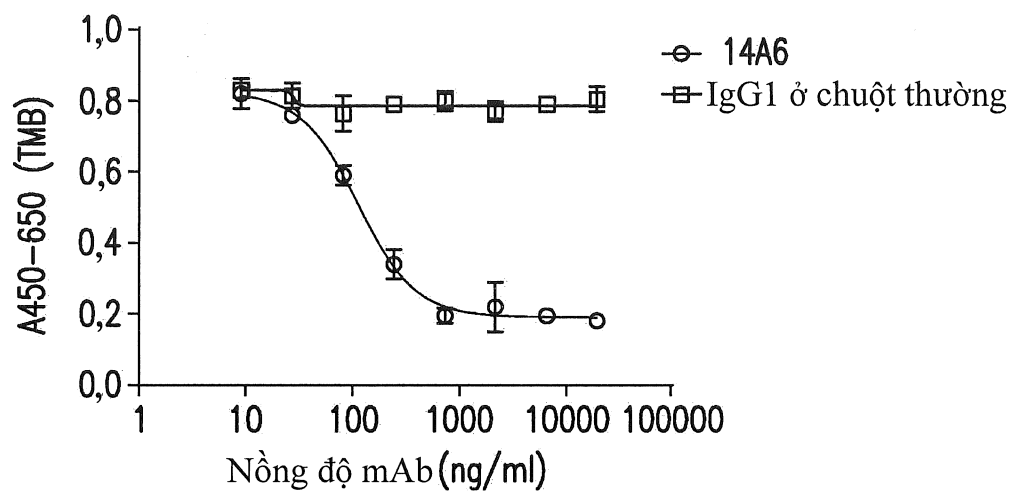


FIG.2

Phong bế liên kết của hCD155-hFc với TIGIT-CHO-K1 ở người



Phong bế liên kết của hCD155-hFc với các tế bào TIGIT CHO ở người

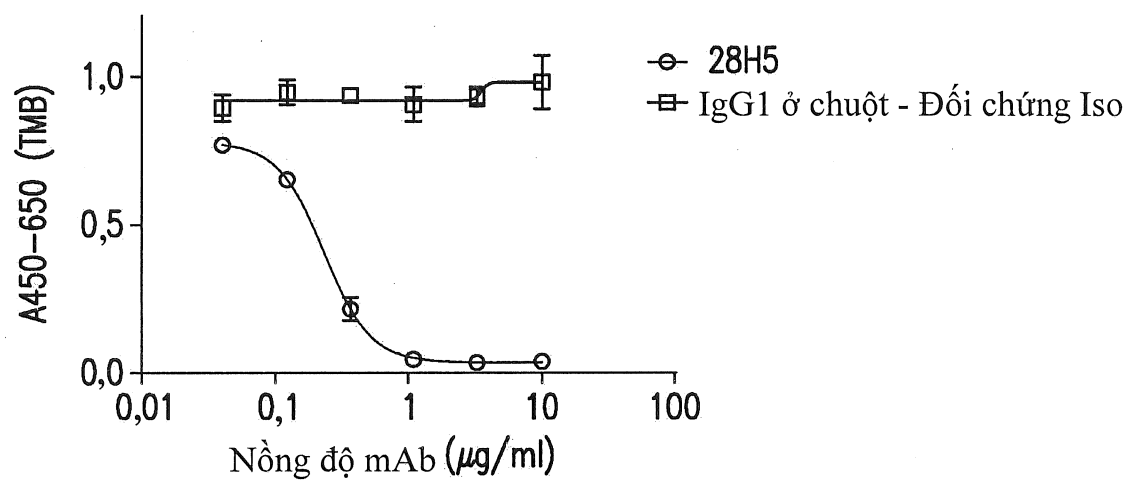
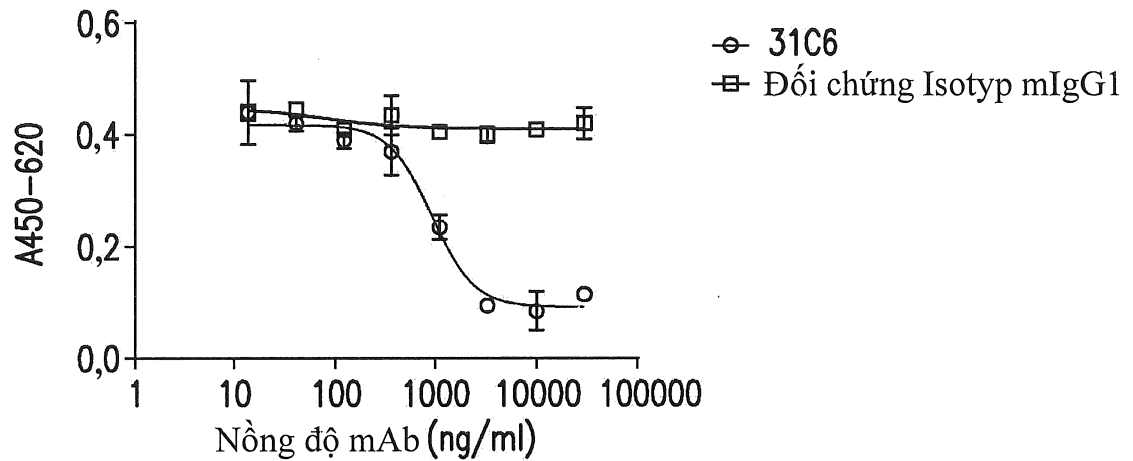
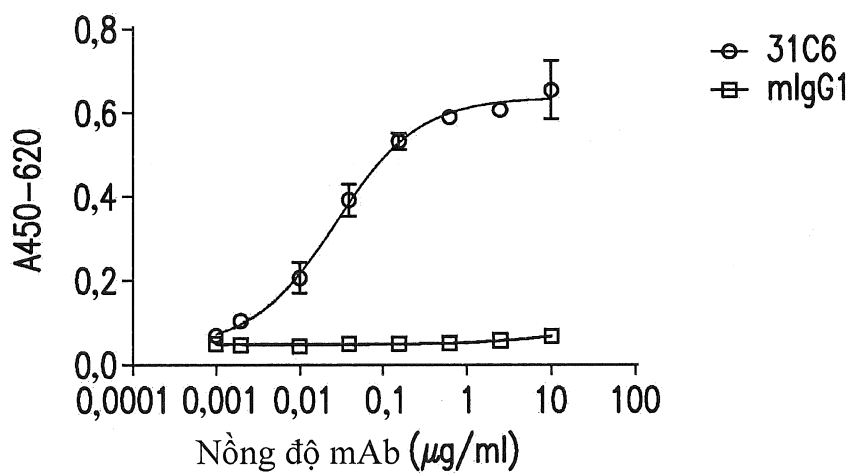


FIG.3

Phong bề liên kết của hCD155-hFc với TIGIT-CHO-K1 ở người



Liên kết với hTIGIT-CHO



Liên kết với hTIGIT-CHO ở khỉ rhesus

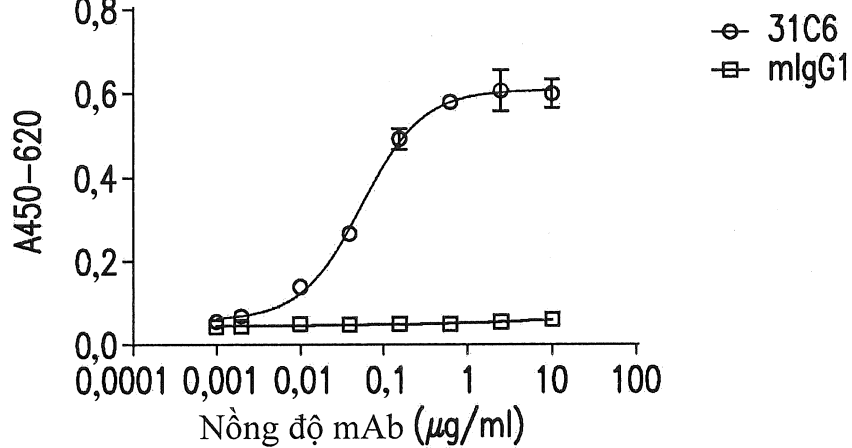


FIG.4

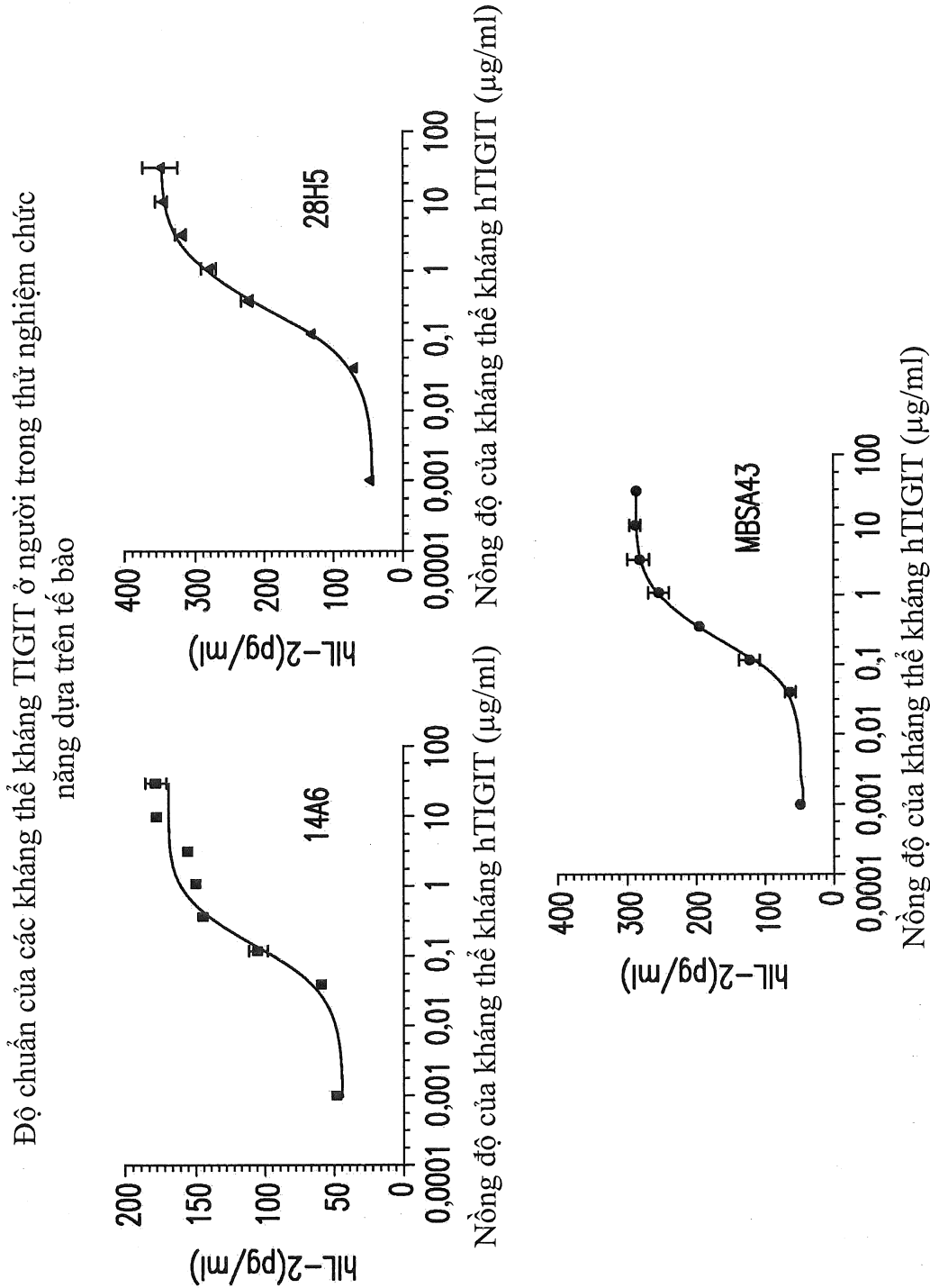


FIG.5

Độ chuẩn của kháng thể kháng TIGIT ở người trong thử nghiệm chức năng dựa trên tế bào

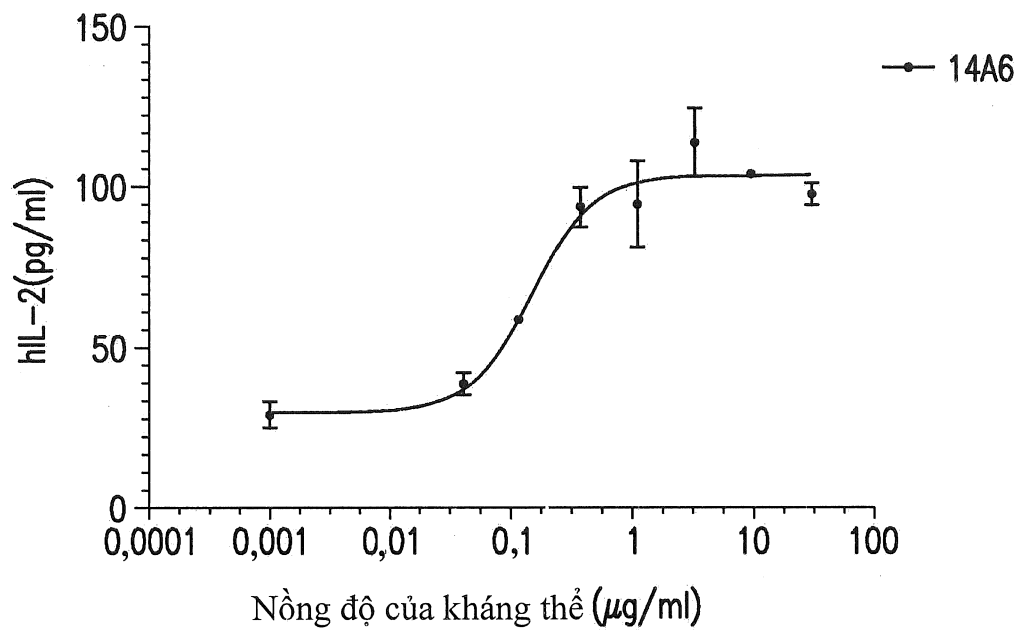
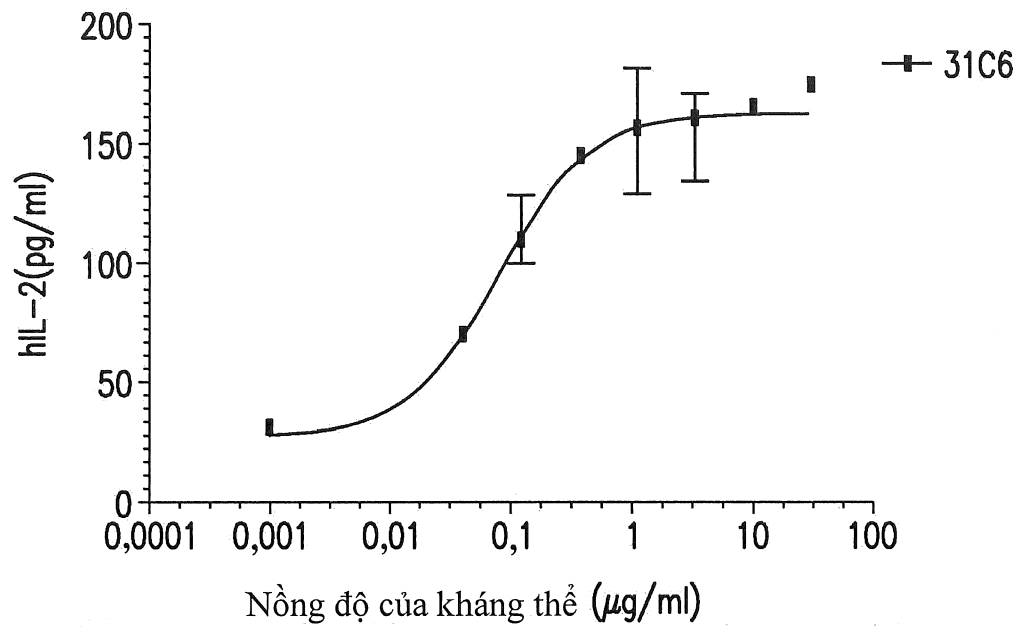


FIG.6

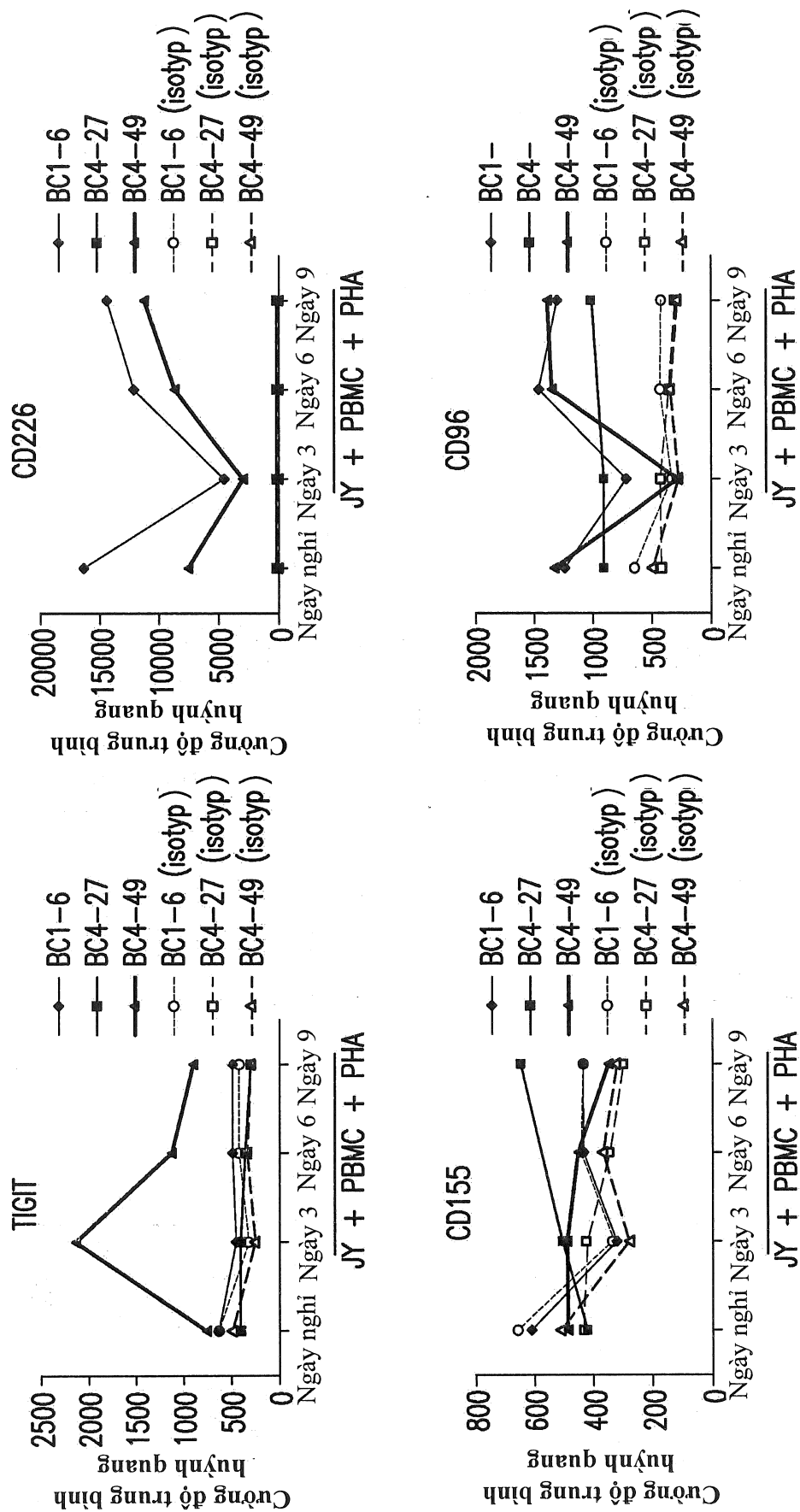


FIG.7



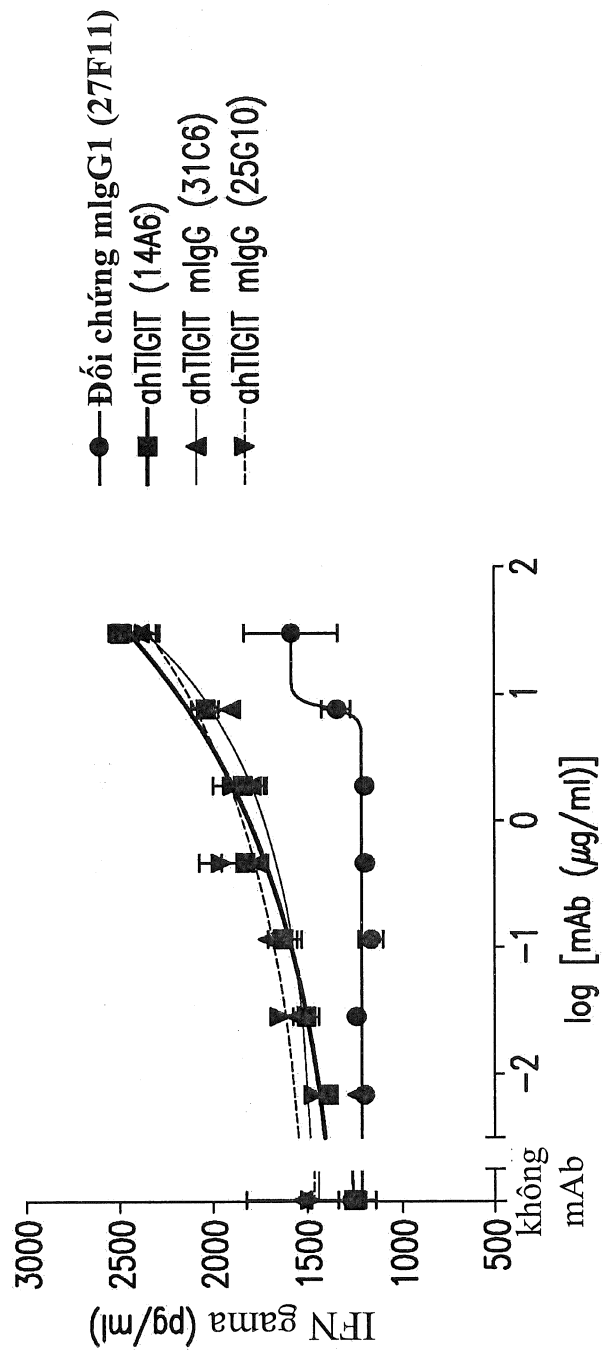
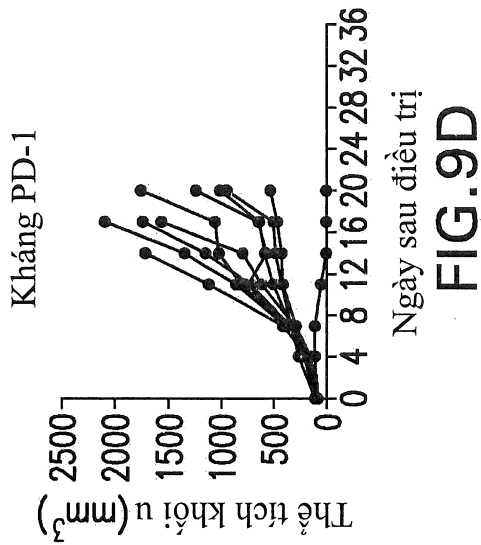
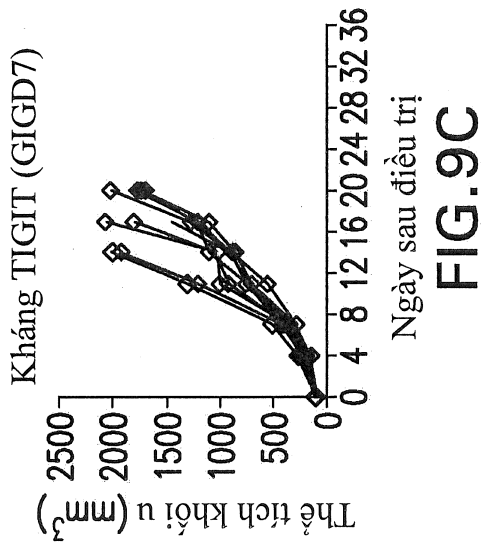
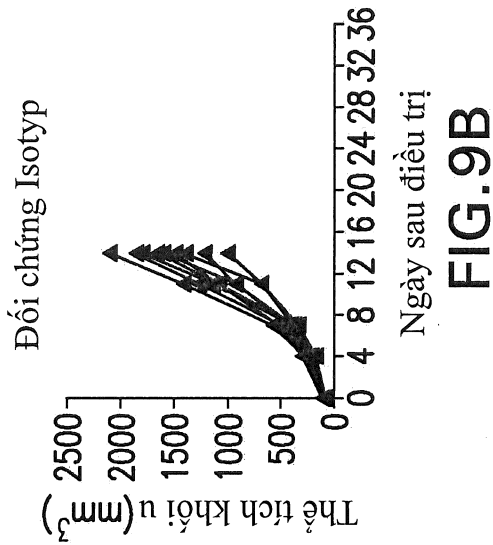
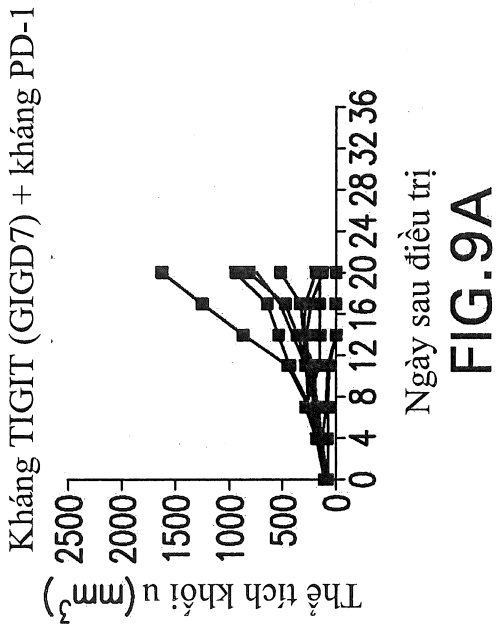


FIG.8B



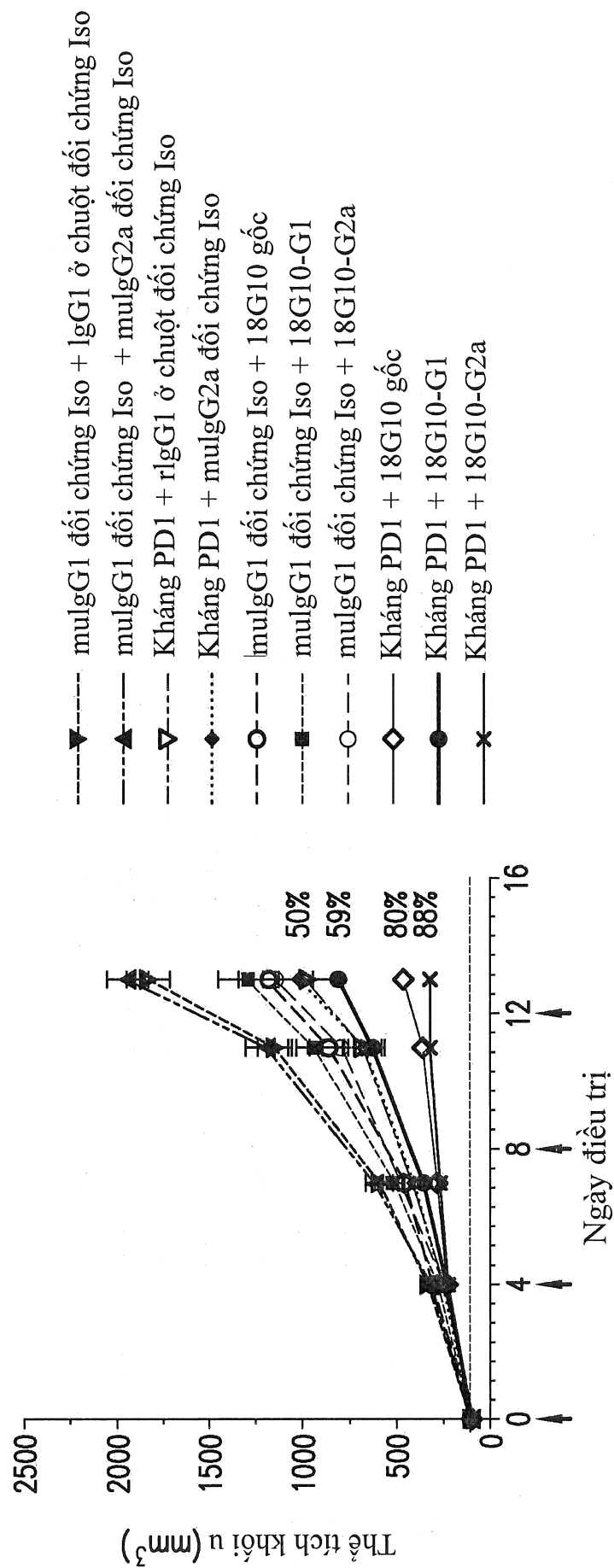


FIG.10

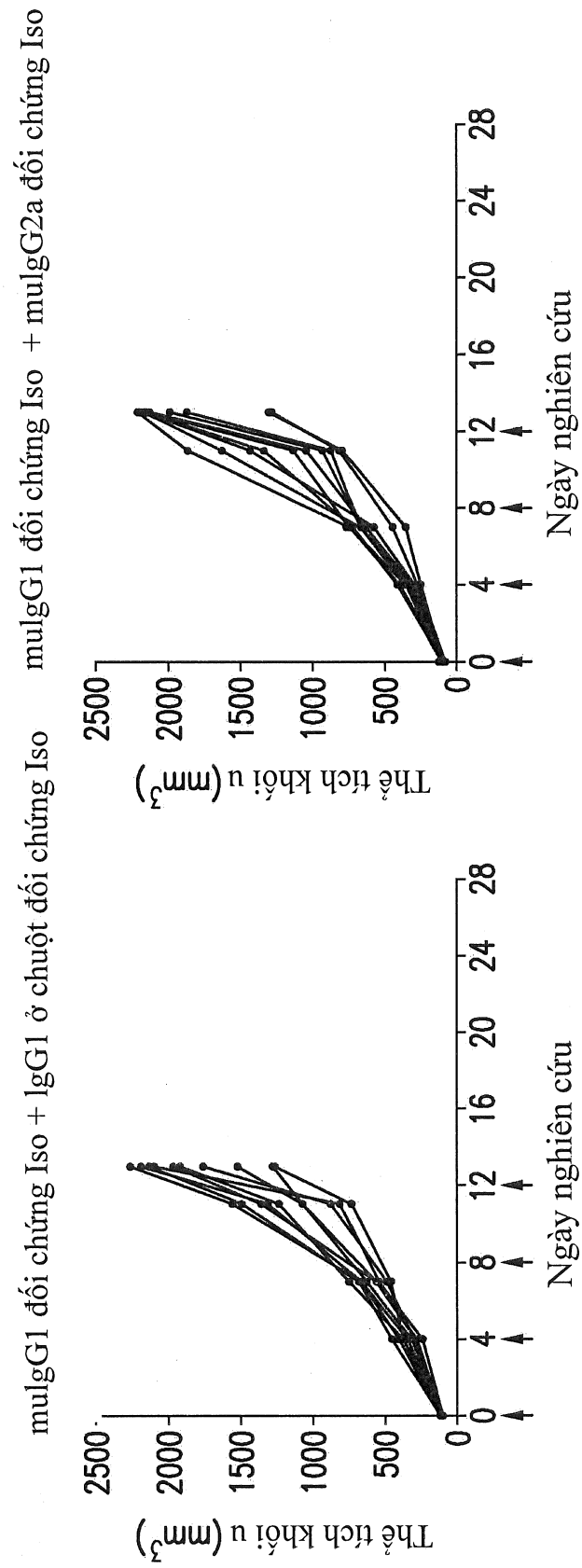


FIG.11A

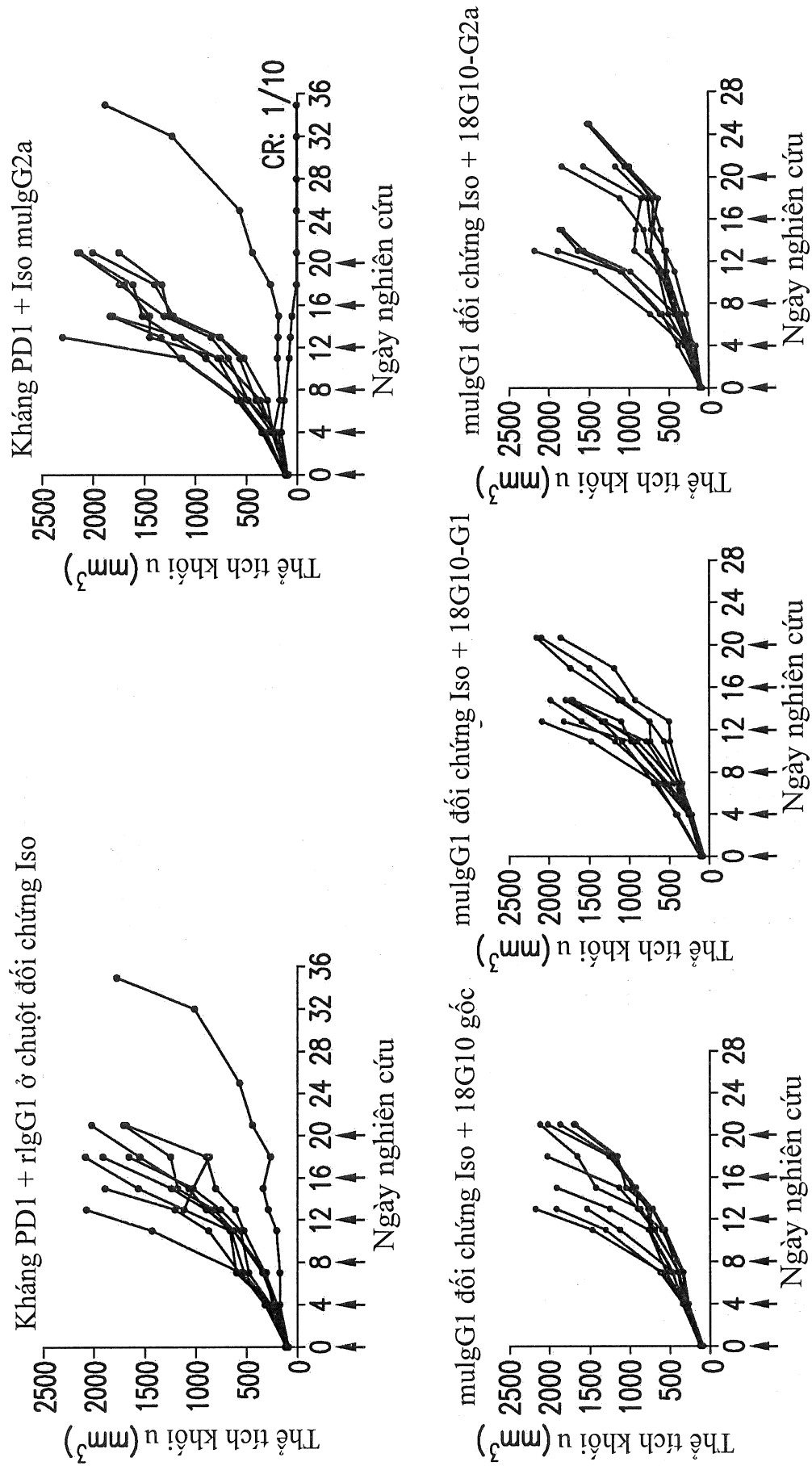


FIG.11B

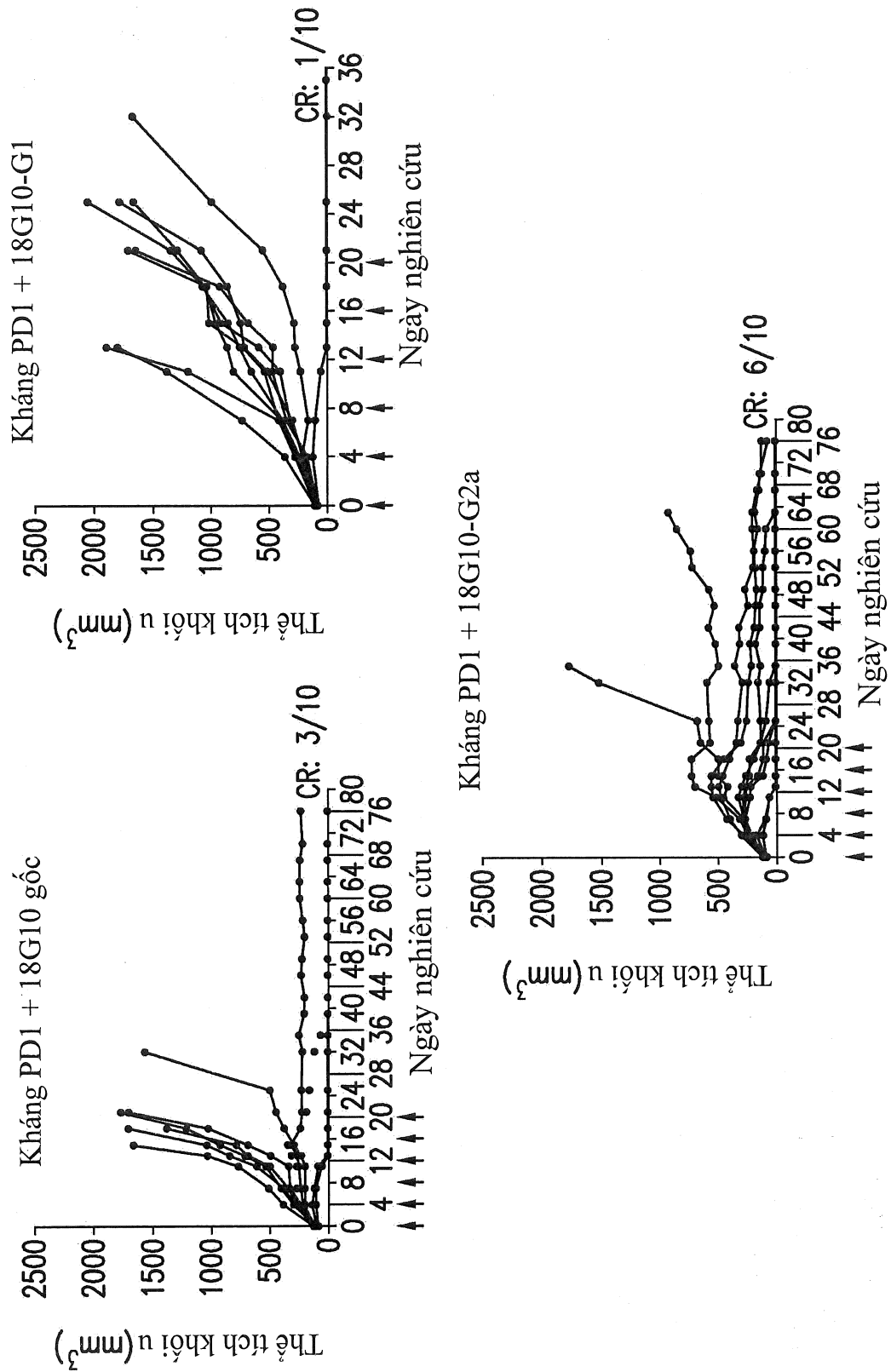


FIG.11C

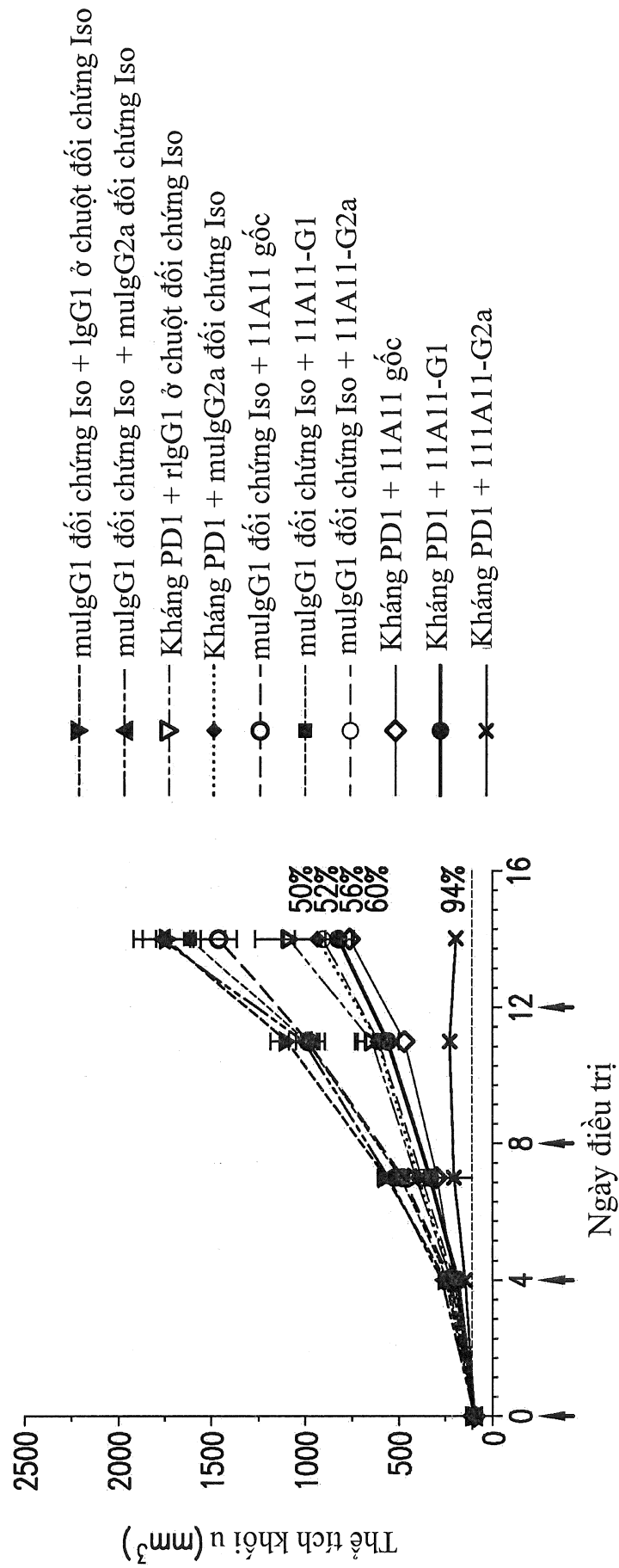


FIG.12

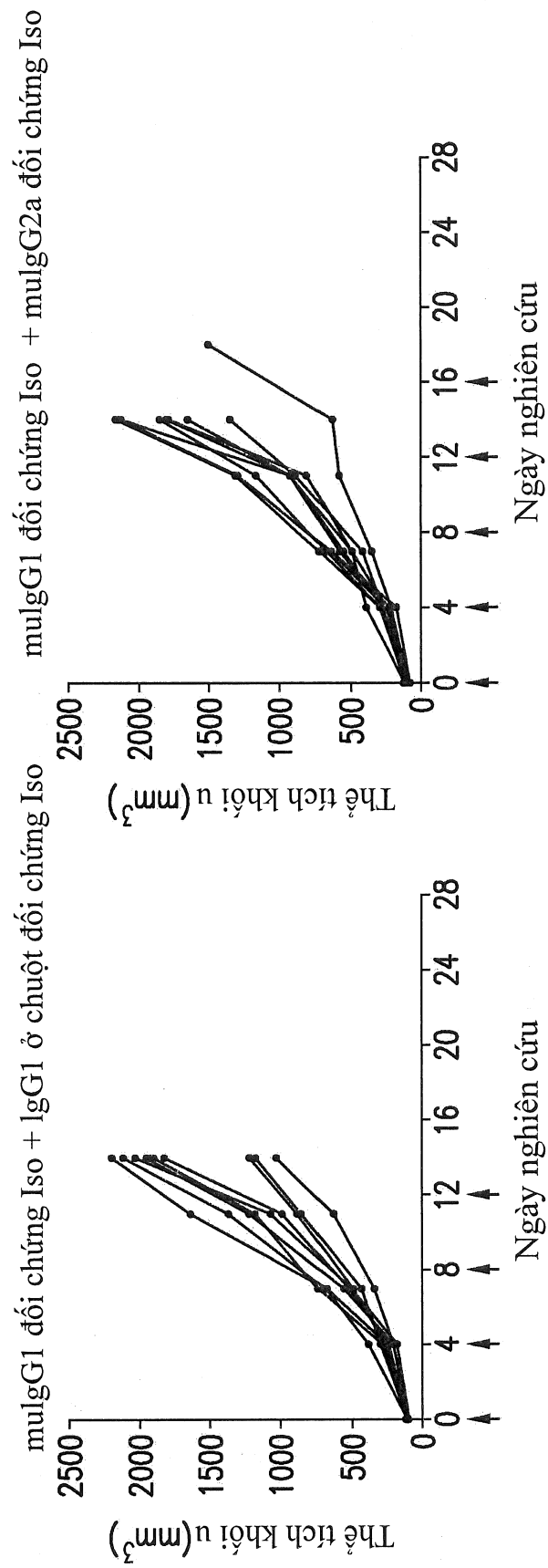
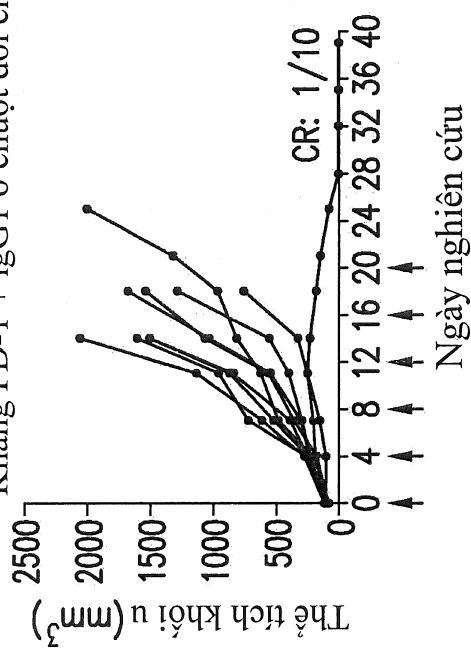


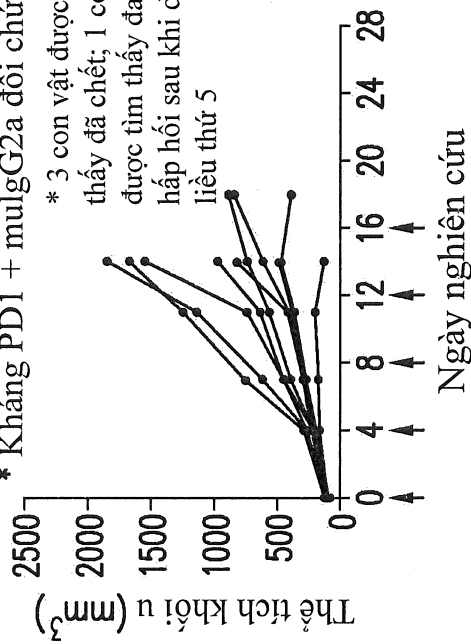
FIG.13A

Kháng PD-1 + IgG1 ở chuột đối chứng Iso

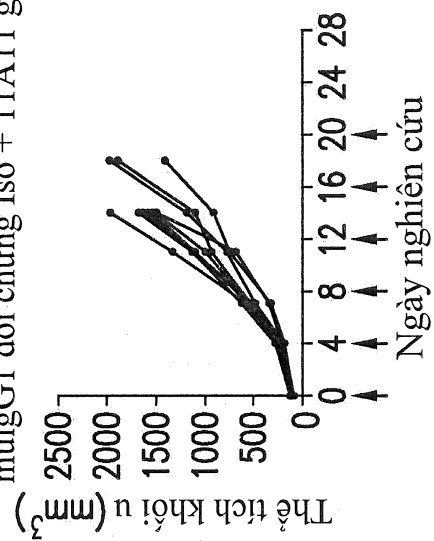


* Kháng PD1 + mulgG2a đối chứng Iso

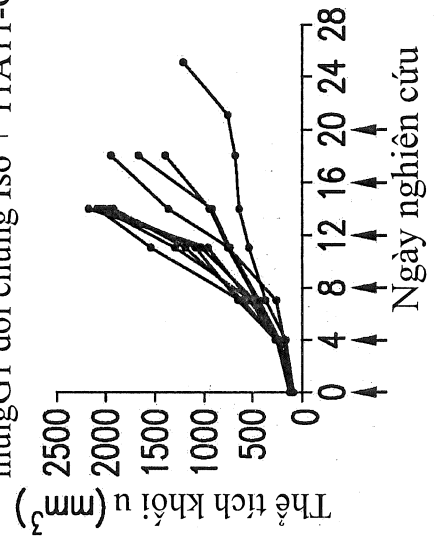
* 3 con vật được tìm thấy đã chết; 1 con được tìm thấy đang hấp hối sau khi dùng liều thứ 5



mulgG1 đối chứng Iso + 11A11 gốc



mulgG1 đối chứng Iso + 11A11-G1



mulgG1 đối chứng Iso + 11A11-G2a

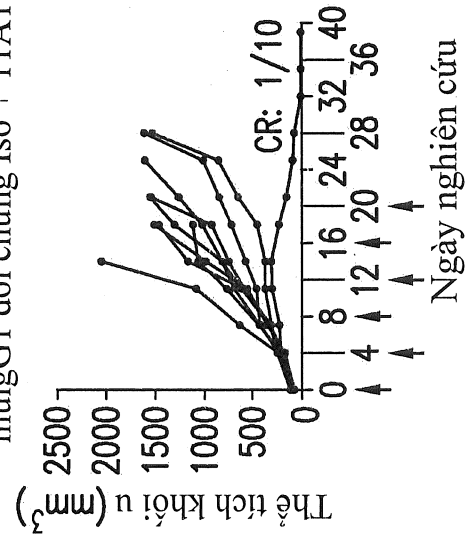


FIG. 13B

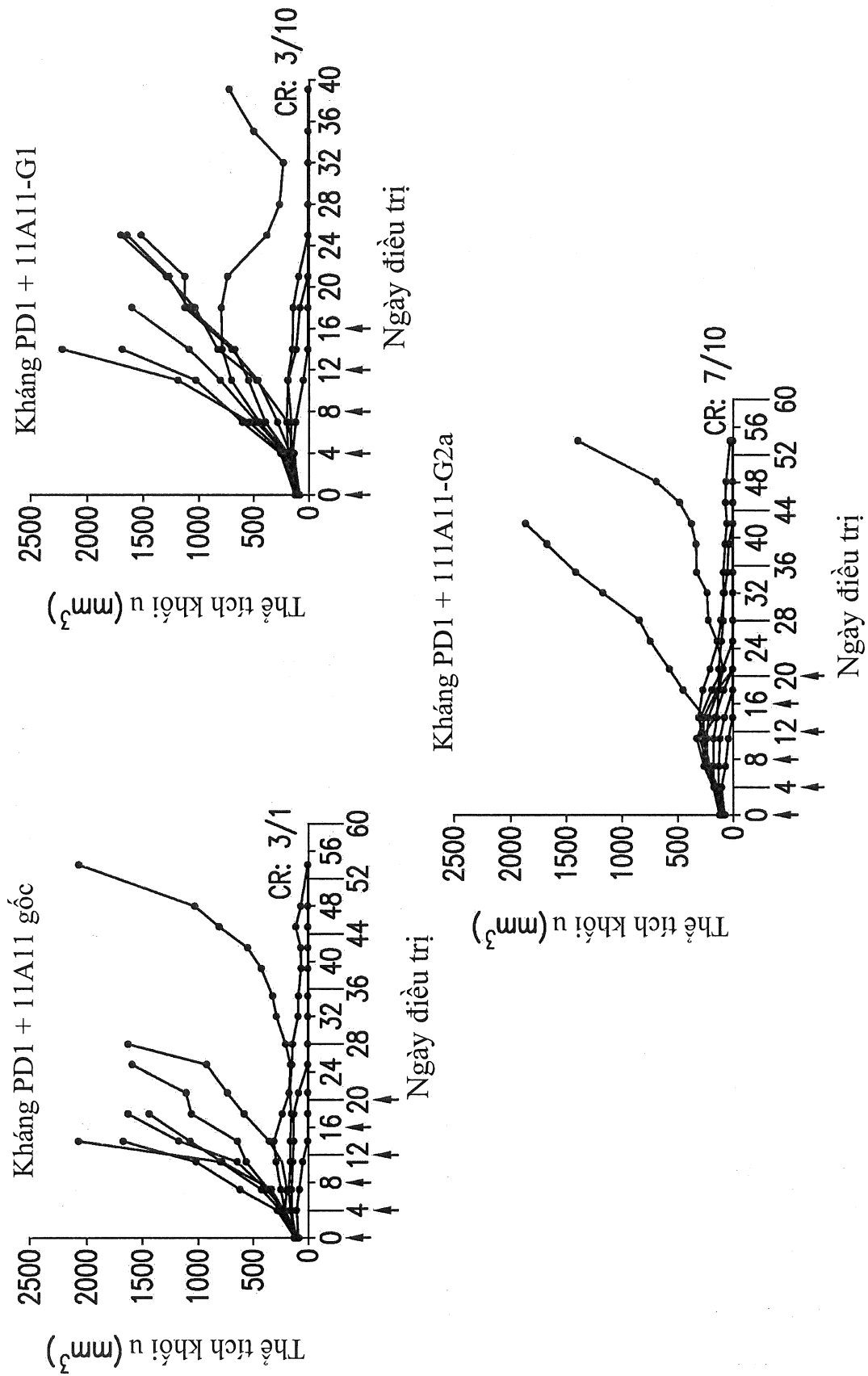


FIG.13C

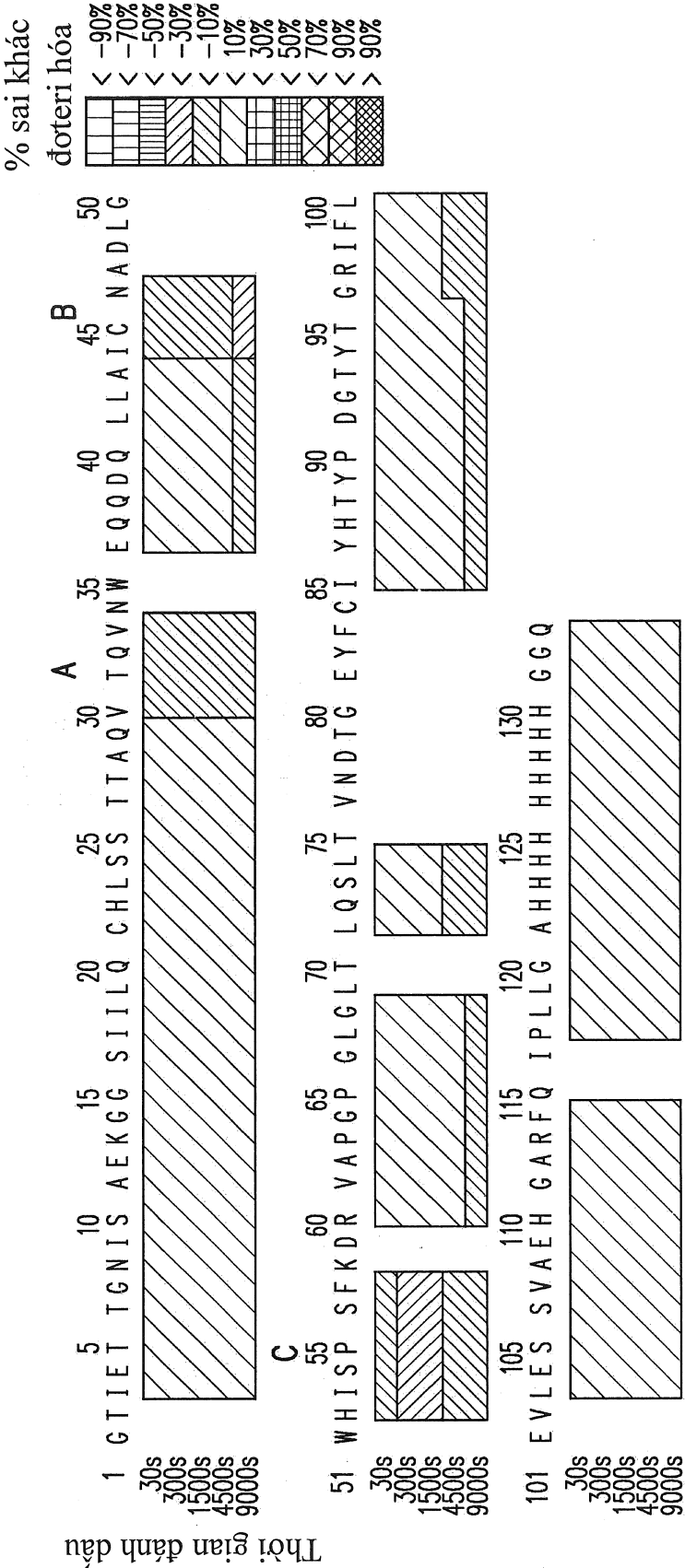


FIG.14

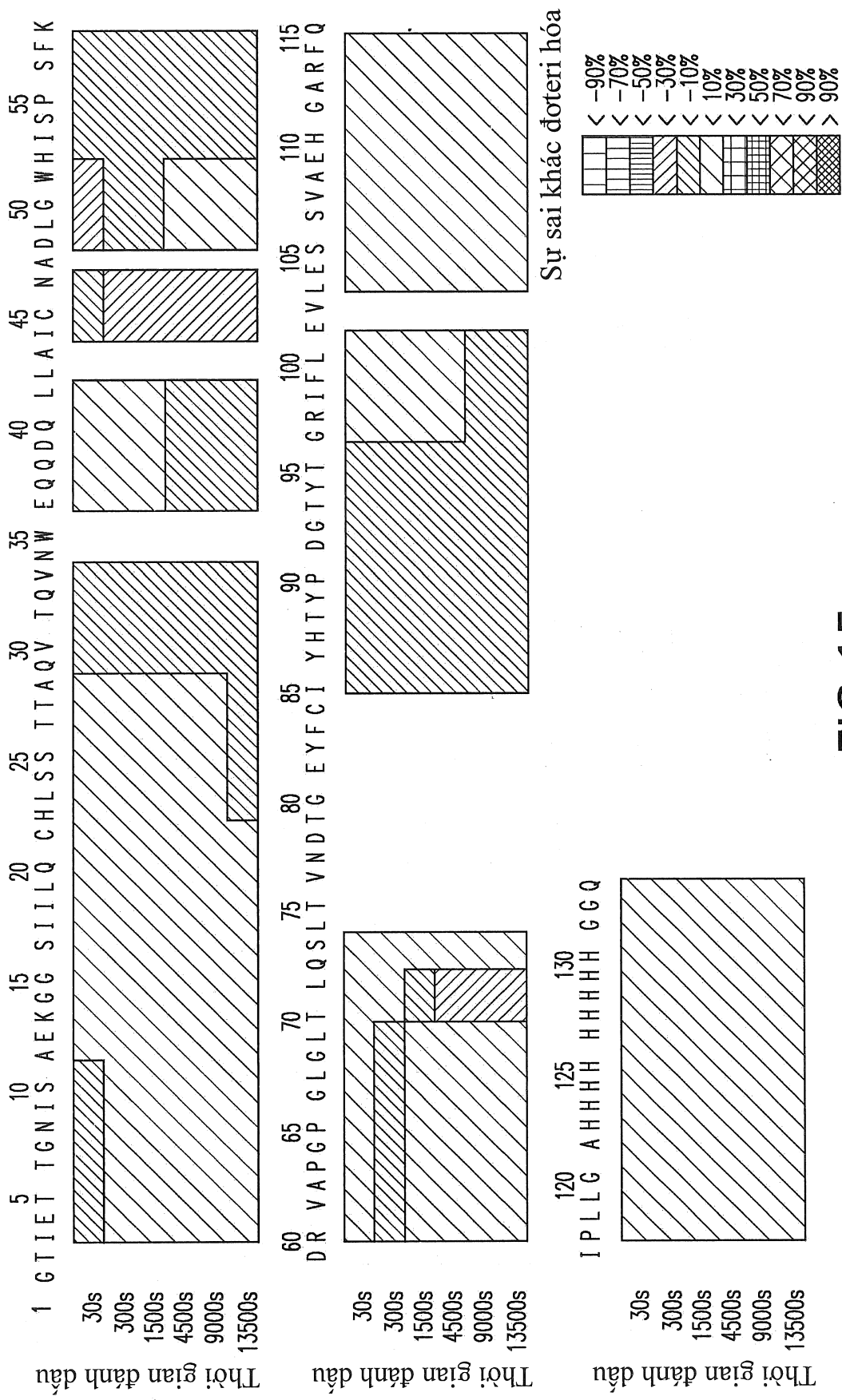


FIG.15

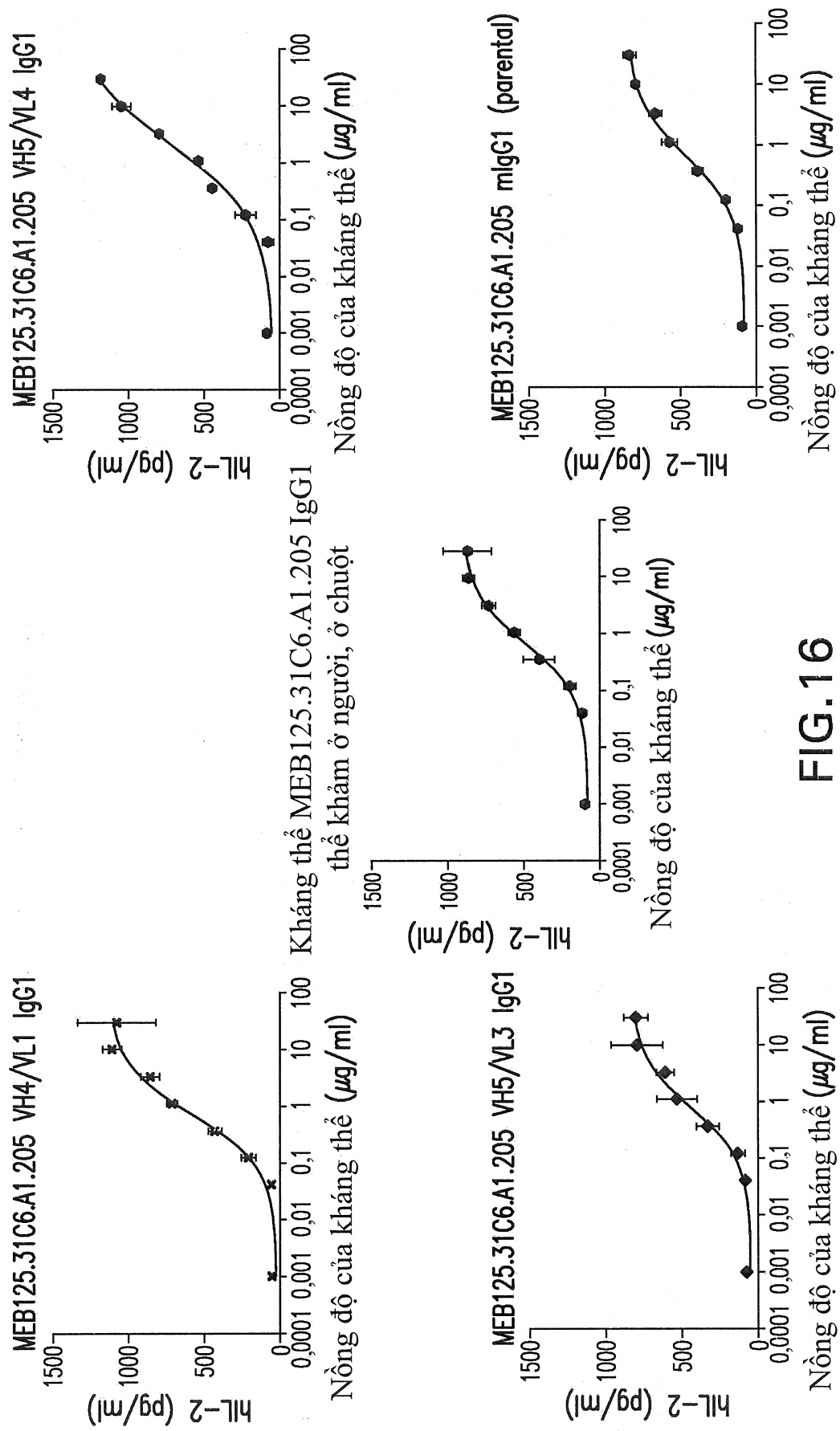


FIG. 16

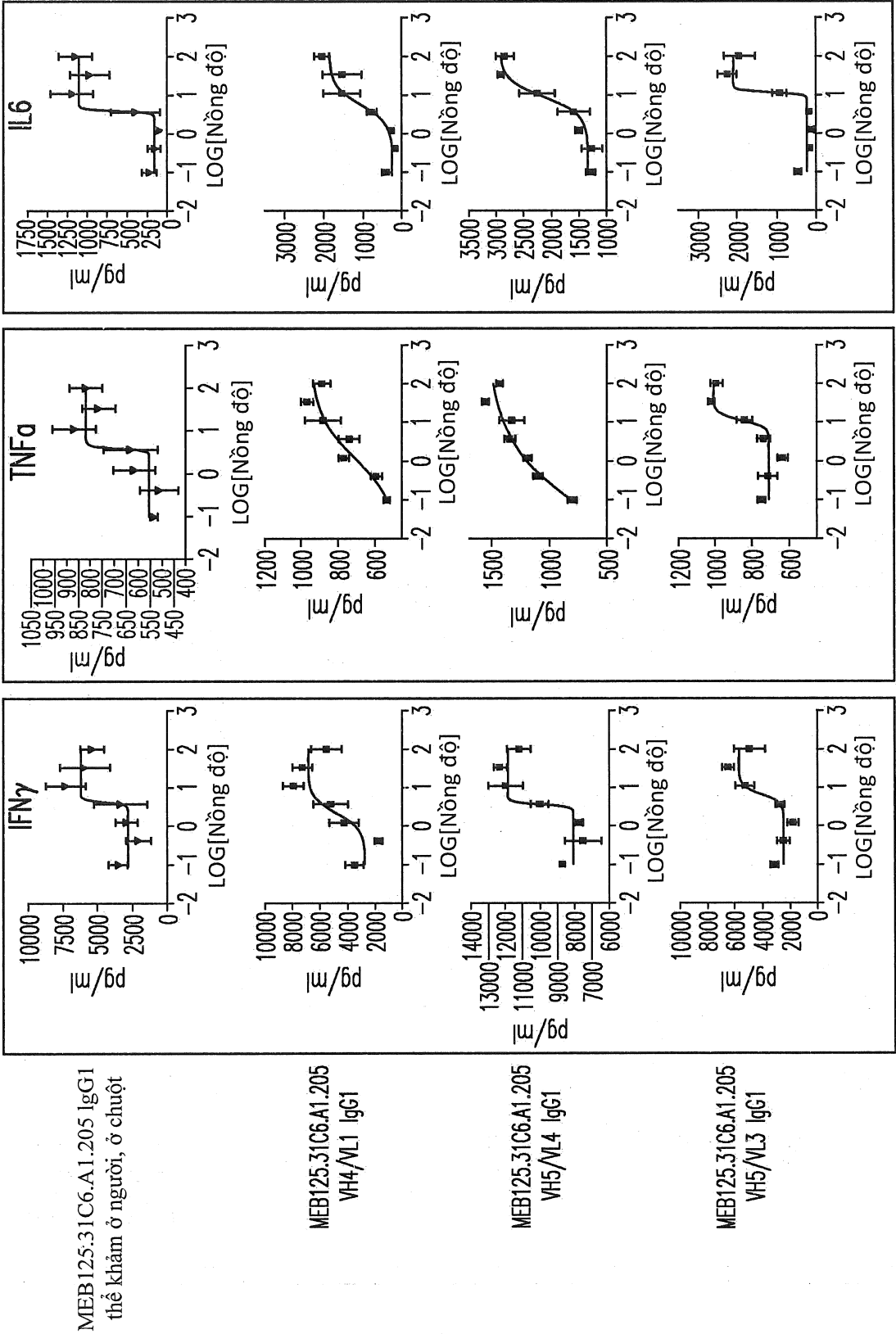


FIG.17

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> WILLIAMS, SYBIL M. G.
 LAFACE, DRAKE
 FAYADAT-DILMAN, LAURENCE
 RAGHUNATHAN, GOPALAN
 LIANG, LINDA
 SEGHEZZI, WOLFGANG

<120> Kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết với TIGIT thuần thực ở người và chế phẩm bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh liên kết kháng nguyên này

<130> 23808-US-PCT

<140>

<141>

<150> 62/126,733

<151> 2015-03-02

<150> 62/038,912

<151> 2014-08-19

<160> 167

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 1

Ser Asp Tyr Trp Gly
 1 5

<210> 2

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 2

Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 3
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 3
 Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly Tyr
 1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 4
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 4
 Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn Leu Ala
 1 5 10

<210> 5
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 5
 Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr
 1 5

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

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp
Peptit CDR

<400> 6
Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr
1 5

<210> 7
<211> 127
<212> PRT
<213> Chuột *Rattus norvegicus*

<400> 7
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Met Glu Trp Met
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe Leu
65 70 75 80

Gln Leu His Ser Val Thr Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Ser Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Pro Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 8
<211> 106
<212> PRT
<213> Chuột *Rattus norvegicus*

<400> 8
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Leu Gly Glu Ala Pro Lys Phe Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 9

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 9

Glu Val Gln Leu Gln Glu 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 Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser 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 Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 10

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 10

Glu Val Gln Leu Gln Glu 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 Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 11
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp
 Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 11

Glu Val Gln Leu Gln Glu 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 Ser Asp
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 12
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp
 Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 12

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ser Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 13

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 13

Glu Val Gln Leu Gln Glu 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 Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu His Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 14

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 14

Glu Val Gln Leu Gln Glu 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 Ser Asp
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu His Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 15

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 15

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ser Ser Asp
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu His Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 16

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 16

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ser Ser Asp
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu His Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 17

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 17

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Asp
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser 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 Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 18

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 18

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Asp
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 19

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp
Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 19

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 20
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp
 Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 20

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Ser Ser Ile Ser Ser Asp
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 21
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp
 Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 21

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu His Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 22

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 22

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu His Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 23

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 23

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Ser Ser Ile Ser Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu His Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 24

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 24

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Ser Ser Ile Ser Ser Asp
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu His Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 25

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 25

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

Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	His	Lys	Asn
			20					25					30		

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

Tyr	Tyr	Ala	Asn	Ser	Leu	Gln	Thr	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				

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

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

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

<210> 26

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 26

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

Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	His	Lys	Asn
			20					25					30		

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 27

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 27

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn
20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 28
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp
 Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 28

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn
 20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr
 85 90 95

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

<210> 29
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp
 Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 29

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Phe Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr
85 90 95

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

<210> 30

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 30

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Phe Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr
85 90 95

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

<210> 31

<211> 244

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 31

Met Arg Trp Cys Leu Leu Leu Ile Trp Ala Gln Gly Leu Arg Gln Ala
1 5 10 15

Pro Leu Ala Ser Gly Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn
20 25 30

Ile Ser Ala Glu Lys Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser
35 40 45

Ser Thr Thr Ala Gln Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln
50 55 60

Leu Leu Ala Ile Cys Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser
65 70 75 80

Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln
85 90 95

Ser Leu Thr Val Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr
100 105 110

Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu
115 120 125

Ser Ser Val Ala Glu His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu Gly
130 135 140

Ala Met Ala Ala Thr Leu Val Val Ile Cys Thr Ala Val Ile Val Val
145 150 155 160

Val Ala Leu Thr Arg Lys Lys Lys Ala Leu Arg Ile His Ser Val Glu
165 170 175

Gly Asp Leu Arg Arg Lys Ser Ala Gly Gln Glu Glu Trp Ser Pro Ser
180 185 190

Ala Pro Ser Pro Pro Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro Ala
195 200 205

Gly Leu Cys Gly Glu Gln Arg Gly Glu Asp Cys Ala Glu Leu His Asp
210 215 220

Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Asn Cys Ser Phe Phe
225 230 235 240

Thr Glu Thr Gly

<210> 32

<211> 245

<212> PRT

<213> Khĩ Macaca fascicularis

<400> 32

Met Arg Trp Cys Leu Phe Leu Ile Trp Ala Gln Gly Leu Arg Gln Ala
1 5 10 15

Pro Leu Ala Ser Gly Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn
20 25 30

Ile Ser Ala Lys Lys Gly Gly Ser Val Ile Leu Gln Cys His Leu Ser
35 40 45

Ser Thr Met Ala Gln Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln His Asp His
50 55 60

Ser Leu Leu Ala Ile Arg Asn Ala Glu Leu Gly Trp His Ile Tyr Pro
65 70 75 80

Ala Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu
85 90 95

Gln Ser Leu Thr Met Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Thr Tyr His
 100 105 110

Thr Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Arg Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu
 115 120 125

Glu Ser Ser Val Ala Glu His Ser Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu
 130 135 140

Gly Ala Met Ala Met Met Leu Val Val Ile Cys Ile Ala Val Ile Val
 145 150 155 160

Val Val Val Leu Ala Arg Lys Lys Lys Ser Leu Arg Ile His Ser Val
 165 170 175

Glu Ser Gly Leu Gln Arg Lys Ser Thr Gly Gln Glu Glu Gln Ile Pro
 180 185 190

Ser Ala Pro Ser Pro Pro Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro
 195 200 205

Ala Gly Leu Cys Gly Glu Gln Gln Gly Asp Asp Cys Ala Glu Leu His
 210 215 220

Asp Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Ser Cys Ser Phe
 225 230 235 240

Phe Thr Glu Thr Gly
 245

<210> 33

<211> 447

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Polypeptit chuỗi kháng thể

<400> 33

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445

<210> 34
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Polypeptit chuỗi kháng thể

<400> 34
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser
 20 25 30
 Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
 35 40 45
 Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
 85 90 95
 Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105 110
 Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 115 120 125
 Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 35

<211> 440

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Polypeptit chuỗi kháng thể

<400> 35

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

Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser
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 Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile 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 Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser
115 120 125

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
 130 135 140
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
 145 150 155 160
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
 165 170 175
 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys
 180 185 190
 Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
 195 200 205
 Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 210 215 220
 Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 225 230 235 240
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 245 250 255
 Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
 260 265 270
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 275 280 285
 Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 290 295 300
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
 305 310 315 320
 Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 325 330 335
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
 340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 370 375 380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 385 390 395 400

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
 405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440

<210> 36

<211> 214

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Polypeptit chuỗi kháng thể

<400> 36

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 37

<211> 129

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 37

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser 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 Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala
 115 120 125

Ser

<210> 38

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 38

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 39

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 39

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 40

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 40

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Lys Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 41

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 41

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Met Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 42

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 42

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Lys Met Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 43

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 43

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 44

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 44

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Lys Met Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser 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 Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 45
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 45

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
 100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 46
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 46

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser 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 Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 47

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 47

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Ser Ser Ile Ala Ser Asp
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser 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 Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Trp Glu Gly
100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 48

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 48

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn
20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 49
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 49

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn
 20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

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

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

<210> 50
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 50

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn
20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 51

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 51

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn
20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 52

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 52

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile His Lys Asn
 20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

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

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

<210> 53

<211> 19

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit chuỗi nặng trình tự dẫn đầu

<400> 53

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly
 1 5 10 15

Val His Ser

<210> 54

<211> 20

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit chuỗi nhẹ trình tự dẫn đầu

<400> 54

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

Asp Ala Arg Cys
 20

<210> 55

<211> 325

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Polypeptit IgG4 S228P miễn hằng định chuỗi nặng

<400> 55

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
 1 5 10 15

Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 20 25 30

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 35 40 45

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 50 55 60

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr
65 70 75 80

Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
85 90 95

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
100 105 110

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
115 120 125

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
130 135 140

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
145 150 155 160

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
165 170 175

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
180 185 190

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
195 200 205

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
210 215 220

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
225 230 235 240

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
245 250 255

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
260 265 270

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
275 280 285

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 290 295 300

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 305 310 315 320

Leu Ser Leu Gly Lys
 325

<210> 56

<211> 105

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Polypeptit miễn hằng định chuỗi nhẹ kapa

<400> 56

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
 1 5 10 15

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
 20 25 30

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
 35 40 45

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
 50 55 60

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
 65 70 75 80

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
 85 90 95

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105

<210> 57

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 57

Gly	Tyr	Ser	Ile	Thr	Ser	Asp	Tyr	Ala	Trp	Asn
1				5					10	

<210> 58

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 58

Tyr	Ile	Ser	Asn	Ser	Gly	Ser	Ala	Ser	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys	Ser
1				5					10					15	

<210> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 59

Leu	Ile	Tyr	Tyr	Asp	Tyr	Gly	Gly	Ala	Met	Asn	Phe
1				5					10		

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 60

Lys	Ala	Ser	Gln	Gly	Val	Ser	Thr	Thr	Val	Ala
1				5					10	

<210> 61
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 61
 Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
 1 5

<210> 62
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 62
 Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
 1 5

<210> 63
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Chuột Mus musculus

<400> 63
 Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
 20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
 35 40 45

Met Gly Tyr Ile Ser Asn Ser Gly Ser Ala Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
 65 70 75 80

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

Ala Thr Leu Ile Tyr Tyr Asp Tyr Gly Gly Ala Met Asn Phe Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 64

<211> 107

<212> PRT

<213> Chuột *Mus musculus*

<400> 64

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Gly Val Ser Thr Thr
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Trp
85 90 95

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

<210> 65

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 65

Tyr Ala Ser Asn Leu Gln Thr
1 5

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 66

Tyr Ala Ser Ser Leu Gln Thr
1 5

<210> 67

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 67

Tyr Ala Ser Thr Leu Gln Thr
1 5

<210> 68

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 68

Tyr Ala Thr Thr Leu Gln Thr
1 5

<210> 69

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 69

Tyr Ala Ser Tyr Leu Gln Thr
1 5

<210> 70

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 70

Tyr Ala Asn Gln Leu Gln Thr
1 5

<210> 71

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 71

Tyr Ala Gly Ser Leu Gln Thr
1 5

<210> 72

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 72

Tyr Ala Ser Gln Leu Gln Thr
1 5

<210> 73

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 73

Tyr Ala Asp Ser Leu Gln Thr
1 5

<210> 74

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 74

Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Phe Thr
1 5

<210> 75

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 75

Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
1 5

<210> 76

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 76

Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr
1 5

<210> 77

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 77

Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Val Thr
1 5

<210> 78

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 78

Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Leu Thr
1 5

<210> 79

<211> 19

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 79

Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Phe Glu Gly Tyr
1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 80

<211> 19

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 80

Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Tyr Glu Gly Tyr
 1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 81
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 81
 Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Ile Glu Gly Tyr
 1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 82
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 82
 Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Val Glu Gly Tyr
 1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 83
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 83

Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Leu Glu Gly Tyr
 1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 84
 <211> 363
 <212> ADN
 <213> Chuột Mus musculus

<400> 84
 gatgtgcagc ttcaggagtc gggacctggc ctggtgaaac cttctcagtc tctgtccctc
 60

acctgcactg tcaactggcta ctcaatcacc agtgattatg cctggaactg gatccgacag
 120

tttccaggaa acaaactgga gtggatgggc tacataagca acagtggtag cgctagctac
 180

aacccatctc tcaaaagtcg catctctatc actcgagaca catccaagaa ccagttcttc
 240

ctgcagttga attctgtgac tactgaggac acagccacat attactgtgc aaccctgac
 300

tactatgatt acgggggggc tatgaacttc tgggggtcaag gaacctcagt caccgtctcc
 360

tca
 363

<210> 85
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Chuột Mus musculus

<400> 85
 gacattgtga tgacctcagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc
 60

atcacctgca aggccagtca ggggtgtgagt actactgtgg cctggatatca acagaaacca
 120

ggacaatctc ctaaactact gatttactcg gcacccctacc ggtacactgg agtccctgat
 180

cgcttcactg gcagtggtac tgggacggat ttcactttca ccatcagcag tgtgcagtct
 240

gaagacctgg cagtttatta ctgtcagcat tattatagta ctccgtggac gttcgggtgga
300

ggcaccaagc tggaaatcaa a
321

<210> 86

<211> 330

<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 86

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> 87

<211> 133

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Polypeptit protein dung hợp

<400> 87

Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys Gly Gly Ser

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

<210> 88

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 88

Ser Tyr Val Met His
1 5

<210> 89

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 89

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Asp	Gly	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 90

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 90

Gly	Gly	Pro	Tyr	Gly	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val
1				5					10

<210> 91

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 91

Arg	Ala	Ser	Glu	His	Ile	Tyr	Ser	Tyr	Leu	Ser
1				5					10	

<210> 92

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 92

Asn	Ala	Lys	Thr	Leu	Ala	Glu
1				5		

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 93

Gln His His Phe Gly Ser Pro Leu Thr
1 5

<210> 94

<211> 119

<212> PRT

<213> Chuột *Mus musculus*

<400> 94

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

<210> 95

<211> 107

<212> PRT

<213> Chuột *Mus musculus*

<400> 95

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

Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu His Ile Tyr Ser Tyr
 20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
 35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Ser Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Thr Leu Glu Leu Lys
 100 105

<210> 96

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 96

Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Arg Gly Ala Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Gly
 1 5 10 15

<210> 97

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp

Peptit CDR

<400> 97

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Leu	Gly	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Gly	Phe
1				5					10					15	

<210> 98

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 98

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Lys	Gly	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Gly
1				5					10					15	

<210> 99

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 99

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Phe	Gly	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Gly
1				5					10					15	

<210> 100

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 100

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Ser	Gly	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Gly
1				5					10					15	

<210> 101

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 101

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Tyr	Gly	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Gly
1				5					10					15	

<210> 102

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 102

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Val	Gly	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Gly
1				5					10					15	

<210> 103

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 103

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Asp	Arg	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 104

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 104

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Asp	Asn	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 105

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 105

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Asp	Gln	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 106

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 106

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Asp	Glu	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 107

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 107

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 108

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 108

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Asp	Lys	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 109

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 109

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Asp	Ser	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 110

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 110

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Asp	Tyr	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 111

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 111

Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Asp	Val	Ala	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 112

Ala	Ala	Lys	Thr	Leu	Ala	Glu
1				5		

<210> 113

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 113

Tyr	Ala	Lys	Thr	Leu	Ala	Glu
1				5		

<210> 114

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 114

Trp Ala Lys Thr Leu Ala Glu
1 5

<210> 115

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 115

Ser Ala Lys Thr Leu Ala Glu
1 5

<210> 116

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 116

Thr Ala Lys Thr Leu Ala Glu
1 5

<210> 117

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 117

Ile Ala Lys Thr Leu Ala Glu
1 5

<210> 118

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

 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit CDR

 <400> 118
 Val Ala Lys Thr Leu Ala Glu
 1 5

 <210> 119
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit CDR

 <400> 119
 Asn Asn Lys Thr Leu Ala Glu
 1 5

 <210> 120
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit CDR

 <400> 120
 Asn Ile Lys Thr Leu Ala Glu
 1 5

 <210> 121
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit CDR

 <400> 121
 Asn Leu Leu Thr Leu Ala Glu
 1 5

<210> 122
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 122
 Asn Thr Lys Thr Leu Ala Glu
 1 5

<210> 123
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 123
 Asn Val Lys Thr Leu Ala Glu
 1 5

<210> 124
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 124
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Ser Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 125

<211> 119

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 125

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 126

<211> 119

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 126

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 127

<211> 119

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 127

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 128

<211> 119

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 128

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

35

40

45

Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 129

<211> 119

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 129

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 130

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 130

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 Glu His Ile Tyr Ser Tyr
 20 25 30

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

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Ser Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 131

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 131

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 Glu His Ile Tyr Ser Tyr
 20 25 30

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

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Ser Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 132

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 132

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 Glu His Ile Tyr Ser Tyr
 20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Ser Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 133

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp

Polypeptit chuỗi kháng thể được làm giống như của người

<400> 133

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 Glu His Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Ser Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 134
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 134
 Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 135
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 135
 Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Asp Gly Ala Lys Tyr Ser Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 136
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Polypeptit trình tự VH

<400> 136
 Gln Val Gln Leu Met Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Pro Leu Thr Ser Tyr
 20 25 30

Thr Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Trp Ser Ser Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Leu Asn Ile Asn Arg Asp Ser Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Phe Cys Thr
85 90 95

Lys Ser Gly Trp Ala Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 137

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Polypeptit trình tự VL

<400> 137

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

Asp Arg Val Thr Leu Asn Cys Ile Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Ser
20 25 30

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

Tyr Asn Ala Asn Ser Leu Gln Ala Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Gly Gly Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 138

<211> 119

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Polypeptit trình tự VH

<400> 138

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

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

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

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Gly Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg His Thr Gly Thr Leu Asp Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Ile Val Ser Ser
115

<210> 139

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Polypeptit trình tự VL

<400> 139

Asn Ile Val Met Ala Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Ile Ser Ala Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Met Asn Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Asn Asn
20 25 30

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

Phe Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Gly Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Lys Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Phe Tyr Tyr Cys Gln Arg Ile Tyr Asn Phe Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 140

<211> 19

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<220>

<221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> Trp, Phe, Tyr, Ile, Val hoặc Leu

<400> 140

Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Xaa Glu Gly Tyr
1 5 10 15

Phe Asp Phe

<210> 141

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Asn, Ser, Thr, Gly or Asp

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> Ser, Asn, Ser, Thr, Tyr or Gln

<400> 141

Tyr Ala Xaa Xaa Leu Gln Thr

1

5

<210> 142

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Trp, Phe, Tyr, Ile, Val hoặc Leu

<400> 142

Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Xaa Thr

1

5

<210> 143

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp polypeptit liên ứng

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Glu hoặc Gln

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Pro hoặc Ala

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> Val hoặc Leu

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (15)..(15)
 <223> Ser hoặc Pro

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (16)..(16)
 <223> Gln, Glu hoặc Gly

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (17)..(17)
 <223> Ser hoặc Thr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (23)..(23)
 <223> Ser, Thr hoặc Ala

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> Thr hoặc Ser

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (27)..(27)
 <223> Ile hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (30)..(30)

<223> Lys hoặc Gln

<220>

<221> MOD_RES

<222> (37)..(37)

<223> Pro hoặc Phe

<220>

<221> MOD_RES

<222> (39)..(39)

<223> Asn hoặc Lys

<220>

<221> MOD_RES

<222> (40)..(40)

<223> Lys hoặc Gly

<220>

<221> MOD_RES

<222> (43)..(43)

<223> Met hoặc Leu

<220>

<221> MOD_RES

<222> (44)..(44)

<223> Met hoặc Ile

<220>

<221> MOD_RES

<222> (45)..(45)

<223> Ile hoặc Val

<220>

<221> MOD_RES

<222> (48)..(48)

<223> Ser hoặc Thr

<220>

<221> MOD_RES

<222> (67)..(67)

<223> Thr hoặc Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (68)..(68)

<223> Arg hoặc Val

<220>

<221> MOD_RES

<222> (70)..(70)

<223> Phe hoặc Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (71)..(71)
 <223> Gln hoặc Lys

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (79)..(79)
 <223> His hoặc Ser

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (81)..(81)
 <223> Thr hoặc Ala

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (83)..(83)
 <223> Asp hoặc Ala

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (87)..(87)
 <223> Thr hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (88)..(88)
 <223> Ser hoặc Tyr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (92)..(92)
 <223> Trp, Phe, Tyr, Ile hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (94)..(94)
 <223> Met, Val, Leu, Ala, Arg, Asn, Pro, Gln, Glu, Gly, Ile
 His, Lys, Phe, Ser, Thr, Trp hoặc Tyr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (110)..(110)
 <223> Val, Thr hoặc Leu

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (119)..(119)
 <223> Ser, Gly hoặc Tyr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (122)..(122)
 <223> Ala hoặc Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (123)..(123)

<223> Pro hoặc Gln

<400> 143

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

Xaa Leu Ser Leu Thr Cys Xaa Val Xaa Gly Xaa Ser Ile Xaa Ser Asp
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Xaa Arg Xaa Xaa Pro Gly Xaa Xaa Xaa Glu Trp Xaa
 35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Xaa Xaa Ile Xaa Xaa Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Xaa Leu
 65 70 75 80

Xaa Leu Xaa Ser Val Thr Xaa Xaa Asp Thr Ala Xaa Tyr Xaa Cys Ala
 85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Xaa Glu Gly
 100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Xaa Gly Thr Xaa Xaa Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 144

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 polypeptit liên ứng

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6)..(6)

<223> Glu hoặc Gln

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Pro hoặc Ala

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> Val hoặc Leu

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (15)..(15)
 <223> Ser hoặc Pro

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (16)..(16)
 <223> Glu hoặc Gly

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (23)..(23)
 <223> Thr, Ala hoặc Ser

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25)..(25)
 <223> Ser hoặc Thr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (27)..(27)
 <223> Gly, Ser hoặc Tyr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (30)..(30)
 <223> Ser hoặc Ala

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (37)..(37)
 <223> Ile hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39)..(39)
 <223> Gln hoặc Lys

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Pro hoặc Phe

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (44)..(44)
 <223> Gly hoặc Lys

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (45)..(45)
 <223> Leu hoặc Met

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (48)..(48)
 <223> Ile hoặc Met

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (67)..(67)
 <223> Val hoặc Ile

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (71)..(71)
 <223> Val hoặc Arg

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (83)..(83)
 <223> Ser hoặc His

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (88)..(88)
 <223> Ala hoặc Asp

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (110)..(110)
 <223> Trp, Phe, Tyr, Ile, Val hoặc Leu

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (122)..(122)
 <223> Met, Val, Leu, Ala, Arg, Asn, Pro, Gln, Glu, Gly, Ile, His,
 Lys, Phe, Ser, Thr, Trp hoặc Tyr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (123)..(123)
 <223> Val, Thr hoặc Leu

<400> 144
 Glu Val Gln Leu Gln Xaa Ser Gly Xaa Gly Leu Xaa Lys Pro Xaa Xaa
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Xaa Val Xaa Gly Xaa Ser Ile Xaa Ser Asp
 20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Xaa Arg Xaa Xaa Pro Gly Lys Xaa Xaa Glu Trp Xaa
 35 40 45

Gly Phe Ile Thr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Xaa Thr Ile Ser Xaa Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Xaa Ser Val Thr Ala Xaa Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Met Pro Ser Phe Ile Thr Leu Ala Ser Leu Ser Thr Xaa Glu Gly
 100 105 110

Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Xaa Xaa Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 145

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 polypeptit liên ứng

<220>

<221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> Leu hoặc Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (21)..(21)

<223> Leu hoặc Ile

<220>

<221> MOD_RES

<222> (22)..(22)

<223> Asn hoặc Thr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Leu hoặc Pro

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (42)..(42)
 <223> Glu hoặc Lys

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (43)..(43)
 <223> Phe hoặc Leu

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (46)..(46)
 <223> Asn, Ser, Thr, Gly hoặc Asp

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (52)..(52)
 <223> Ser, Asn, Thr, Tyr hoặc Gln

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (53)..(53)
 <223> Ile hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (58)..(58)
 <223> Gly hoặc Ser

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (77)..(77)
 <223> Val hoặc Phe

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (83)..(83)
 <223> Phe hoặc Tyr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (87)..(87)
 <223> Trp, Phe, Tyr, Ile, Val hoặc Leu

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (95)..(95)

<223> Leu hoặc Ile

<220>

<221> MOD_RES

<222> (105)..(105)

<223> Ala hoặc Val

<400> 145

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

Asp	Arg	Val	Thr	Xaa	Xaa	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	His	Lys	Asn
			20					25					30		

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

Tyr	Tyr	Ala	Xaa	Xaa	Leu	Gln	Thr	Gly	Xaa	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				

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

Glu	Asp	Xaa	Ala	Thr	Tyr	Xaa	Cys	Gln	Gln	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Xaa	Thr
				85					90					95	

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

<210> 146

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp polypeptit liên ứng

<220>

<221> MOD_RES

<222> (43)..(43)

<223> Leu hoặc Phe

<220>

<221> MOD_RES

<222> (46)..(46)

<223> Asn, Ser, Thr, Gly hoặc Asp

<220>

<221> MOD_RES

<222> (52)..(52)

<223> Ser, Asn, Thr, Tyr hoặc Gln

<220>

<221> MOD_RES

<222> (53)..(53)

<223> Val hoặc Ile

<220>

<221> MOD_RES

<222> (58)..(58)

<223> Trp, Phe, Tyr, Ile, Val hoặc Leu

<220>

<221> MOD_RES

<222> (83)..(83)

<223> Ala hoặc Val

<220>

<221> MOD_RES

<222> (95)..(95)

<223> Phe hoặc Val

<400> 146

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

Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	His	Lys	Asn
		20						25					30		

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

Tyr	Tyr	Ala	Xaa	Xaa	Leu	Gln	Thr	Gly	Xaa	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				

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

Glu	Asp	Xaa	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Xaa	Thr
				85					90					95	

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

<210> 147
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 peptit liên ứng

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7)..(7)
 <223> Asp, Arg, Leu, Lys, Phe, Ser, Tyr hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Gly, Arg, Asn, Gln, Glu, Leu, Lys, Ser, Tyr hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> Asn, Ala hoặc Ser

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (13)..(13)
 <223> Glu hoặc Gln

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (16)..(16)
 <223> Lys hoặc Gln

<400> 147
 Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Xaa Xaa Ala Lys Tyr Xaa Xaa Lys Phe Xaa
 1 5 10 15

Gly

<210> 148
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 peptit liên ứng

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> Asn, Ala, Val, Trp, Ser, Thr, Arg, His, Gly,
 Ile hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> Ala, Asn, Ile, Leu, Thr hoặc Val

<400> 148
 Xaa Xaa Lys Thr Leu Ala Glu
 1 5

<210> 149
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 polypeptit liên ứng

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (5)..(5)
 <223> Gln hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Pro hoặc Ala

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (11)..(11)
 <223> Val hoặc Leu

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (12)..(12)
 <223> Val hoặc Lys

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (16)..(16)
 <223> Ser hoặc Ala

<220>

<221> MOD_RES
 <222> (20)..(20)
 <223> Met hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (38)..(38)
 <223> Lys hoặc Arg

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Lys hoặc Ala

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (44)..(44)
 <223> Gly hoặc Arg

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (56)..(56)
 <223> Asp, Arg, Leu, Lys, Phe, Ser, Tyr hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (57)..(57)
 <223> Gly, Arg, Asn, Gln, Glu, Leu, Lys, Ser, Tyr hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (61)..(61)
 <223> Asn, Ala hoặc Ser

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (62)..(62)
 <223> Glu hoặc Gln

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (65)..(65)
 <223> Lys hoặc Gln

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (67)..(67)
 <223> Arg hoặc Lys

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (68)..(68)
 <223> Ala hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (72)..(72)
 <223> Ser hoặc Arg

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (74)..(74)
 <223> Lys hoặc Thr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (76)..(76)
 <223> Ser, Ile, Ala hoặc Thr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (79)..(79)
 <223> Ala hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (85)..(85)
 <223> Arg hoặc Ser

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (87)..(87)
 <223> Thr hoặc Arg

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (89)..(89)
 <223> Asp hoặc Glu

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (91)..(91)
 <223> Ser hoặc Thr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (92)..(92)
 <223> Ala hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (104)..(104)
 <223> Trp, Ala, Asp, Gly, Phe, Gly, Ile, Lys, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr
 Val hoặc Tyr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (111)..(111)

<223> Ala hoặc Gln

<400> 149

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

Ser Val Lys Xaa Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Xaa Gln Xaa Pro Gly Gln Xaa Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asp Pro Tyr Asn Xaa Xaa Ala Lys Tyr Xaa Xaa Lys Phe
50 55 60

Xaa Gly Xaa Xaa Thr Leu Thr Xaa Asp Xaa Ser Xaa Ser Thr Xaa Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Xaa Leu Xaa Ser Xaa Asp Xaa Xaa Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Pro Tyr Gly Xaa Tyr Phe Asp Val Trp Gly Xaa Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 150

<211> 119

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
polypeptit liên ứng

<220>

<221> MOD_RES

<222> (16)..(16)

<223> Ala hoặc Ser

<220>

<221> MOD_RES

<222> (44)..(44)

<223> Arg hoặc Gly

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (56)..(56)
 <223> Asp, Arg, Leu, Lys, Phe, Ser, Tyr hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (57)..(57)
 <223> Gly, Arg, Asn, Gln, Glu, Leu, Lys, Ser, Tyr hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (61)..(61)
 <223> Asn, Ala hoặc Ser

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (62)..(62)
 <223> Glu hoặc Gln

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (65)..(65)
 <223> Lys hoặc Gln

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (72)..(72)
 <223> Arg hoặc Ser

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (74)..(74)
 <223> Thr hoặc Lys

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (76)..(76)
 <223> Ala, Thr hoặc Ile

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (79)..(79)
 <223> Arg hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (85)..(85)
 <223> Ser hoặc Arg

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (89)..(89)

<223> Glu hoặc Asp

<220>

<221> MOD_RES

<222> (92)..(92)

<223> Ala hoặc Val

<220>

<221> MOD_RES

<222> (104)..(104)

<223> Trp, Ala, Asp, Gly, Phe, Gly, Ile, Lys, Asn, Ser,
Thr, Val hoặc Tyr

<400> 150

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Xaa
1				5					10					15	

Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		

Val	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Xaa	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40					45			

Gly	Tyr	Ile	Asp	Pro	Tyr	Asn	Xaa	Xaa	Ala	Lys	Tyr	Xaa	Xaa	Lys	Phe
	50					55					60				

Xaa	Gly	Arg	Val	Thr	Leu	Thr	Xaa	Asp	Xaa	Ser	Xaa	Ser	Thr	Xaa	Tyr
65					70					75					80

Met	Glu	Leu	Ser	Xaa	Leu	Arg	Ser	Xaa	Asp	Thr	Xaa	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	

Ala	Arg	Gly	Gly	Pro	Tyr	Gly	Xaa	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly
			100					105					110		

Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser
						115

<210> 151

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
polypeptit liên ứng

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Ala hoặc Ser

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (17)..(17)
 <223> Glu hoặc Asp

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (18)..(18)
 <223> Thr hoặc Arg

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Gln hoặc Pro

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (43)..(43)
 <223> Ser, Ala hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (45)..(45)
 <223> Gln hoặc Lys

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (48)..(48)
 <223> Val hoặc Ile

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (50)..(50)
 <223> Asn, Ala, Tyr, Trp, Ser, Thr, Ile hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (51)..(51)
 <223> Ala, Asn, Ile, Leu, Thr hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (70)..(70)
 <223> Gln hoặc Asp

<220>
 <221> MOD_RES

<222> (72)..(72)
 <223> Ser hoặc Thr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (74)..(74)
 <223> Lys hoặc Thr

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (76)..(76)
 <223> Asn hoặc Ser

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (83)..(83)
 <223> Phe hoặc Val

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (84)..(84)
 <223> Gly hoặc Ala

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (100)..(100)
 <223> Ala hoặc Gln

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (103)..(103)
 <223> Thr hoặc Arg

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (106)..(106)
 <223> Leu hoặc Ile

<400> 151
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Xaa Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Xaa Xaa Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu His Ile Tyr Ser Tyr
 20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Xaa Gly Lys Xaa Pro Xaa Leu Leu Xaa
 35 40 45

Tyr Xaa Xaa Lys Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Xaa Xaa Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Ser Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Xaa Gly Thr Xaa Leu Glu Xaa Lys
100 105

<210> 152

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
polypeptit liên ứng

<220>

<221> MOD_RES

<222> (43)..(43)

<223> Ala hoặc Val

<220>

<221> MOD_RES

<222> (50)..(50)

<223> Asn, Ala, Tyr, Trp, Ser, Thr, Ile hoặc Val

<220>

<221> MOD_RES

<222> (51)..(51)

<223> Ala, Asn, Ile, Leu, Thr hoặc Val

<220>

<221> MOD_RES

<222> (70)..(70)

<223> Asp hoặc Gln

<220>

<221> MOD_RES

<222> (83)..(83)

<223> Phe hoặc Val

<400> 152

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 Glu His Ile Tyr Ser Tyr


```

<210> 153
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
      Peptit CDR

<220>
<221> MOD_RES
<222> (6)..(6)
<223> Trp, Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, Ile, Lys, Asn, Gln,
      Arg, Ser, Thr, Val hoặc Tyr

<400> 153
Gly Gly Pro Tyr Gly Xaa Tyr Phe Asp Val
1              5              10

<210> 154
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
      Peptit CDR

<400> 154

```

Gly Gly Pro Tyr Gly Ala Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 155
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 155
Gly Gly Pro Tyr Gly Asp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 156
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 156
Gly Gly Pro Tyr Gly Glu Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 157
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 157
Gly Gly Pro Tyr Gly Phe Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 158
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 158
 Gly Gly Pro Tyr Gly Gly Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 159
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 159
 Gly Gly Pro Tyr Gly Ile Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 160
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 160
 Gly Gly Pro Tyr Gly Lys Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 161
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
 Peptit CDR

<400> 161
 Gly Gly Pro Tyr Gly Asn Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 162
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 162
Gly Gly Pro Tyr Gly Gln Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 163
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 163
Gly Gly Pro Tyr Gly Arg Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 164
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 164
Gly Gly Pro Tyr Gly Ser Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 165
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 165
Gly Gly Pro Tyr Gly Thr Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 166
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 166

Gly Gly Pro Tyr Gly Val Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 167

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mô tả trình tự nhân tạo: Tổng hợp
Peptit CDR

<400> 167

Gly Gly Pro Tyr Gly Tyr Tyr Phe Asp Val
1 5 10