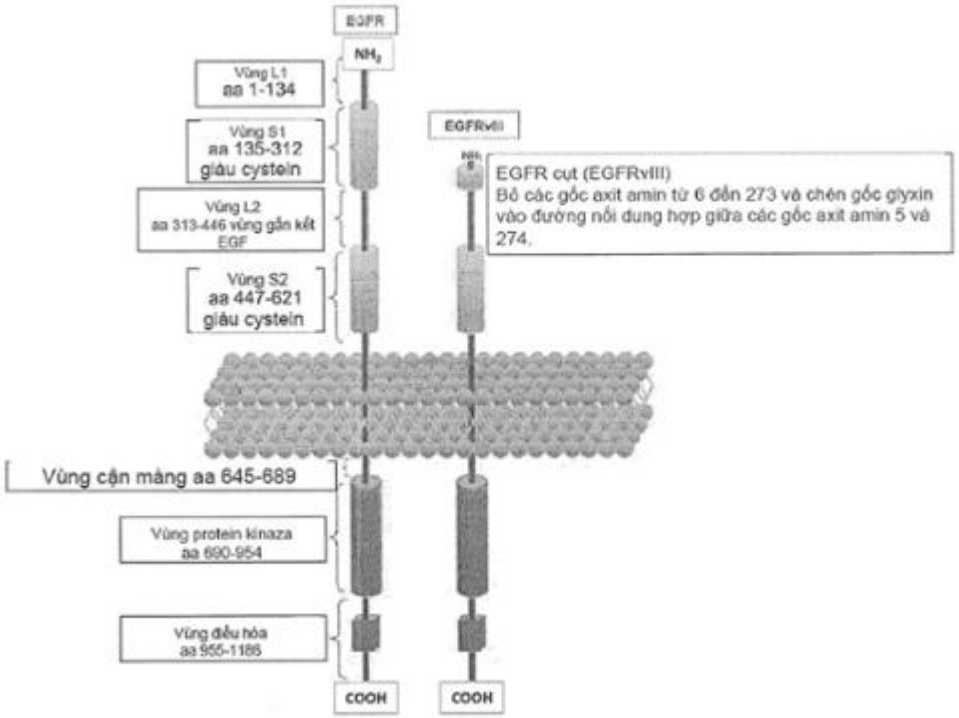
(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ
(11) **1-0032706**
(51)[7] **C07K 16/28**
(13) **B**

(21) 1-2018-00496
(22) 01/08/2016
(86) PCT/EP2016/068332 01/08/2016
(87) WO 2017/021370 A1 09/02/2017
(30) 62/199,945 31/07/2015 US; 62/290,861 03/02/2016 US
(45) 25/07/2022 412
(43) 25/05/2018 362A
(73) Amgen Research (Munich) GmbH (DE)
Staffelseestrasse 2, 81477 Munich, Germany
(72) RAUM, Tobias (DE); KUFER, Peter (DE); RAU, Doris (DE); MUENZ, Markus (DE); HERRMANN, Ines (DE); HOFFMANN, Patrick (DE).
(74) Công ty TNHH Quốc tế D&N (D&N INTERNATIONAL CO.,LTD.)

(54) CẤU TRÚC KHÁNG THỂ ĐẶC HIỆU KÉP LIÊN KẾT VỚI EGFRVIII VÀ CD3, DƯỢC PHẨM VÀ QUY TRÌNH SẢN XUẤT CẤU TRÚC KHÁNG THỂ NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng liên kết thứ nhất liên kết với EGFRvIII của người trên bề mặt của tế bào đích và vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 của người trên bề mặt tế bào T. Thêm nữa, sáng chế đề cập đến polynucleotit mã hóa cấu trúc kháng thể, vectơ chứa polynucleotit này và tế bào chủ được biến nạp hoặc được chuyển nhiễm polynucleotit hoặc vectơ này. Ngoài ra, sáng chế cũng đề cập đến quy trình sản xuất cấu trúc kháng thể theo sáng chế, dược phẩm và bộ kit chứa cấu trúc kháng thể này.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng liên kết thứ nhất liên kết với EGFRvIII của người trên bề mặt của tế bào đích và vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 của người trên bề mặt tế bào T. Hơn thế nữa, sáng chế đề cập đến polynucleotit mã hóa cấu trúc kháng thể, vectơ chứa polynucleotit này và tế bào chủ được biến nạp hoặc được chuyển nhiễm polynucleotit hoặc vectơ này. Ngoài ra, sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất cấu trúc kháng thể theo sáng chế, dược phẩm và kit chứa cấu trúc kháng thể này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

EGFRvIII là một trong số các biến thể EGFR được tạo ra bởi sự sắp xếp lại gen cùng với sự khuếch đại gen EGFR. EGFRvIII gồm đột biến xóa đoạn của 267 axit amin trong khung trong vùng ngoại bào của EGFR. EGFRvIII là biến thể thường gặp nhất của thụ thể của yếu tố tăng trưởng biểu bì (epidermal growth factor - EGF) ở các bệnh ung thư ở người. Trong quá trình khuếch đại gen, đột biến xóa đoạn của 267 axit amin xảy ra trong vùng ngoại bào tạo ra vùng nối liền mới mà có thể dùng làm epitop neo đặc hiệu khối u cho các kháng thể đơn dòng. Biến thể này của thụ thể EGF góp phần vào sự tiến triển khối u thông qua quá trình truyền tín hiệu cấu trúc theo cách độc lập với phối tử. EGFRvIII không được biết là được biểu hiện trên các mô bình thường bất kỳ. Tính chọn lọc khối u vượt trội của sự biểu hiện EGFRvIII chứng tỏ EGFRvIII là một kháng nguyên lý tưởng để nhắm đích với cấu trúc kháng thể BiTE. Sự góp phần của EGFRvIII vào sự tiến triển khối u đưa đến giả thuyết về sự phụ thuộc của các tế bào ung thư vào sự biểu hiện của EGFRvIII và do đó hỗ trợ thêm tính phù hợp của nó với vai trò là đích.

Đã có chứng minh rằng EGFRvIII thường được biểu hiện ở hai loại u ác tính trên hệ thần kinh trung ương, cụ thể là bệnh u nguyên bào thần kinh đệm đa dạng và u não tế bào hình sao giảm biệt hóa. Đối với cả hai loại bệnh này, có nhu cầu y học đáng kể chưa được đáp ứng. Điều này được minh họa bởi khả năng sống sót tổng thể kém dưới trong điều kiện tiêu chăm sóc với tỷ lệ sống sót 13,6% trong 2 năm đối với bệnh u nguyên bào thần kinh đệm đa dạng và 25,9% trong 5 năm đối với bệnh u não tế bào hình sao giảm

biệt hóa. Hiện tại, tiêu chuẩn chăm sóc đối với người bệnh mắc u nguyên bào thần kinh đệm đa dạng bao gồm phẫu thuật cắt bỏ khối u, mà thường bị cản trở bởi kiểu hình sinh trưởng lan tỏa của khối u và yêu cầu bảo tồn các vùng chức năng cần thiết của não. Tiếp sau phẫu thuật là liệu pháp xạ trị và hóa trị liệu bổ trợ. Đối với người bệnh u nguyên bào thần kinh đệm đa dạng và u não tế bào hình sao giảm biệt hóa được điều trị theo tiêu chuẩn chăm sóc hiện nay, sự tái phát là không tránh khỏi, với kết quả cuối cùng gây tử vong ở hầu hết các người bệnh.

Sự biểu hiện EGFRvIII ở bệnh u nguyên bào thần kinh đệm đa dạng và u não tế bào hình sao giảm biệt hóa kích hoạt đường truyền tín hiệu PI3 kinaza và liên quan đến tiên lượng xấu ở bênh nhân mắc u nguyên bào thần kinh đệm đa dạng và u não tế bào hình sao giảm biệt hóa. Cũng đã có mô tả rằng EGFRvIII được đồng biểu hiện với CD133 và xác định quần thể tế bào gốc ung thư ở u nguyên bào thần kinh đệm đa dạng (Emlet et al, Cancer Res 2014, 74 (4): 1238-1249). Hơn nữa, đã có chứng minh rằng theo cơ chế chuyển kháng nguyên giữa các tế bào, EGFRvIII có thể được chuyển tới bề mặt tế bào của các tế bào ung thư âm tính với kháng nguyên. Theo cơ chế này, sự biểu hiện không đồng nhất của EGFRvIII, mà đã được chứng minh với một số trường hợp mắc u nguyên bào thần kinh đệm đa dạng, có thể được khắc phục dưới dạng trở ngại cho hiệu quả điều trị, đặc biệt là trong trường hợp sử dụng cấu trúc kháng thể BiTE đặc hiệu với EGFRvIII, mà mang lại phương thức hoạt động gây độc tế bào hiệu quả cao bù cho các mức kháng nguyên đích có tiềm năng thấp đạt được bằng cách chuyển kháng nguyên giữa các tế bào.

Sự biểu hiện EGFRvIII cũng đã được mô tả trong một số thực thể khối u khác (Wikstrand, CJ. et al., Cancer Research 55 (14): 3140-3148 (1995), Ge H. et al., Int J Cancer 98 (3): 357-61 (2002), Moscatello, G. et al., Cancer Res.: 55 (23): 5536-9 (1995), Garcia de Palazzo, IE. et al., Cancer Res. 53(14):3217- 20 (1993), Olapade-Olaopa, EO. et al., Br J Cancer. 82(1): 186-94 (2000)). Do đó, với tính chọn lọc khối u tuyệt vời của EGFRvIII, việc điều trị bằng cấu trúc kháng thể BiTE đặc hiệu với EGFRvIII cũng có thể có lợi ở các kiểu hoặc kiểu phụ ung thư chọn lọc khác. Khả năng lựa chọn các kiểu ung thư, kiểu phụ ung thư hoặc người bệnh để điều trị có thể được hướng dẫn bằng nhiều phương pháp kiểm tra biểu hiện của EGFRvIII trong khối u.

Do vẫn còn nhu cầu về các lựa chọn khác có thể dùng để điều trị khối u rắn có liên quan đến sự biểu hiện quá mức EGFRvIII, như u nguyên bào thần kinh đệm ác tính, u

não tế bào hình sao, u xơ tử cung, ung thư vú, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư buồng trứng, ung thư tiền liệt tuyến, ung thư hệ thần kinh trung ương, nên sáng chế đề xuất biện pháp và phương pháp để giải quyết vấn đề này sử dụng cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép có một vùng liên kết nhằm vào EGFRvIII trên bề mặt tế bào khối u đích và vùng liên kết thứ hai nhằm vào CD3 trên bề mặt của các tế bào T.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng liên kết thứ nhất liên kết với EGFRvIII của người trên bề mặt của tế bào đích và vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 của người trên bề mặt tế bào T. Cụ thể, sáng chế đề xuất cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng liên kết thứ nhất liên kết với EGFRvIII của người và của khỉ macaca trên bề mặt của tế bào đích và vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 của người trên bề mặt tế bào T, trong đó vùng liên kết thứ nhất gồm polypeptit như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 157 và polypeptit như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 158.

Thêm nữa, sáng chế đề cập đến polynucleotit mã hóa cấu trúc kháng thể, vectơ chứa polynucleotit này và tế bào chủ được biến nạp hoặc được chuyển nhiễm polynucleotit hoặc vectơ này. Ngoài ra, sáng chế cũng đề cập đến quy trình sản xuất cấu trúc kháng thể theo sáng chế, dược phẩm và bộ kit chứa cấu trúc kháng thể này.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1: Thể hiện sự mô tả bằng sơ đồ EGFRvIII là đột biến của EGFR đặc hiệu khối u được tìm thấy ở bệnh u nguyên bào thần kinh đệm có sự xóa bỏ 267 axit amin ở đầu tận cùng N.

Fig.2: Thể hiện sự so sánh trình tự của EvIII-2 liên kết đích và dẫn xuất của nó với EvIII-1 thuộc các vùng V được liên kết đồng hóa trị.

Fig.3: Thể hiện quá trình tinh sạch EvIII-1 và EvIII-2 theo quy trình sản xuất quy mô nghiên cứu chuẩn.

Fig.4: Thể hiện monome EvIII-1 và EvIII-2: SDS-PAGE khử.

Fig.5: Thể hiện tính phản ứng chéo giữa các cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép với EvIII-1 và EvIII-2 được thể hiện bằng phương pháp trắc lưu tế bào: liên kết với EGFRvIII và CD3 của người và của khỉ macaca.

Fig.6: Thể hiện sự liên kết các cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép với EvIII-1 và EvIII-2 với các tế bào được chuyển nhiễm EGFRvIII cũng như là dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm của người U87.

Fig.7: Thể hiện hoạt tính gây độc tế bào của các tế bào T CD8 của người được kích thích chống lại các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII của người. Thử nghiệm giải phóng ^{51}crom trong 18 giờ. Các tế bào tác động: các tế bào T CD8 của người được làm giàu đã qua kích thích. Các tế bào đích: các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII. Tỷ lệ tế bào tác động so với tế bào đích (E:T) là 10:1.

Fig.8: Thể hiện hoạt tính gây độc tế bào của các tế bào T CD8 chống lại dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm của người U87: (a) thử nghiệm giải phóng ^{51}crom trong 18 giờ. Các tế bào tác động: các tế bào T CD8 của người được làm giàu đã qua kích thích. Các tế bào đích: các tế bào U87 dương tính cao vIII. Tỷ lệ tế bào tác động so với tế bào đích (E:T) là 10:1; (b) thử nghiệm dựa trên FACS trong 18 giờ. Các tế bào tác động: các tế bào T CD8 của người được làm giàu đã qua kích thích. Các tế bào đích: các tế bào u thần kinh đệm ác tính U87 dương tính cao với hu EGFRvIII. Tỷ lệ tế bào tác động so với tế bào đích (E:T) là 10:1.

Fig.9: Thể hiện hoạt tính gây độc tế bào của các tế bào T CD8 của người được kích thích chống lại kháng nguyên EGFRvIII tự nhiên biểu hiện dòng tế bào khối u của người: dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm DK-MG: thử nghiệm giải phóng ^{51}crom trong 18 giờ. Các tế bào tác động: các tế bào T CD8 của người được làm giàu đã qua kích thích. Các tế bào đích: các tế bào DK-MG. Tỷ lệ tế bào tác động so với tế bào đích (E:T) là 10:1.

Fig.10: Thể hiện hoạt tính gây độc tế bào của dòng tế bào T của khỉ macaca chống lại các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII của khỉ macaca: thử nghiệm gây độc tế bào dựa trên FACS trong 48 giờ. Các tế bào tác động: CD3+ LnPx4119 của khỉ macaca. Các tế bào đích: các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII của khỉ macaca. Tỷ lệ tế bào tác động so với tế bào đích (E:T) là 10:1.

Fig.11: Thể hiện độ ổn định của các cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép sau khi ủ trong 24 giờ trong huyết tương người: thử nghiệm dựa trên ^{51}crom trong 18 giờ. Các tế bào tác động: các tế bào T CD8 của người được làm giàu đã qua kích thích. Các tế bào đích: các tế bào CHO được chuyển nhiễm hu EGFRvIII. Tỷ lệ tế bào tác động so với tế bào đích (E:T) là 10:1. Các cấu trúc kháng thể như đươc chỉ dẫn.

Fig.12: Thể hiện tính đồng nhất protein của các cấu trúc kháng thể EGFRvIII được phân tích bằng sắc ký trao đổi cation có độ phân giải cao CIEX.

Fig.13: Thể hiện tính kỵ nước trên bề mặt của các cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép được thử nghiệm trong sắc ký tương tác kỵ nước HIC ở chế độ dòng chảy liên tục.

Fig.14: Thể hiện sự chuyển hóa monome thành dime sau 7 ngày ủ tại nồng độ 250 µg/ml và 37°C. Được phân tích bằng thiết bị HP-SEC.

Fig.15: Thể hiện sự chuyển hóa monome thành dime sau ba chu kỳ đông lạnh/rã đông ở nồng độ 250µg/ml và 37°C. Được phân tích bằng thiết bị HP-SEC.

Fig.16: Thể hiện sự phân tích sự liên kết FACS của cấu trúc EvIII-1xCD3-scFc với các tế bào CHO được chuyển nhiễm bằng EGFR của người cũng như là dòng tế bào T CD3+ HPBaLL của người. Đường màu đỏ biểu diễn các tế bào được ủ với 2 µg/ml monome protein được tinh sạch mà sau đó được ủ với kháng thể kháng I2C của chuột và kháng thể phát hiện IgG dê kháng chuột nhắt được đánh dấu PE. Đường biểu đồ màu đen phản ánh đối chứng âm: các tế bào chỉ được ủ với kháng thể kháng I2C cũng như là kháng thể phát hiện được đánh dấu PE.

Fig.17: Thể hiện hoạt tính gây độc tế bào gây ra bởi cấu trúc EvIII-1xCD3-scFc chuyển hướng tới các PBMC của người không được kích thích được làm yếu bởi CD56 là các tế bào tác động và các tế bào CHO được chuyển nhiễm bởi EGFR của người là tế bào đích. (Ví dụ 1.2)

Mô tả chi tiết sáng chế

Do đó, theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng liên kết thứ nhất liên kết với EGFRvIII của người và của khỉ macaca trên bề mặt của tế bào đích và vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 của người trên bề mặt tế bào T, trong đó vùng liên kết thứ nhất gồm polypeptit như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 157 và polypeptit như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 158.

Cần lưu ý rằng như được sử dụng ở đây, các dạng số ít xác định và không xác định bao gồm cả nghĩa số nhiều trừ khi được quy định rõ ràng theo cách khác. Do đó, ví dụ, khi đề cập đến "tác nhân phản ứng" bao gồm cả một hoặc nhiều tác nhân phản ứng khác nhau như vậy và khi đề cập đến "phương pháp" bao gồm cả việc đề cập đến các bước và các phương pháp tương đương đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà có thể được thay đổi hoặc thay thế cho các phương pháp được mô tả ở đây.

Trừ khi được quy định theo cách khác, thuật ngữ "ít nhất" đứng trước một loạt các yếu tố được hiểu là đề cập đến mọi yếu tố trong loạt yếu tố này. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rằng, hoặc có thể biết chắc chỉ nhờ sử dụng thử nghiệm thông thường, có thể sử dụng nhiều thử nghiệm tương đương với các phương án

cụ thể theo sáng chế được mô tả ở đây. Các thử nghiệm tương đương này được dự định là được bao gồm trong sáng chế.

Thuật ngữ "và/hoặc" bất kể ở đoạn nào đều có nghĩa là "và", "hoặc" và "toàn bộ hoặc tổ hợp khác bất kỳ của các yếu tố đi kèm với thuật ngữ này".

Thuật ngữ "khoảng" hay "xấp xỉ" như được sử dụng ở đây có nghĩa là trong khoảng ±20%, tốt hơn là trong khoảng ±15%, tốt hơn nữa là trong khoảng ±10%, và tốt nhất là trong khoảng ±5% của giá trị hoặc khoảng giá trị nhất định.

Trong bản mô tả này và yêu cầu bảo hộ đi kèm, trừ khi có quy định theo cách khác, thuật ngữ "bao gồm", và các thuật ngữ biến thể của nó "bao gồm" và "việc bao gồm", sẽ được hiểu là chỉ việc bao gồm số nguyên hoặc bước hoặc nhóm số nguyên hoặc bước nhưng không loại trừ số nguyên hoặc bước hoặc nhóm số nguyên hoặc bước khác bất kỳ. Nếu được sử dụng ở đây, thuật ngữ "bao gồm" có thể được thay thế bằng thuật ngữ "chứa" hoặc "gồm" hoặc đôi khi được sử dụng ở đây với nghĩa là "có".

Nếu được sử dụng ở đây thuật ngữ "gồm có" loại trừ yếu tố, bước, hoặc thành phần bất kỳ không được nêu trong yếu tố yêu cầu bảo hộ. Nếu được sử dụng ở đây, thuật ngữ "chủ yếu gồm có" không loại trừ các nguyên liệu hoặc các bước mà cốt yếu không làm ảnh hưởng đến các đặc điểm mới và cơ bản của yếu tố yêu cầu bảo hộ.

Trong mỗi trường hợp ở đây thuật ngữ bất kỳ trong số các thuật ngữ "bao gồm", "về cơ bản gồm có" và "gồm có" có thể được thay thế bằng một trong hai thuật ngữ còn lại.

Thuật ngữ "cấu trúc kháng thể" được dùng để chỉ phân tử trong đó cấu trúc và/hoặc chức năng được dựa trên cấu trúc và/hoặc chức năng của một kháng thể, ví dụ, có chiều dài đầy đủ hoặc toàn bộ phân tử globulin miễn dịch. Do đó, cấu trúc kháng thể có khả năng liên kết với đích hoặc kháng nguyên đặc hiệu của nó. Hơn nữa, cấu trúc kháng thể theo sáng chế có các yêu cầu cấu trúc tối thiểu của một kháng thể mà cho phép liên kết với đích. Yêu cầu tối thiểu này chẳng hạn có thể được hiểu là sự có mặt của ít nhất ba CDR chuỗi nhẹ (tức là CDR1, CDR2 và CDR3 của vùng VL) và/hoặc ba CDR chuỗi nặng (tức là CDR1, CDR2 và CDR3 của vùng VH), tốt hơn là có mặt tất cả sáu CDR. Các kháng thể mà các cấu trúc kháng thể theo sáng chế dựa vào bao gồm các kháng thể đơn dòng, kháng thể tái tổ hợp, kháng thể khảm, kháng thể được khử miễn dịch, kháng thể được làm tương thích với người và kháng thể người.

Trong phạm vi định nghĩa, thuật ngữ "cấu trúc kháng thể" theo sáng chế là các kháng thể có chiều dài đầy đủ hoặc toàn bộ kháng thể cũng bao gồm kháng thể họ lạc đà và các kháng thể globulin miễn dịch khác được tạo ra bằng các phương pháp hoặc quy trình thao tác di truyền protein hoặc công nghệ sinh học. Các kháng thể có chiều dài đầy đủ này có thể là các kháng thể đơn dòng, kháng thể tái tổ hợp, kháng thể khảm, kháng thể khử miễn dịch, kháng thể được làm tương thích với người và kháng thể người chẳng hạn. Cũng trong phạm vi định nghĩa, "cấu trúc kháng thể" là các đoạn của kháng thể có chiều dài đầy đủ, như VH, VHH, VL, (s)dAb, Fv, Fd, Fab, Fab', F(ab')2 hoặc "r IgG" ("nửa kháng thể"). Cấu trúc kháng thể theo sáng chế cũng có thể là các đoạn được cải biến của kháng thể, cũng được gọi là các biến thể kháng thể, như scFv, di-scFv hoặc bi(s)-scFv, scFv-Fc, phân tử khóa kéo scFv, scFab, Fab2, Fab3, đoạn kháng thể nhị hợp, đoạn kháng thể nhị hợp (diabody) mạch đơn, đoạn kháng thể nhị hợp tiếp đôi (Tandab's), di-scFv tiếp đôi, tri-scFv tiếp đôi, "tiểu kháng thể" (minibody) được lấy ví dụ bằng cấu trúc như sau: (VH-VL-CH3)2, (scFv-CH3)2, ((scFv)2-CH3 + CH3), ((scFv)2-CH3) hoặc (scFv-CH3-scFv)2, các đoạn kháng thể đa hợp như trime của một đoạn kháng thể hoặc tetrame của một đoạn kháng thể, và kháng thể đơn vùng như kháng thể nano hoặc kháng thể một vùng biến đổi chỉ chứa một vùng biến đổi, mà có thể là VHH, VH hoặc VL, liên kết đặc hiệu với kháng nguyên hoặc epitop độc lập với các vùng hoặc vùng V khác.

Vùng liên kết thường bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể (VL) và vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể (VH); tuy nhiên, vùng liên kết này không buộc phải có cả hai vùng biến đổi này. Các đoạn Fd, ví dụ, có hai vùng VH và thường giữ nguyên chức năng liên kết với kháng nguyên nào đó của vùng liên kết với kháng nguyên nguyên vẹn. Các ví dụ khác về dạng của đoạn kháng thể, biến thể kháng thể hoặc vùng liên kết bao gồm (1) đoạn Fab, đoạn hóa trị một có các vùng VL, VH, CL và CH1; (2) đoạn F(ab')2, đoạn hóa trị hai có hai đoạn Fab được liên kết với nhau bằng cầu nối disulfua ở vùng bản lề; (3) đoạn Fd có hai vùng VH và CH1; (4) đoạn Fv có các vùng VL và VH của một nhánh của kháng thể, (5) đoạn dAb (Ward et al., (1989) Nature 341 :544-546), mà có vùng VH; (6) vùng quyết định bổ trợ (complementarity determining region-CDR) phân lập, và (7) Fv mạch đơn (scFv), dạng sau cùng được ưu tiên hơn (ví dụ, thu được từ thư viện scFv). Ví dụ về các phương án của cấu trúc kháng thể theo sáng chế được mô tả trong các công bố đơn quốc tế số WO 00/006605, WO 2005/040220, WO 2008/119567, WO 2010/037838, WO 2013/026837, WO 2013/026833, đơn yêu cầu

cấp patent Mỹ số US 2014/0308285, đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US 2014/0302037, công bố đơn quốc tế số WO2014/144722, WO 2014/151910, và WO 2015/048272 chẳng hạn.

Hơn nữa, định nghĩa của thuật ngữ "cấu trúc kháng thể" bao gồm các cấu trúc hóa trị một, hóa trị hai và nhiều/đa hóa trị và, do đó các cấu trúc hóa trị một chỉ liên kết đặc hiệu với một cấu trúc kháng nguyên, cũng như là các cấu trúc hóa trị hai và nhiều/đa hóa trị, liên kết đặc hiệu với nhiều hơn một cấu trúc kháng nguyên, ví dụ hai, ba hoặc nhiều hơn ba, thông qua các vùng liên kết riêng. Hơn nữa, định nghĩa của thuật ngữ "cấu trúc kháng thể" bao gồm các phân tử chỉ có một chuỗi polypeptit cũng như là các phân tử có nhiều hơn một chuỗi polypeptit, các chuỗi này có thể giống nhau (homodime, homotrime hoặc homo oligome) hoặc khác nhau (heterodime, heterotrime hoặc heterooligome). Ví dụ về các kháng thể nêu trên và các biến thể hoặc dẫn xuất của chúng được mô tả trong tài liệu không kể các tài liệu khác Harlow and Lane, Antibodies a laboratory manual, CSHL Press (1988) and Using Antibodies: a laboratory manual, CSHL Press (1999), Kontermann and Dübel, Antibody Engineering, Springer, 2nd ed. 2010 and Little, Recombinant Antibodies for Immunotherapy, Cambridge University Press 2009.

Tốt hơn là, cấu trúc kháng thể theo sáng chế là "cấu trúc kháng thể được tạo *in vitro*". Thuật ngữ này được dùng để chỉ cấu trúc kháng thể theo định nghĩa trên trong đó tất cả hoặc một phần vùng biến đổi (ví dụ, ít nhất một CDR) được tạo ra trong quá trình chọn lọc tế bào không miễn dịch, ví dụ, phương pháp biểu hiện trên thể thực khuẩn *in vitro*, phương pháp sử dụng chip protein hoặc phương pháp khác bất kỳ trong đó các trình tự ứng viên có thể được thử nghiệm về khả năng liên kết với kháng nguyên của chúng. Tốt hơn là, thuật ngữ này loại trừ các trình tự chỉ được tạo ra bằng cách sắp xếp lại bộ gen trong tế bào miễn dịch ở động vật. "Kháng thể tái tổ hợp" là kháng thể được tạo ra bằng cách sử dụng công nghệ ADN tái tổ hợp hoặc kỹ thuật di truyền.

Thuật ngữ "kháng thể đơn dòng" (monoclonal antibody-mAb) hoặc cấu trúc kháng thể đơn dòng như được sử dụng ở đây được dùng để chỉ kháng thể thu được từ một quần thể kháng thể gần như đồng nhất, tức là, từng kháng thể trong quần thể là giống nhau ngoại trừ các đột biến có thể có nguồn gốc trong tự nhiên và/hoặc các cải biến sau dịch mã (ví dụ, đồng phân hóa, amit hóa) mà có thể có mặt với lượng nhỏ. Kháng thể đơn dòng có tính đặc hiệu cao, được định hướng kháng vị trí kháng nguyên đơn hoặc quyết định trên kháng nguyên, ngược với các chế phẩm kháng thể thông thường (đa dòng) mà

thường chứa nhiều kháng thể khác nhau kháng các quyết định khác nhau (hoặc epitop). Ngoài tính đặc hiệu của chúng, kháng thể đơn dòng có ưu điểm ở chỗ chúng được tổng hợp bằng cách nuôi cấy tế bào lai, do đó không bị tạp nhiễm bởi các globulin miễn dịch khác. Từ bổ nghĩa "đơn dòng" cho biết đặc điểm của kháng thể này là được thu từ quần thể kháng thể gần như đồng nhất, và không được hiểu là đòi hỏi tổng hợp kháng thể bằng phương pháp cụ thể bất kỳ.

Để tạo ra kháng thể đơn dòng, kỹ thuật bất kỳ tạo ra kháng thể được sản xuất bằng cách nuôi cấy dòng tế bào liên tục có thể được sử dụng. Ví dụ, kháng thể đơn dòng được sử dụng có thể được tổng hợp bằng phương pháp sử dụng tế bào lai được mô tả lần đầu trong tài liệu Koehler *et al.*, Nature, 256: 495 (1975), hoặc có thể được tổng hợp bằng các phương pháp ADN tái tổ hợp (xem, ví dụ, Patent Mỹ số 4,816,567). Ví dụ về các kỹ thuật khác để tổng hợp kháng thể đơn dòng của người bao gồm kỹ thuật sử dụng trioma, kỹ thuật sử dụng tế bào lai là tế bào B của người (Kozbor, Immunology Today 4 (1983), 72) và kỹ thuật sử dụng EBV-tế bào lai (Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc. (1985), 77-96).

Sau đó các tế bào lai có thể được sàng lọc bằng cách sử dụng các phương pháp chuẩn, như thử nghiệm hấp phụ miễn dịch liên kết enzym (enzyme-linked immunosorbent assay-ELISA) và phân tích cộng hưởng plasmon bề mặt (BIACORE™), để xác định một hoặc nhiều tế bào lai tổng hợp kháng thể mà liên kết đặc hiệu với kháng nguyên cụ thể. Dạng bất kỳ của kháng nguyên thích hợp có thể được sử dụng làm tác nhân gây miễn dịch, ví dụ, kháng nguyên tái tổ hợp, các dạng có nguồn gốc trong tự nhiên, biến thể bất kỳ hoặc đoạn của chúng, cũng như là peptit kháng nguyên của chúng. Cộng hưởng plasmon bề mặt như được sử dụng trong hệ thống BIAcore có thể được sử dụng để làm tăng hiệu lực của các kháng thể thể thực khuẩn mà liên kết với epitop của kháng nguyên đích, như EGFRvIII hoặc CD3 epsilon (Schier, Human Antibodies Hybridomas 7 (1996), 97-105; Malmborg, J. Immunol. Methods 183 (1995), 7-13).

Phương pháp tạo kháng thể đơn dòng được lấy làm ví dụ khác bao gồm sàng lọc thư viện biểu hiện protein, ví dụ, thư viện biểu hiện trên thể thực khuẩn hoặc thư viện biểu hiện ribosom. Phương pháp biểu hiện trên thể thực khuẩn được mô tả, ví dụ, trong tài liệu Ladner et al., Patent Mỹ số 5,223,409; Smith (1985) Science 228:1315-1317, Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991) và Marks et al., J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991).

Ngoài việc sử dụng thư viện biểu hiện trên thể thực khuẩn, kháng nguyên thích hợp có thể được sử dụng để gây miễn dịch động vật không phải người, *ví dụ*, loài gặm nhấm (như chuột nhắt, chuột đuôi cụt, thỏ hoặc chuột cống). Theo một phương án, động vật không phải người bao gồm ít nhất một phần của gen globulin miễn dịch của người. Ví dụ, có thể thao tác di truyền các chủng chuột nhắt bị thiếu hụt quá trình tổng hợp kháng thể chuột nhắt với các đoạn lớn của các locut Ig (globulin miễn dịch) của người. Bằng cách sử dụng công nghệ tế bào lai, kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng nguyên thu được từ các gen có tính đặc hiệu mong muốn có thể được tổng hợp và được chọn lọc. Ví dụ, xem tài liệu XENOMOUSE™, Green *et al.* (1994) Nature Genetics 7:13-21, đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US 2003-0070185, công bố đơn quốc tế số WO 96/34096, và WO 96/33735.

Kháng thể đơn dòng cũng có thể thu được từ động vật không phải người, và sau đó được cải biến, ví dụ, được làm tương thích với người, được khử miễn dịch, được tạo khảm v.v., sử dụng các kỹ thuật ADN tái tổ hợp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ về các cấu trúc kháng thể được cải biến bao gồm các biến thể được làm tương thích với người của kháng thể không phải của người, các kháng thể "thuần thục ái lực" (xem tài liệu, ví dụ Hawkins et al. J. Mol. Biol. 254, 889-896 (1992) và Lowman et al., Biochemistry 30, 10832-10837 (1991)) và các thể đột biến kháng thể có (các) chức năng tế bào tác động thay đổi (xem tài liệu, ví dụ, patent Mỹ số 5,648,260, Kontermann and Dübel (2010), loc. cit. and Little (2009), loc. cit.).

Trong miễn dịch học, thuần thục ái lực là quá trình mà qua đó tế bào B tổng hợp kháng thể có ái lực tăng đối với kháng nguyên trong suốt quá trình đáp ứng miễn dịch. Bằng cách cho tiếp xúc lặp lại với cùng một kháng nguyên, vật chủ sẽ tổng hợp kháng thể có ái lực cao liên tục. Giống như nguyên mẫu trong tự nhiên, thuần thục ái lực *in vitro* được dựa trên các nguyên tắc đột biến và chọn lọc. Thuần thục ái lực *in vitro* đã được sử dụng thành công để làm tối ưu hóa kháng thể, cấu trúc kháng thể, và đoạn kháng thể. Các đột biến ngẫu nhiên bên trong các CDR được tạo ra bằng cách chiếu xạ, sử dụng các tác nhân đột biến hóa học hoặc PCR tạo lỗi ngẫu nhiên. Ngoài ra, tính đa dạng di truyền có thể được gia tăng do sự xáo trộn mạch. Hai hoặc ba vòng đột biến và chọn lọc sử dụng phương pháp biểu hiện như biểu hiện trên thể thực khuẩn thường thu được các đoạn kháng thể có ái lực trong khoảng nanomol thấp.

Một loại biến đổi thay thế axit amin được ưu tiên của cấu trúc kháng thể bao gồm thay thế một hoặc nhiều gốc trong vùng siêu biến của kháng thể bố mẹ (ví dụ, kháng thể được làm tương thích với người hoặc kháng thể của người). Thông thường, (các) biến thể tạo ra được chọn để phát triển tiếp sẽ có các đặc tính sinh học tốt hơn so với kháng thể bố mẹ mà tạo ra các biến thể này. Một cách thích hợp để tạo ra các biến thể thay thế như vậy bao gồm làm thuần thục ái lực sử dụng phương pháp biểu hiện trên thể thực khuẩn. Nói tóm lại, một vài vị trí trong vùng siêu biến (ví dụ, 6 đến 7 vị trí) được gây đột biến để tạo ra tất cả các dạng thay thế axit amin có thể có ở mỗi vị trí. Do đó, biến thể kháng thể tạo ra được biểu hiện ở dạng hóa trị một từ các hạt thể thực khuẩn dạng sợi dưới dạng các thể dung hợp với sản phẩm gen III của M13 được bao gói trong mỗi hạt. Các biến thể đươc biểu hiện trên thể thực khuẩn sau đó được sàng lọc hoạt tính sinh học (ví dụ, ái lực liên kết) như được mô tả ở đây. Để xác định các vị trí trong vùng siêu biến ứng viên để cải biến, phương pháp gây đột biến sàng lọc alanin có thể được thực hiện để xác định các gốc trong vùng siêu biến góp phần đáng kể cho việc liên kết với kháng nguyên. Theo cách khác, hoặc ngoài ra, việc phân tích cấu trúc tinh thể của phức hợp kháng thể-kháng nguyên để xác định các điểm tiếp xúc giữa vùng liên kết và, *ví dụ*, EGFRvIII của người là có lợi. Các gốc tiếp xúc như vậy và các gốc bên cạnh là các gốc ứng viên để thay thế theo các kỹ thuật được mô tả ở đây. Một khi các biến thể như vậy được tạo ra, nhóm biến thể được sàng lọc như được mô tả ở đây và các kháng thể có đặc tính tốt hơn trong một hoặc nhiều thử nghiệm thích hợp có thể được chọn để phát triển tiếp.

Kháng thể đơn dòng và cấu trúc kháng thể theo sáng chế nói riêng bao gồm các kháng thể "khảm" (globulin miễn dịch) trong đó một phần chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ là giống hoặc tương đồng với các trình tự tương ứng trong kháng thể thu được từ loài cụ thể hoặc thuộc một lớp hoặc phân lớp kháng thể cụ thể, trong khi đó phần còn lại của (các) chuỗi là giống hoặc tương đồng với các trình tự tương ứng trong các kháng thể thu được từ loài khác hoặc thuộc một lớp hoặc phân lớp kháng thể khác, cũng như là các đoạn của các kháng thể này, miễn là chúng có hoạt tính sinh học mong muốn (Patent Mỹ số 4,816,567; Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984)). Các kháng thể khảm quan tâm ở đây bao gồm các kháng thể "được làm tương thích với động vật linh trưởng" chứa các trình tự liên kết với kháng nguyên của vùng biến đổi thu được từ động vật linh trưởng không phải người (ví dụ, khỉ macacakhỉ cựu thế giới, khỉ macacakhỉ không đuôi v.v.) và các trình tự vùng hằng định của người. Nhiều phương

pháp tổng hợp kháng thể khảm đã được mô tả. Xem tài liệu, *ví dụ*, Morrison *et al.*, Proc. Natl. Acad. ScL U.S.A. 81:6851, 1985; Takeda *et al.*, Nature 314:452, 1985, Cabilly *et al.*, Patent Mỹ số 4,816,567; Boss *et al.*, Patent Mỹ số 4,816,397; Tanaguchi *et al.*, patent châu Âu số EP 0171496; patent châu Âu số EP 0173494; và Patent Anh số GB 2177096.

Kháng thể, cấu trúc kháng thể, đoạn kháng thể hoặc biến thể kháng thể cũng có thể được cải biến bằng cách loại bỏ đặc hiệu các epitop tế bào T của người (phương pháp được gọi là "khử miễn dịch") bằng các phương pháp được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 98/52976 hoặc WO 00/34317 chẳng hạn. Nói tóm lại, các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể có thể được phân tích về các peptit liên kết với MHC lớp II; các peptit này là các epitop tế bào T tiềm năng (như được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 98/52976 và WO 00/34317). Để phát hiện các epitop tế bào T tiềm năng, phương pháp xây dựng mô hình trên máy tính được gọi là "xâu chuỗi peptit" có thể được áp dụng, và ngoài ra cơ sở dữ liệu của các peptit liên kết với MHC lớp II của người có thể được tìm kiếm các motip có mặt trong các trình tự VH và VL, như được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 98/52976 và WO 00/34317. Các motip này liên kết với alotyp bất kỳ trong số 18 alotyp DR MHC lớp II chính, và do đó tạo thành các epitop tế bào T tiềm năng. Các epitop tế bào T tiềm năng được phát hiện có thể được loại trừ bằng cách thay thế một số lượng nhỏ các gốc axit amin trong vùng biến đổi, hoặc tốt hơn là, thay thế axit amin đơn. Thông thường, các thay thế bảo toàn được tạo ra. Thông thường, nhưng không ngoại trừ, axit amin chung đối với vị trí trong các trình tự kháng thể dòng mầm của người có thể được sử dụng. Các trình tự dòng mầm của người được mô tả, ví dụ trong tài liệu Tomlinson, *et al.* (1992) J. MoI. Biol. 227:776-798; Cook, G.P. *et al.* (1995) Immunol. Today Vol. 16 (5): 237-242; và Tomlinson et al. (1995) EMBO J. 14: 14:4628-4638. Thư mục V BASE cung cấp một danh mục đầy đủ về các trình tự vùng biến đổi của globulin miễn dịch của người (được biên soạn bởi Tomlinson, LA. *et al.,* Trung tâm thao tác di truyền protein MRC, Cambridge, Anh). Các trình tự này có thể được sử dụng làm nguồn trình tự của người, *ví dụ*, cho các vùng khung và CDR. Các vùng khung liên ứng của người cũng có thể được sử dụng, ví dụ như được mô tả trong Patent Mỹ số 6,300,064.

Kháng thể "được làm tương thích với người", cấu trúc kháng thể, biến thể hoặc các đoạn của chúng (như Fv, Fab, Fab', F(ab')2 hoặc các trình tự liên kết với kháng nguyên khác của kháng thể) là các kháng thể hoặc globulin miễn dịch có các trình tự chủ

yếu của người, mà chứa (a) (các) trình tự nhỏ thu được từ globulin miễn dịch không phải của người. Nói chung, kháng thể được làm tương thích với người là globulin miễn dịch của người (kháng thể nhận) trong đó các gốc từ vùng siêu biến (còn gọi là CDR) của thể nhận được thay thế bằng các gốc từ vùng siêu biến của loài không phải người (*ví dụ*, loài gặm nhấm) (kháng thể cho) như chuột nhắt, chuột cống, chuột đuôi cụt hoặc thỏ có tính đặc hiệu, ái lực, và khả năng tiếp nhận mong muốn. Trong một vài trường hợp, các gốc trong vùng khung (FR) Fv của globulin miễn dịch của người được thay thế bằng các gốc không phải của người tương ứng. Hơn nữa, "kháng thể được làm tương thích với người" như được sử dụng ở đây cũng có thể chứa các gốc mà không được tìm thấy trong kháng thể nhận cũng như kháng thể cho. Các cải biến này được tạo ra nhằm sàng lọc và tối ưu hóa thêm các đặc tính của kháng thể. Kháng thể được làm tương thích với người cũng có thể chứa ít nhất một phần vùng hằng định của globulin miễn dịch (Fc), thông thường là vùng của globulin miễn dịch của người. Để biết thêm chi tiết, xem tài liệu Jones *et al.*, Nature, 321: 522-525 (1986); Reichmann *et al.*, Nature, 332: 323-329 (1988); và Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2: 593-596 (1992).

Kháng thể được làm tương thích với người hoặc các đoạn của chúng có thể được tạo ra bằng cách thay thế các trình tự của vùng biến đổi Fv mà không trực tiếp tham gia vào việc liên kết kháng nguyên với các trình tự tương đương từ các vùng biến đổi Fv của người. Các phương pháp được lấy làm ví dụ để tạo ra kháng thể được làm tương thích với người hoặc các đoạn của chúng được đề cập bởi tài liệu Morrison (1985) Science 229:1202-1207; bởi tài liệu Oi *et al.* (1986) BioTechniques 4:214; và bởi patent Mỹ số US 5,585,089; US 5,693,761; US 5,693,762; US 5,859,205; và US 6,407,213. Các phương pháp này bao gồm phân lập, thao tác, và biểu hiện các trình tự axit nucleic mà mã hóa toàn bộ hoặc một phần các vùng biến đổi Fv của globulin miễn dịch từ ít nhất một trong số chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ. Các axit nucleic như vậy có thể được tạo ra từ tế bào lai tổng hợp kháng thể kháng đích định trước, như được mô tả trên đây, cũng như là từ các nguồn khác. ADN tái tổ hợp mã hóa phân tử kháng thể được làm tương thích với người sau đó có thể được tách dòng trong vectơ biểu hiện thích hợp.

Kháng thể được làm tương thích với người cũng có thể được tổng hợp bằng cách sử dụng các động vật chuyển gen như chuột biểu hiện các gen chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của người, nhưng không có khả năng biểu hiện các gen chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch nội sinh của chuột nhắt. Tác giả Winter mô tả một phương pháp ghép

CDR được lấy làm ví dụ mà có thể được sử dụng để tạo ra kháng thể được làm tương thích với người được mô tả ở đây (Patent Mỹ số 5,225,539). Toàn bộ các CDR của kháng thể người có thể được thay thế bằng ít nhất một phần CDR không phải của người, hoặc chỉ một vài trong số các CDR có thể được thay thế bằng các CDR không phải của người. Chỉ cần thay thế một số CDR cần cho việc liên kết của kháng thể được làm tương thích với người với kháng nguyên định trước.

Kháng thể được làm tương thích với người có thể được làm tối ưu hóa bằng cách đưa các gốc thay thế bảo toàn, các gốc thay thế trình tự liên ứng, các gốc thay thế dòng mầm và/hoặc các gốc đột biến ngược vào. Các phân tử globulin miễn dịch được thay đổi như vậy có thể được tạo ra bằng kỹ thuật bất kỳ trong số một vài kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, (*ví dụ*, Teng *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 80: 7308-7312, 1983; Kozbor *et al.*, Immunology Today, 4: 7279, 1983; Olsson *et al.*, Meth. Enzymol., 92: 3-16, 1982, và EP 239 400).

Thuật ngữ "kháng thể người", "cấu trúc kháng thể người" và "vùng liên kết của người" bao gồm các kháng thể, cấu trúc kháng thể và vùng liên kết có các vùng kháng thể như các vùng biến đổi và cố định hoặc các vùng mà hầu như tương ứng với các trình tự globulin miễn dịch dòng mầm của người đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm, ví dụ, các vùng, cấu trúc được mô tả trong tài liệu Kabat *et al.* (1991) (*loc. cit.*). Các kháng thể người, cấu trúc kháng thể hoặc vùng liên kết theo sáng chế có thể bao gồm các gốc axit amin không được mã hóa bởi các trình tự globulin miễn dịch dòng mầm của người (*ví dụ*, các gốc đột biến được đưa vào bằng cách gây đột biến ngẫu nhiên hoặc điểm đặc hiệu *in vitro* hoặc gây đột biến soma *in vivo*), ví dụ trong các CDR, và cụ thể là, trong CDR3. Các kháng thể người, cấu trúc kháng thể hoặc các vùng liên kết có thể có ít nhất một, hai, ba, bốn, năm, hoặc nhiều hơn năm vị trí được thay thế bằng gốc axit amin mà không được mã hóa bởi trình tự globulin miễn dịch dòng mầm của người. Định nghĩa về kháng thể người, cấu trúc kháng thể và các vùng liên kết như được sử dụng ở đây cũng bao gồm các kháng thể người đầy đủ, mà chỉ bao gồm các trình tự của người được thay đổi không nhân tạo và/hoặc di truyền của các kháng thể như các kháng thể có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các công nghệ hoặc các hệ thống như Xenomouse.

Theo một vài phương án, cấu trúc kháng thể theo sáng chế là các cấu trúc kháng thể "phân lập" hoặc "gần như tinh sạch". Thuật ngữ "phân lập" hoặc "gần như tinh sạch", nếu được sử dụng để mô tả các cấu trúc kháng thể được bộc lộ ở đây, có nghĩa là cấu trúc

kháng thể mà được xác định, phân tách và/hoặc thu hồi từ một thành phần của môi trường tổng hợp nó. Tốt hơn là, cấu trúc kháng thể không hoặc hầu như không đi kèm với tất cả các thành phần khác trong môi trường tổng hợp nó. Các thành phần tạp nhiễm trong môi trường tổng hợp kháng thể, như thành phần thu được từ các tế bào chuyển nhiễm tái tổ hợp, là các nguyên liệu mà thường can thiệp vào việc sử dụng polypeptit để chẩn đoán hoặc điều trị, và có thể bao gồm enzym, hormon, và các chất tan có hoặc không có protein khác. Cấu trúc kháng thể có thể chiếm ít nhất khoảng 5%, hoặc ít nhất khoảng 50% trọng lượng của tổng lượng protein trong một mẫu nhất định. Cần hiểu rằng protein phân lập có thể chiếm từ 5% đến 99,9% trọng lượng của tổng lượng protein, tùy trường hợp. Polypeptit có thể được tạo ra ở nồng độ cao hơn đáng kể bằng cách sử dụng trình tự khởi đầu dễ cảm ứng hoặc trình tự khởi đầu biểu hiện cao, nhờ vậy polypeptit có thể được tổng hợp ở mức nồng độ cao. Định nghĩa này bao gồm cả quy trình tổng hợp cấu trúc kháng thể trong nhiều vi sinh vật và/hoặc tế bào chủ mà đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Theo các phương án được ưu tiên, cấu trúc kháng thể sẽ được tinh sạch (1) đến mức đủ để thu được ít nhất 15 gốc của trình tự axit amin bên trong hoặc đầu tận cùng N bằng cách sử dụng thiết bị phân tích cấu trúc bậc một của protein kiểu cốc quay, hoặc (2) đến mức đồng nhất bằng kỹ thuật SDS-PAGE trong các điều kiện khử hoặc không khử sử dụng thuốc nhuộm xanh Coomassie hoặc, tốt hơn là, thuốc nhuộm bạc. Tuy nhiên, thông thường, cấu trúc kháng thể phân lập sẽ được tạo ra bằng ít nhất một bước tinh sạch.

Thuật ngữ "vùng liên kết" theo sáng chế có đặc điểm là vùng mà liên kết (đặc hiệu) với / tương tác với / nhận diện epitop đích nhất định hoặc vị trí đích nhất định trên phân tử đích (kháng nguyên), ở đây là: EGFRvIII và CD3, tương ứng. Cấu trúc và chức năng của vùng liên kết thứ nhất (nhận diện EGFRvIII), và tốt hơn là cả cấu trúc và/hoặc chức năng của vùng liên kết thứ hai (nhận diện CD3), được dựa trên cấu trúc và/hoặc chức năng của kháng thể, ví dụ của toàn bộ phân tử globulin miễn dịch hoặc có chiều dài đầy đủ. Theo sáng chế, vùng liên kết thứ nhất được đặc trưng bởi sự có mặt của ba CDR chuỗi nhẹ (tức là CDR1, CDR2 và CDR3 của vùng VL) và/hoặc ba CDR chuỗi nặng (tức là CDR1, CDR2 và CDR3 của vùng VH). Tốt hơn là, vùng liên kết thứ hai cũng đáp ứng các yêu cầu cấu trúc tối thiểu của kháng thể mà cho phép liên kết với đích. Tốt hơn nữa là, vùng liên kết thứ hai chứa ít nhất ba CDR chuỗi nhẹ (tức là CDR1, CDR2 và CDR3 của vùng VL) và/hoặc ba CDR chuỗi nặng (tức là CDR1, CDR2 và CDR3 của vùng VH). Được dự tính rằng vùng liên kết thứ nhất và/hoặc thứ hai được tạo ra bằng hoặc có thể

thu được bằng các phương pháp biểu hiện trên thể thực khuẩn hoặc sàng lọc thư viện chứ không phải là bằng cách ghép các trình tự CDR từ kháng thể hiện có (đơn dòng) vào khung protein.

Theo sáng chế, các vùng liên kết là ở dạng gồm một hoặc nhiều polypeptit. Các polypeptit như vậy bao gồm các phần protein và các phần không phải protein (ví dụ các phân tử liên kết hóa học hoặc các tác nhân liên kết ngang hóa học như glutaraldehyt). Các protein (bao gồm các đoạn của chúng, tốt hơn là các đoạn có hoạt tính sinh học, và các peptit, thường có dưới 30 axit amin) gồm hai hoặc nhiều axit amin liên kết với nhau thông qua liên kết peptit cộng hóa trị (tạo ra chuỗi axit amin). Thuật ngữ "polypeptit" như được sử dụng ở đây để chỉ một nhóm các phân tử, mà thường có nhiều hơn 30 axit amin. Polypeptit có thể còn tạo thành các multime như dime, trime và oligome cao, *tức là*, gồm có nhiều hơn một phân tử polypeptit. Các phân tử polypeptit tạo ra dime, trime v.v. như vậy có thể giống hoặc không giống nhau. Cấu trúc bậc cao hơn tương ứng của các multime này do đó, được gọi là homo- hoặc heterodime, homo- hoặc heterotrime v.v.. Một ví dụ về hereteromultime là phân tử kháng thể, ở dạng có nguồn gốc trong tự nhiên, gồm hai chuỗi nhẹ polypeptit giống nhau và hai chuỗi nặng polypeptit giống nhau. Thuật ngữ “peptit”, "polypeptit" và "protein" cũng được dùng để chỉ các peptit/polypeptit/protein được cải biến trong tự nhiên, trong đó cải biến này được tạo ra bởi cải biến sau dịch mã chẳng hạn như glycosyl hóa, axetyl hóa, phosphoryl hóa và cải biến tương tự. “Peptit”, "polypeptit" hoặc "protein" nếu được đề cập ở đây cũng có thể được cải biến hóa học như pegyl hóa. Các cải biến này là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này và được mô tả dưới đây.

Tốt hơn là vùng liên kết mà liên kết với EGFRvIII và/hoặc vùng liên kết mà liên kết với CD3 là các vùng liên kết của người. Kháng thể và cấu trúc kháng thể chứa ít nhất một vùng liên kết của người tránh được một vài vấn đề có liên quan đến kháng thể hoặc cấu trúc kháng thể có các vùng hằng định và/hoặc biến đổi không phải của người như của loài gặm nhấm (*ví dụ* chuột nhắt, chuột cống, chuột đuôi cụt hoặc thỏ). Sự có mặt các protein thu được từ loài gặm nhấm như vậy có thể dẫn đến sự thanh thải kháng thể hoặc cấu trúc kháng thể nhanh hoặc có thể gây ra đáp ứng miễn dịch chống lại kháng thể hoặc cấu trúc kháng thể bởi người bệnh. Để tránh sử dụng các kháng thể hoặc cấu trúc kháng thể có nguồn gốc từ loài gặm nhấm, kháng thể/cấu trúc kháng thể người hoặc người đầy

đủ có thể được tạo ra bằng cách đưa chức năng của kháng thể người vào loài gặm nhấm để loài gặm nhấm tạo ra kháng thể người đầy đủ.

Khả năng tách dòng và tái cấu trúc locut người có kích cỡ megabazơ trong YAC và đưa chúng vào dòng mầm của chuột nhắt tạo ra một phương pháp có hiệu quả để làm rõ các thành phần chức năng của các locut lớn hoặc được lập bản đồ sơ bộ cũng như là tạo ra các mô hình bệnh ở người hữu dụng. Hơn nữa, việc sử dụng công nghệ thay thế locut chuột nhắt bằng các locut tương đương của người như vậy có thể hình thành các quan niệm duy nhất về sự biểu hiện và điều hòa các sản phẩm gen của người trong quá trình phát triển, sự liên lạc của chúng với các hệ thống khác, và mối liên quan của chúng với sự cảm ứng và tiến triển bệnh.

Một ứng dụng thực tiễn quan trọng của chiến lược như vậy là "làm tương thích với người" hệ miễn dịch thể dịch của chuột nhắt. Việc đưa các locut globulin miễn dịch (Ig) của người vào chuột nhắt trong đó các gen Ig nội sinh được làm bất hoạt tạo ra cơ hội để nghiên cứu các cơ chế dẫn đến sự biểu hiện theo chương trình và tổ hợp các kháng thể cũng như là vai trò của chúng trong việc phát triển tế bào B. Hơn nữa, chiến lược này có thể tạo ra nguồn lý tưởng để tổng hợp kháng thể đơn dòng (mAb) của người đầy đủ – một mốc quan trọng để đáp ứng triển vọng liệu pháp kháng thể trong điều trị bệnh ở người. Các kháng thể người đầy đủ hoặc cấu trúc kháng thể được cho là làm giảm tối thiểu các đáp ứng dị ứng hoặc miễn dịch bên trong với mAb thu được từ chuột nhắt hoặc của chuột nhắt và do đó làm tăng hiệu quả và độ an toàn của các kháng thể/cấu trúc kháng thể được sử dụng. Việc sử dụng các kháng thể của người đầy đủ hoặc cấu trúc kháng thể có thể được cho là tạo ra ưu điểm đáng kể trong việc điều trị các bệnh mạn tính và tái phát ở người, như bệnh viêm, bệnh tự miễn, và bệnh ung thư, mà cần sử dụng hợp chất nhiều lần.

Một phương pháp hướng đến mục tiêu này là thao tác di truyền các chủng chuột nhắt bị thiết hụt quá trình tổng hợp kháng thể chuột nhắt với các đoạn lớn của locut Ig người với mong muốn là chuột nhắt này sẽ tổng hợp một kho lớn các kháng thể của người khi không có mặt kháng thể chuột nhắt. Các đoạn Ig lớn của người sẽ bảo toàn được tính đa dạng gen biến thiên lớn cũng như là điều hòa quá trình tổng hợp và biểu hiện kháng thể một cách thích hợp. Bằng cách khai thác cơ chế xen trồng nhiều loại và chọn lọc kháng thể ở chuột nhắt và sự thiếu dung nạp miễn dịch với các protein của người, kho kháng thể người tạo ra ở các chủng chuột nhắt này sẽ tạo ra các kháng thể có

ái lực cao kháng kháng nguyên quan tâm bất kỳ, kể cả kháng nguyên của người. Bằng cách sử dụng công nghệ tế bào lai, mAb người đặc hiệu kháng nguyên có tính đặc hiệu mong muốn có thể dễ dàng được tổng hợp và chọn lọc. Chiến lược chung này đã được chứng minh là có liên quan đến việc tạo ra chủng chuột nhắt Xenomouse thứ nhất (xem tài liệu Green et al. Nature Genetics 7:13-21 (1994)). Chủng chuột nhắt Xenomouse được thao tác di truyền với các nhiễm sắc thể nhân tạo của nấm men (yeast artifical chromosome-YAC) chứa các đoạn cấu trúc dòng mầm có kích thước 245kb và 190kb của locut chuỗi nặng của người và locut chuỗi nhẹ kappa, tương ứng mà chứa các trình tự lõi vùng biến đổi và cố định. YAC chứa Ig của người đã được chứng minh là tương thích với hệ chuột nhắt cả về sắp xếp lại và biểu hiện các kháng thể và có khả năng thay thế cho các gen Ig chuột nhắt đã bất hoạt. Điều này đã được chứng minh bằng khả năng cảm ứng sự phát triển tế bào B của chúng, khả năng tạo ra kho kháng thể người đầy đủ giống người trưởng thành, và khả năng tạo ra mAb của người đặc hiệu kháng nguyên. Các kết quả này cũng gợi ý rằng việc đưa các phần lớn của locut Ig người chứa số gen V lớn hơn, các yếu tố điều hòa khác và vùng hằng định Ig của người vào gần như có thể tạo ra kho đầy đủ mà đặc trưng của đáp ứng thể dịch của người với sự lây nhiễm và gây miễn dịch. Công trình nghiên cứu của Green et al. gần đây đã mở rộng nghiên cứu đến việc đưa kho kháng thể người với lượng lớn hơn 80% vào nhờ đó đưa các đoạn cấu hình YAC cấu hình dòng mầm của locut chuỗi nặng của người và locut chuỗi nhẹ kappa, tương ứng. Xem tài liệu Mendez *et al.* Nature Genetics 15:146-156 (1997) và đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 08/759,620.

Quy trình tổng hợp kháng thể của chuột nhắt XenoMouse còn được bàn luận và mô tả trong các đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 07/466,008, 07/610,515, 07/919,297, 07/922,649, 08/031,801, 08/112,848, 08/234,145, 08/376,279, 08/430,938, 08/464,584, 08/464,582, 08/463,191, 08/462,837, 08/486,853, 08/486,857, 08/486,859, 08/462,513, 08/724,752, và 08/759,620; và patent Mỹ số 6,162,963; 6,150,584; 6,114,598; 6,075,181, và 5,939,598 và patent Nhật số 3 068 180 B2, 3 068 506 B2, và 3 068 507 B2. Cũng xem tài liệu Mendez *et al.* Nature Genetics 15:146-156 (1997) và Green and Jakobovits J. Exp. Med. 188:483-495 (1998), patent châu Âu số EP 0 463 151 B1, công bố đơn quốc tế số WO 94/02602, WO 96/34096, WO 98/24893, WO 00/76310, và WO 03/47336.

Theo một phương án khác, các quy trình tổng hợp khác bao gồm GenPharm International, Inc., đã sử dụng phương pháp "tiểu locut". Theo phương pháp tiểu locut,

locut Ig ngoại sinh được bắt chước nhờ bao gồm các mảnh (các gen riêng biệt) từ locut Ig. Do đó, một hoặc nhiều gen VH, một hoặc nhiều gen DH, một hoặc nhiều gen JH, vùng hằng định mu, và vùng hằng định thứ hai (tốt hơn là vùng hằng định gama) được tạo thành một cấu trúc để đưa vào động vật. Phương pháp này được mô tả trong patent Mỹ số 5,545,807 của Surani et al. và các patent Mỹ số 5,545,806; 5,625,825; 5,625,126; 5,633,425; 5,661,016; 5,770,429; 5,789,650; 5,814,318; 5,877,397; 5,874,299; và 6,255,458 của Lonberg và Kay, các patent Mỹ số 5,591,669 và 6,023.010 của Krimpenfort và Berns, các patent Mỹ số 5,612,205; 5,721,367; và 5,789,215 của Berns et al., và patent Mỹ số 5,643,763 của Choi và Dunn, và đơn yêu cầu cấp patent Mỹ của GenPharm International số 07/574,748, 07/575,962, 07/810,279, 07/853,408, 07/904,068, 07/990,860, 08/053,131, 08/096,762, 08/155,301, 08/161,739, 08/165,699, 08/209,741. Cũng xem patent châu Âu số EP 0 546 073 B1, công bố đơn quốc tế số WO 92/03918, công bố đơn quốc tế số WO 92/22645, công bố đơn quốc tế số WO 92/22647, công bố đơn quốc tế số WO 92/22670, công bố đơn quốc tế số WO 93/12227, công bố đơn quốc tế số WO 94/00569, công bố đơn quốc tế số WO 94/25585, công bố đơn quốc tế số WO 96/14436, công bố đơn quốc tế số WO 97/13852, và công bố đơn quốc tế số WO 98/24884 và patent Mỹ số 5,981,175. Xem thêm tài liệu Taylor *et al.* (1992), Chen *et al.* (1993), Tuaillon *et al.* (1993), Choi *et al.* (1993), Lonberg *et al.* (1994), Taylor *et al.* (1994), và Tuaillon *et al.* (1995), Fishwild *et al.* (1996).

Kirin cũng đã mô tả việc tạo ra các kháng thể người từ chuột, trong đó, bằng cách dung hợp tiểu tế bào, các đoạn nhiễm sắc thể lớn, hoặc toàn bộ nhiễm sắc thể, được đưa vào. Xem đơn yêu cầu cấp patent châu Âu số 773 288 và 843 961. Xenerex Biosciences đang triển khai công nghệ tạo ra các kháng thể người tiềm năng. Trong công nghệ này, chuột nhắt SCID được tái thiết bằng các tế bào lympho của người, ví dụ, các tế bào B và/hoặc T. Sau đó chuột được gây miễn dịch bằng kháng nguyên và có thể tạo ra đáp ứng miễn dịch chống lại kháng nguyên này. Xem các patent Mỹ số 5,476,996; 5,698,767; và 5,958,765.

Các đáp ứng của kháng thể người kháng chuột nhắt (human anti-mouse antibody-HAMA) đã khiến cho ngành công nghiệp bào chế kháng thể khảm hay mặt khác được làm tương thích với người. Tuy nhiên được cho rằng các đáp ứng kháng thể người kháng khảm nhất định (human anti-chimeric antibody-HACA) sẽ được theo dõi, cụ thể là việc sử dụng kháng thể đa liều hoặc thường xuyên. Do đó, mong muốn tạo ra cấu trúc kháng

thể chứa vùng liên kết của người kháng EGFRvIII và vùng liên kết của người kháng CD3 để loại bỏ các quan ngại và/hoặc các tác động của đáp ứng HAMA hoặc HACA.

Thuật ngữ "liên kết (đặc hiệu)", nhận diện (đặc hiệu) ", "nhằm vào (đặc hiệu)", và "phản ứng (đặc hiệu) với" theo sáng chế có nghĩa là vùng liên kết tương tác hoặc tương tác đặc hiệu với epitop nhất định hoặc vị trí đích nhất định trên các phân tử đích (kháng nguyên), ở đây là: EGFRvIII và CD3, tương ứng.

Thuật ngữ "epitop" được dùng để chỉ vị trí trên kháng nguyên mà vùng liên kết, như kháng thể hoặc globulin miễn dịch, hoặc dẫn xuất, đoạn hoặc biến thể của kháng thể hoặc globulin miễn dịch, gắn đặc hiệu vào. "Epitop" có tính kháng nguyên và do đó thuật ngữ epitop ở đây đôi khi được dùng để chỉ là "cấu trúc kháng nguyên" hay "quyết định kháng nguyên". Do đó, vùng liên kết là "vị trí tương tác với kháng nguyên". Việc liên kết/tương tác như vậy cũng được hiểu là "nhận diện đặc hiệu".

"Epitop" có thể được tạo ra bằng các axit amin kế tiếp hoặc không kế tiếp được đặt kề nhau bằng cách gấp bậc ba protein. "Epitop tuyến tính" là một epitop trong đó trình tự axit amin sơ cấp chứa epitop được nhận diện. Epitop tuyến tính thường chứa ít nhất 3 hoặc ít nhất 4, và thông thường hơn, ít nhất 5 hoặc ít nhất 6 hoặc ít nhất 7, ví dụ, khoảng 8 đến 10 axit amin trong một trình tự duy nhất.

"Epitop cấu hình", ngược với epitop tuyến tính, là một epitop trong đó trình tự axit amin sơ cấp chứa epitop không phải là thành phần xác định duy nhất của epitop được nhận diện (*ví dụ*, epitop trong đó trình tự axit amin sơ cấp không cần được nhận diện bởi vùng liên kết). Thông thường, epitop cấu hình có một số axit amin nhiều hơn so với epitop tuyến tính. Liên quan đến việc nhận diện các epitop cấu hình, vùng liên kết nhận diện cấu trúc ba chiều của kháng nguyên, tốt hơn là peptit hoặc protein hoặc đoạn của chúng (trong phạm vi sáng chế, cấu trúc kháng nguyên cho một trong số các vùng liên kết được bao gồm trong protein EGFRvIII). Ví dụ, nếu một phân tử protein cuộn gấp để tạo thành cấu trúc ba chiều, thì một số axit amin nhất định và/hoặc khung polypeptit tạo nên epitop cấu hình sẽ được đặt kề nhau cho phép kháng thể nhận diện được epitop. Các phương pháp xác định cấu hình epitop bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tinh thể học tia X, quang phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều (two-dimensional nuclear magnetic resonance-2D-NMR) và đánh dấu spin hướng vị trí và quang phổ cộng hưởng thuận từ điện tử (electron paramagnetic resonance-EPR).

Phương pháp lập bản đồ epitop được mô tả như sau: khi vùng (đoạn duỗi axit amin liên tiếp) trong protein EGFRvIII của người được trao đổi/thay thế bằng vùng tương ứng của kháng nguyên EGFRvIII không phải của người và không phải của động vật linh trưởng (ví dụ, EGFRvIII chuột nhắt, tuy nhiên các kháng nguyên khác như của gà, chuột cống, chuột đuôi cụt, thỏ v.v. cũng có thể chấp nhận được), thì sự giảm liên kết của vùng liên kết được cho là đã xảy ra, trừ khi vùng liên kết phản ứng chéo với EGFRvIII không phải của người, không phải của động vật linh trưởng được sử dụng. Tốt hơn là mức giảm này ít nhất là 10%, 20%, 30%, 40%, hoặc 50%; tốt hơn nữa là ít nhất 60%, 70%, hoặc 80%, và tốt nhất là 90%, 95% hoặc thậm chí 100% so với việc liên kết với vùng tương ứng trong protein EGFRvIII của người, trong đó mức liên kết với vùng tương ứng trong protein EGFRvIII của người được đặt bằng 100%.

Một phương pháp khác để xác định mức đóng góp của các gốc đặc hiệu của kháng nguyên đích vào việc nhận diện cấu trúc kháng thể hoặc vùng liên kết là sàng lọc alanin (xem tài liệu ví dụ Morrison KL & Weiss GA. Cur Opin Chem Biol. 2001 Jun;5(3):302-7), trong đó mỗi gốc phân tích được thay thế bằng alanin, ví dụ nhờ đột biến điểm định hướng. Alanin được sử dụng nhờ nhóm chức metyl, trơ về mặt hóa học, nhỏ mà hơn nữa còn bắt chước các mẫu cấu trúc bậc hai mà nhiều axit amin khác có. Đôi khi axit amin lớn như valin hoặc leuxin có thể được sử dụng trong các trường hợp mà mong muốn bảo toàn kích thước của các gốc đột biến. Sàng lọc alanin là công nghệ tiên tiến đã được sử dụng trong một thời gian dài.

Tương tác giữa vùng liên kết và epitop hoặc vùng chứa epitop có nghĩa có nghĩa là vùng liên kết thể hiện ái lực thích hợp với epitop/vùng chứa epitop trên một protein hoặc kháng nguyên cụ thể (ở đây là: EGFRvIII và CD3, tương ứng) và, nói chung, không thể hiện khả năng phản ứng nhiều với các protein hoặc kháng nguyên ngoài EGFRvIII hoặc CD3. "Ái lực thích hợp" bao gồm liên kết với ái lực bằng 10^{-6} M (KD) hoặc lớn hơn. Tốt hơn là, việc liên kết được coi là đặc hiệu nếu ái lực liên kết nằm trong khoảng từ 10^{-12} đến 10^{-8} M, từ 10^{-12} đến 10^{-9} M, từ 10^{-12} đến 10^{-10} M, từ 10^{-11} đến 10^{-8} M, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 10^{-11} đến 10^{-9} M. Vùng liên kết có phản ứng hoặc liên kết đặc hiệu với đích hay không có thể dễ dàng được kiểm tra bằng cách, *không kể các cách khác*, so sánh phản ứng giữa vùng liên kết này với protein hoặc kháng nguyên đích với phản ứng giữa vùng liên kết này với các protein hoặc kháng nguyên ngoài EGFRvIII hoặc CD3. Tốt hơn là, vùng liên kết theo sáng chế hầu như hoặc về cơ bản không liên kết với các protein

hoặc kháng nguyên ngoài EGFRvIII hoặc CD3 (*tức là*, vùng liên kết thứ nhất không có khả năng liên kết với các protein khác ngoài EGFRvIII và vùng liên kết thứ hai không có khả năng liên kết với các protein khác ngoài CD3).

Thuật ngữ "hầu như không/về cơ bản không liên kết" hoặc "không có khả năng liên kết" có nghĩa là vùng liên kết theo sáng chế không liên kết với protein hoặc kháng nguyên khác ngoài EGFRvIII hoặc CD3, *tức là*, có mức phản ứng không quá 30%, tốt hơn là không quá 20%, tốt hơn nữa là không quá 10%, đặc biệt tốt hơn là không quá 9%, 8%, 7%, 6% hoặc 5% với các protein hoặc kháng nguyên khác ngoài EGFRvIII hoặc CD3, trong đó mức liên kết với EGFRvIII hoặc CD3, tương ứng, được đặt bằng 100%.

Liên kết đặc hiệu được cho là bị ảnh hưởng bởi các motip cụ thể trong trình tự axit amin của vùng liên kết và kháng nguyên. Do đó, việc liên kết đạt được là nhờ các cấu trúc bậc một, bậc hai và/hoặc bậc ba cũng như là nhờ các cải biến thứ cấp các cấu trúc này. Tương tác đặc hiệu giữa vị trí tương tác kháng nguyên với kháng nguyên đặc hiệu có thể dẫn đến sự liên kết đơn giản vị trí này với kháng nguyên. Hơn nữa, theo cách khác hoặc ngoài ra tương tác đặc hiệu giữa vị trí liên kết kháng nguyên với kháng nguyên đặc hiệu có thể còn dẫn đến sự khởi đầu truyền tín hiệu, *ví dụ* do gây ra sự thay đổi cấu hình của kháng nguyên, oligome hóa kháng nguyên, v.v..

Epitop của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép theo sáng chế được đặt ở điểm nối đặc hiệu với EGFRvIII giữa các gốc axit amin 5 và 274 của EGFR, kết quả từ sự đột biến của EGFR đối với đột biến cắt ở vị trí EGFRvIII. Đột biến này loại bỏ các gốc 2-273 của trình tự EGFR đầy đủ trong khi đột biến này đưa vào một gốc glyxin duy nhất (xem Fig.1).

Theo một phương án của sáng chế, tốt hơn nếu vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 epsilon của người và với CD3 epsilon của *Callithrix jacchus, Saguinus Oedipus* hoặc *Saimiri sciureus.*

Thuật ngữ "biến đổi" được dùng để chỉ các phần của kháng thể hoặc các vùng globulin miễn dịch thể hiện tính biến đổi trong trình tự của chúng và có liên quan đến việc quyết định tính đặc hiệu và ái lực liên kết của một kháng thể cụ thể (tức là, "các vùng biến đổi"). Việc bắt cặp chuỗi nặng biến đổi (VH) và chuỗi nhẹ biến đổi (VL) cùng nhau tạo ra vị trí liên kết kháng nguyên đơn.

Tính biến đổi không được phân bố đồng đều ở các vùng biến đổi của kháng thể; nó chỉ tập trung ở các phân vùng của mỗi vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng. Các

phân vùng này được gọi là "vùng siêu biến" hoặc "vùng quyết định bổ trợ" (complementarity determining region-CDR). Các phần được bảo toàn hơn (tức là, không siêu biến) của các vùng biến đổi được gọi là vùng "khung" (FRM hoặc FR) và tạo ra khung protein cho sáu CDR trong không gian ba chiều để tạo ra bề mặt liên kết với kháng nguyên. Mỗi vùng biến đổi của các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng có nguồn gốc trong tự nhiên chứa bốn vùng FRM (FR1, FR2, FR3, và FR4), chủ yếu theo cấu hình tấm β, được nối với ba vùng siêu biến, mà tạo ra các vòng nối, và trong một vài trường hợp tạo nên một phần cấu trúc tấm β. Các vùng siêu biến trong mỗi chuỗi được bố trí cùng nhau gần với FRM và, với các vùng siêu biến từ chuỗi còn lại, cấu thành ra vị trí liên kết với kháng nguyên (xem tài liệu Kabat *et al.*, *loc. cit.*).

Thuật ngữ "CDR", và thuật ngữ số nhiều "các CDR", được dùng để chỉ vùng quyết định bổ trợ mà trong số đó ba vùng tạo nên đặc tính liên kết của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (CDR-L1, CDR-L2 và CDR-L3) và ba vùng tạo nên đặc tính liên kết của vùng biến đổi chuỗi nặng (CDR-H1, CDR-H2 và CDR-H3). Các CDR chứa hầu hết các gốc chịu trách nhiệm cho các tương tác đặc hiệu của kháng thể với kháng nguyên và do đó góp phần tạo nên hoạt tính chức năng của phân tử kháng thể: chúng là các yếu tố quyết định chính của tính đặc hiệu kháng nguyên.

Ranh giới và chiều dài CDR xác định chính xác được đánh số và phân loại theo các hệ đánh số và phân loại khác nhau. Do đó, các CDR có thể được dùng để chỉ tiếp xúc Kabat, Chothia hoặc định nghĩa ranh giới khác bất kỳ, bao gồm hệ đánh số được mô tả ở đây. Mặc dù các định nghĩa ranh giới khác nhau, nhưng mỗi hệ đánh số này có mức chồng chéo nhất định ở các vùng cấu thành nên vùng được gọi là "các vùng siêu biến" trong các trình tự biến đổi. Các định nghĩa CDR theo các hệ thống này có thể khác nhau về chiều dài và các vùng ranh giới đối với vùng khung liền kề. Xem ví dụ Kabat (một phương pháp dựa trên tính biến đổi trình tự chéo loài), Chothia (một phương pháp dựa trên các nghiên cứu tinh thể học của các phức hợp kháng nguyên-kháng thể), và/hoặc MacCallum (Kabat *et al.*, *loc. cit.*; Chothia *et al.*, J. MoI. Biol, 1987, 196: 901-917; và MacCallum *et al.*, J. MoI. Biol, 1996, 262: 732). Một phương pháp chuẩn khác để xác định vị trí liên kết kháng nguyên là định nghĩa AbM được sử dụng bởi phần mềm lập mô hình kháng thể AbM của công ty Oxford Molecular. Xem tài liệu, *ví dụ*, Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains. In: Antibody Engineering Lab Manual (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag,

Heidelberg). Miễn là hai kỹ thuật xác định gốc này xác định được các vùng chồng chéo nhau, nhưng không phải là các vùng giống nhau, chúng có thể được kết hợp với nhau để xác định CDR lai. Tuy vậy, việc đánh số theo hệ thống được gọi là Kabat được ưu tiên hơn.

Thông thường, CDR tạo ra cấu trúc vòng mà có thể được phân loại là cấu trúc chính tắc. Thuật ngữ "cấu trúc chính tắc" được dùng để chỉ cấu hình chuỗi chính mà được chấp nhận bởi các vòng liên kết kháng nguyên (CDR). Từ nghiên cứu so sánh cấu trúc, đã nhận thấy rằng chỉ năm trong số sáu vòng liên kết với kháng nguyên có kho cấu hình có thể dùng được giới hạn. Mỗi cấu trúc chính tắc có thể được đặc trưng bởi các góc xoắn của khung polypeptit. Do đó, các vòng tương ứng giữa các kháng thể có thể có cấu trúc ba chiều tương tự nhau, mặc dù hầu hết các phần của các vòng đều có tính biến đổi trình tự axit amin cao (Chothia and Lesk, J. MoI. Biol., 1987, 196: 901; Chothia *et al.*, Nature, 1989, 342: 877; Martin and Thornton, J. MoI. Biol, 1996, 263: 800). Hơn nữa, có mối quan hệ giữa cấu trúc vòng được chấp nhận và trình tự axit amin quanh nó. Cấu trúc của lớp chính tắc cụ thể được xác định bằng chiều dài vòng và các gốc axit amin nằm ở các vị trí chính trong vòng, cũng như là trong khung được bảo toàn (*tức là*, bên ngoài vòng). Do đó việc xác định lớp chính tắc cụ thể có thể được tiến hành dựa trên sự có mặt của các gốc axit amin chính này.

Thuật ngữ "cấu trúc chính tắc" cũng bao gồm cả trình tự tuyến tính của kháng thể, ví dụ, như được phân loại bởi Kabat (Kabat *et al.*, loc. cit.). Sơ đồ đánh số Kabat (hệ thống) được chấp nhận rộng rãi làm chuẩn để đánh số các gốc axit amin của vùng biến đổi kháng thể theo cách phù hợp và là sơ đồ được ưu tiên để áp dụng trong sáng chế như được đề cập ở đây. Các phương pháp nghiên cứu cấu trúc khác cũng có thể được sử dụng để xác định cấu trúc chính tắc của kháng thể. Ví dụ, các gốc khác nhau không được phản ánh đầy đủ bằng hệ đánh số Kabat có thể được mô tả bằng hệ đánh số của Chothia *et al.* và/hoặc được bộc lộ bằng các kỹ thuật khác, ví dụ, kỹ thuật tinh thể học và lập mô hình bằng máy tính cấu trúc hai chiều hoặc ba chiều. Do đó, trình tự kháng thể nhất định có thể được xếp vào lớp chính tắc mà cho phép, không kể các vấn đề khác, xác định trình tự khung thích hợp (*ví dụ*, dựa vào mong muốn bao gồm nhiều cấu trúc chính tắc trong thư viện). Đánh số Kabat trình tự axit amin của kháng thể và phương pháp nghiên cứu cấu trúc được mô tả bởi tài liệu Chothia *et al.*, *loc. cit.* và mối liên quan của chúng trong việc phân tích các khía cạnh chính của cấu trúc kháng thể, như được mô tả trong tài liệu tham

khảo. Cấu trúc dưới phân tử và cấu hình ba chiều của các lớp globulin miễn dịch khác nhau là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Để xem xét cấu trúc kháng thể, xem tài liệu Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, eds. Harlow *et al.*, 1988.

CDR3 của chuỗi nhẹ và đặc biệt là CDR3 của chuỗi nặng có thể cấu thành nên các yếu tố quyết định quan trọng nhất trong việc liên kết kháng nguyên ở các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ. Trong một vài cấu trúc kháng thể, CDR3 chuỗi nặng dường như là cấu thành nên vùng tiếp xúc chính giữa kháng thể và kháng nguyên. Sơ đồ chọn lọc *in vitro* trong đó một mình CDR3 được biến đổi có thể được sử dụng để làm thay đổi các đặc tính liên kết của kháng thể hoặc xác định các gốc góp phần cho việc liên kết của kháng nguyên. Do đó, CDR3 thường là nguồn đa dạng phân tử lớn nhất trong vị trí liên kết kháng thể. H3, ví dụ, có thể có chiều dài ngắn gồm hai gốc axit amin hoặc nhiều hơn 26 axit amin.

Trong kháng thể hoặc globulin miễn dịch có chiều dài đầy đủ thông thường, mỗi chuỗi nhẹ (L) được liên kết với chuỗi nặng (H) bằng một liên kết disulfua cộng hóa trị, trong khi đó hai chuỗi H được liên kết với nhau bằng một hoặc nhiều liên kết disulfua tùy thuộc vào isotyp chuỗi H. Vùng CH gần nhất với VH thường được gọi là CH1. Vùng hằng định ("C") không trực tiếp tham gia vào việc liên kết kháng nguyên, nhưng thể hiện các chức năng tác động khác nhau, như tính độc tế bào qua trung gian tế bào, phụ thuộc kháng thể và hoạt hóa bổ thể. Vùng Fc của kháng thể được bao gồm trong các vùng hằng định của chuỗi nặng và có thể tương tác với các thụ thể Fc trên bề mặt tế bào chẳng hạn.

Trình tự của các gen kháng thể sau khi lắp ghép và đột biến soma bị biến đổi nhiều, và các gen biến đổi này được ước tính mã hóa 10^{10} phân tử kháng thể khác nhau (Immunoglobulin Genes, 2nd ed., eds. Jonio et al., Academic Press, San Diego, CA, 1995). Do đó, hệ miễn dịch tạo ra kho globulin miễn dịch. Thuật ngữ "kho" được dùng để chỉ ít nhất một trình tự nucleotit thu được từ toàn bộ hoặc một phần của ít nhất một trình tự mã hóa ít nhất một globulin miễn dịch. (Các) trình tự này có thể được tạo ra bằng cách sắp xếp lại *in vivo* các đoạn V, D, và J của chuỗi nặng, và các đoạn V và J của chuỗi nhẹ. Theo cách khác, (các) trình tự có thể được tạo ra khi tế bào đáp ứng với việc sắp xếp lại, ví dụ, kích thích *in vitro*. Theo cách khác, một phần hoặc toàn bộ (các) trình tự có thể được tạo ra bằng cách tách intron ADN, tổng hợp nucleotit, gây đột biến, và các phương

pháp khác, xem, ví dụ, patent Mỹ số 5,565,332. Kho có thể chỉ chứa một trình tự hoặc có thể bao gồm nhiều trình tự, kể cả các trình tự trong bộ sưu tập tính đa dạng di truyền.

Thuật ngữ "đặc hiệu kép" như được sử dụng ở đây được dùng để chỉ cấu trúc kháng thể mà "ít nhất đặc hiệu kép", *tức là*, cấu trúc kháng thể ít nhất chứa một vùng liên kết thứ nhất và vùng liên kết thứ hai, trong đó vùng liên kết thứ nhất liên kết với một kháng nguyên hoặc đích (ở đây là: EGFRvIII), và vùng liên kết thứ hai liên kết với kháng nguyên hoặc đích khác (ở đây là: CD3). Do đó, cấu trúc kháng thể theo sáng chế có các tính đặc hiệu với ít nhất hai kháng nguyên hoặc đích khác nhau. Thuật ngữ "cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép" theo sáng chế cũng bao gồm các cấu trúc kháng thể đa đặc hiệu như các cấu trúc kháng thể đặc hiệu ba, cấu trúc kháng thể này bao gồm ba vùng liên kết, hoặc các cấu trúc có nhiều hơn ba (ví dụ, bốn, năm…) tính đặc hiệu.

Mặc dù cấu trúc kháng thể theo sáng chế là (ít nhất) đặc hiệu kép, các cấu trúc này không có nguồn gốc trong tự nhiên và chúng khác biệt rõ rệt so với các sản phẩm có nguồn gốc trong tự nhiên. Do vậy, cấu trúc kháng thể hoặc globulin miễn dịch "đặc hiệu kép" là một kháng thể hoặc globulin miễn dịch lai nhân tạo có ít nhất hai vị trí liên kết riêng biệt với các tính đặc hiệu khác nhau. Cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép có thể được tạo ra bằng nhiều phương pháp bao gồm dung hợp các tế bào lai hoặc liên kết các đoạn Fab'. Xem tài liệu, ví dụ, Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990).

Ít nhất hai vùng liên kết và các vùng biến đổi của cấu trúc kháng thể theo sáng chế có thể có hoặc không chứa các mối liên kết peptit (các peptit đệm). Thuật ngữ "mối liên kết peptit" theo sáng chế là trình tự axit amin mà qua đó các trình tự axit amin của một vùng (biến đổi và/hoặc liên kết) và vùng khác (biến đổi và/hoặc liên kết) của cấu trúc kháng thể theo sáng chế được liên kết với nhau. Một đặc điểm kỹ thuật cơ bản của mối liên kết peptit như vậy là trình tự này không có hoạt tính polyme hóa. Trong số các mối liên kết peptit thích hợp là các trình tự được mô tả trong patent Mỹ số 4,751,180 và 4,935,233 hoặc công bố đơn quốc tế số WO 88/09344. Các mối liên kết peptit cũng có thể được sử dụng để liên kết các vùng hoặc các phân tử hoặc các vùng khác (như vùng kéo dài thời gian bán thải) với cấu trúc kháng thể theo sáng chế.

Trong trường hợp mà trình tự liên kết được sử dụng, tốt hơn là trình tự liên kết này có chiều dài và trình tự thích hợp để đảm bảo rằng mỗi trong số các vùng thứ nhất và thứ hai có thể, độc lập với nhau, giữ lại các tính đặc hiệu liên kết khác nhau của chúng. Đối

với các mối liên kết peptit mà nối ít nhất hai vùng liên kết (hoặc hai vùng biến đổi) trong cấu trúc kháng thể theo sáng chế, các mối liên kết peptit được ưu tiên này là các trình tự chỉ chứa một vài gốc axit amin, *ví dụ* 12 gốc axit amin hoặc ít hơn. Do đó, các mối liên kết peptit gồm có 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 hoặc 5 các gốc axit amin được ưu tiên. Mối liên kết peptit được dự tính có ít hơn 5 axit amin bao gồm 4, 3, 2 hoặc một axit amin, trong đó các trình tự liên kết giàu Gly được ưu tiên. Axit amin "đơn" đặc biệt được ưu tiên trong trường hợp "mối liên kết peptit" này là Gly. Do đó, mối liên kết peptit này có thể gồm một axit amin Gly. Một phương án được ưu tiên khác về mối liên kết peptit được đặc trưng bởi trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, tức là Gly_4Ser (SEQ ID NO: 1), hoặc các polyme của nó, tức là $(Gly_4Ser)x$, trong đó x là một số nguyên bằng 1 hoặc lớn hơn (ví dụ 2 hoặc 3). Trình tự liên kết được ưu tiên được thể hiện trong trình tự SEQ ID NO: 1 đến 9. Các đặc tính của mối liên kết peptit này mà bao gồm cả việc không thúc đẩy các cấu trúc thứ cấp, là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và được mô tả trong tài liệu của ví dụ Dall'Acqua et al. (Biochem. (1998) 37, 9266-9273), Cheadle et al. (Mol Immunol (1992) 29, 21-30) và Raag and Whitlow (FASEB (1995) 9(1), 73-80). Các mối liên kết peptit mà không thúc đẩy thêm các cấu trúc thứ cấp bất kỳ được ưu tiên. Liên kết các vùng này với nhau có thể được đề cập, *ví dụ*, bằng kỹ thuật di truyền, như được mô tả trong các ví dụ. Các phương pháp tạo ra các cấu trúc mạch đơn đặc hiệu kép được liên kết hoạt động được và được dung hợp và biểu hiện chúng trong các tế bào của động vật có vú hoặc vi khuẩn là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này (*ví dụ* công bố đơn quốc tế số WO 99/54440 hoặc Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2001).

Như được mô tả trên đây, sáng chế đề cập đến một phương án được ưu tiên trong đó cấu trúc kháng thể là ở dạng được chọn từ nhóm bao gồm $(scFv)_2$, mAb đơn vùng-scFv, đoạn kháng thể nhị hợp và oligome của dạng bất kỳ trong số các dạng này.

Theo một phương án đặc biệt được ưu tiên, và như được mô tả trong các ví dụ đi kèm, cấu trúc kháng thể theo sáng chế là "cấu trúc kháng thể mạch đơn đặc hiệu kép", cụ thể hơn là "Fv mạch đơn" (single chain Fv-scFv) đặc hiệu kép. Mặc dù hai vùng của đoạn Fv, VL và VH, được mã hóa bởi các gen riêng biệt, nhưng chúng có thể được nối với nhau, bằng cách sử dụng các phương pháp tái tổ hợp, bằng trình tự liên kết tổng hợp – như được mô tả trên đây – mà cho phép chúng được tạo ra ở dạng mạch protein đơn trong đó cặp vùng VL và VH tạo ra phân tử hóa trị một; xem tài liệu *ví dụ*, Huston et al.

(1988) Proc. Natl. Acad. Sci USA 85:5879-5883). Các đoạn kháng thể này được tạo ra bằng các kỹ thuật thông thường đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, và các đoạn được đánh giá chức năng theo cách giống như đánh giá chức năng của nguyên kháng thể hoặc kháng thể có chiều dài đầy đủ. Do đó, đoạn biến đổi mạch đơn (scFv) là một protein dung hợp của vùng biến đổi của chuỗi nặng (VH) và của chuỗi nhẹ (VL) của globulin miễn dịch, thường được nối bằng một mối liên kết peptit ngắn có khoảng mười đến 25 axit amin, tốt hơn là khoảng từ 15 đến 20 axit amin. Trình tự liên kết này thường giàu glyxin cần cho tính linh động, cũng như là serin hoặc threonin cần cho độ hòa tan, và có thể nối đầu tận cùng N của VH với đầu tận cùng C của VL, hoặc ngược lại. Protein này vẫn giữ lại được tính đặc hiệu của globulin miễn dịch gốc, mặc dù đã loại bỏ các vùng hằng định và đưa vào mối liên kết.

Các phân tử mạch đơn đặc hiệu kép là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 99/54440, Mack, J. Immunol. (1997), 158, 3965-3970, Mack, PNAS, (1995), 92, 7021-7025, Kufer, Cancer Immunol. Immunother., (1997), 45, 193-197, Löffler, Blood, (2000), 95, 6, 2098-2103, Brühl, Immunol., (2001), 166, 2420-2426, Kipriyanov, J. Mol. Biol., (1999), 293, 41-56. Các kỹ thuật tổng hợp kháng thể mạch đơn được mô tả (xem tài liệu, *không kể các tài liệu khác*, Patent Mỹ số 4,946,778, Kontermann and Dübel (2010), *loc. cit.* và Little (2009), *loc. cit.*) có thể được tiến hành để tổng hợp cấu trúc kháng thể mạch đơn nhận diện đặc hiệu (các) đích được chọn.

Các đoạn biến đổi mạch đơn lưỡng trị (còn được gọi là có hóa trị hai) hoặc các đoạn biến đổi mạch đơn đặc hiệu kép (bi-scFvs hoặc di-scFvs có dạng $(scFv)_2$ có thể được thao tác di truyền bằng cách liên kết hai phân tử scFv (*ví dụ,* bằng các mối liên kết như được mô tả trên đây). Nếu hai phân tử scFv này có tính đặc hiệu liên kết như nhau, thì tốt hơn là phân tử $(scFv)_2$ tạo ra sẽ được gọi là có lưỡng trị (*tức là* phân tử này có hai hóa trị đối với cùng một epitop đích). Nếu hai phân tử scFv có tính đặc hiệu liên kết khác nhau, thì phân tử $(scFv)_2$ tạo ra tốt hơn là sẽ được gọi là đặc hiệu kép. Việc liên kết này có thể được tiến hành bằng cách tạo ra một mạch peptit đơn có hai vùng VH và hai vùng VL, thu được các scFv liên tiếp (xem tài liệu, *ví dụ* Kufer P. *et al.*, (2004) Trends in Biotechnology 22(5):238-244). Một khả năng khác là tạo ra các phân tử scFv với các peptit liên kết mà quá ngắn để hai vùng biến đổi gấp lại với nhau (*ví dụ,* khoảng năm axit amin), buộc scFv phải dime hóa. Loại này được biết đến là đoạn kháng thể nhị hợp (xem

tài liệu *ví dụ* Hollinger, Philipp *et al.*, (tháng 7, 1993) Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 90 (14): 6444-8.).

Theo một phương án được ưu tiên khác về cấu trúc kháng thể theo sáng chế, chuỗi nặng (VH) và chuỗi nhẹ (VL) của vùng liên kết liên kết với kháng nguyên đích EGFRvIII hoặc CD3 không được nối trực tiếp thông qua mối liên kết peptit được mô tả trên đây, tuy nhiên các vùng liên kết được tạo ra do sự tạo thành của phân tử đặc hiệu kép như được mô tả cho đoạn kháng thể nhị hợp. Do đó, chuỗi VH của vùng liên kết với CD3 có thể được dung hợp với VL của vùng liên kết với EGFRvIII thông qua mối liên kết peptit này, trong khi chuỗi VH của vùng liên kết với EGFRvIII được dung hợp với VL của vùng liên kết với CD3 thông qua mối liên kết peptit này.

Các kháng thể đơn vùng chỉ chứa một vùng biến đổi kháng thể (dạng monome) mà có thể liên kết chọn lọc với kháng nguyên đặc hiệu, một cách độc lập với các vùng V khác. Kháng thể đơn vùng thứ nhất được thao tác di truyền từ các kháng thể chuỗi nặng được tìm thấy ở họ lạc đà, và các kháng thể này được gọi là các đoạn V_HH. Cá sụn cũng có các kháng thể chuỗi nặng (IgNAR) mà thu được các kháng thể đơn vùng từ đó được gọi là các đoạn V_{NAR}. Một phương pháp khác là tách các vùng biến đổi dạng dime ra khỏi các globulin miễn dịch thông thường *ví dụ,* các globulin miễn dịch của người hoặc loài gặm nhấm thành các monome, nhờ đó thu được VH hoặc VL ở dạng Ab đơn vùng. Mặc dù hầu hết nghiên cứu về các kháng thể đơn vùng hiện nay đều dựa trên các vùng biến đổi chuỗi nặng, tuy nhiên các kháng thể nano thu được từ các chuỗi nhẹ cũng đã cho thấy liên kết đặc hiệu với các epitop đích. Ví dụ về các kháng thể đơn vùng được gọi là sdAb, kháng thể nano hoặc kháng thể một vùng biến đổi.

Do đó, (mAb đơn vùng)$_2$ là một cấu trúc kháng thể đơn dòng gồm (ít nhất) hai kháng thể đơn dòng đơn vùng, mà được chọn lọc riêng rẽ từ nhóm bao gồm VH, VL, V_HH và V_{NAR}. Tốt hơn là, mối liên kết là ở dạng mối liên kết peptit. Tương tự, "mAb đơn vùng-scFv" là một cấu trúc kháng thể đơn dòng bao gồm ít nhất một kháng thể đơn vùng như được mô tả trên đây và một phân tử scFv như được mô tả trên đây. Tốt hơn là, mối liên kết này là ở dạng mối liên kết peptit.

Các tế bào T hoặc tế bào lympho T là loại tế bào lympho (bản thân là một loại bạch cầu) mà đóng một vai trò quan trọng trong miễn dịch qua trung gian tế bào. Có một vài nhóm con tế bào T, mỗi nhóm con có chức năng riêng biệt. Các tế bào T có thể được phân biệt với các tế bào lympho khác, như tế bào B và tế bào NK, bởi sự có mặt của thụ

thể tế bào T (T cell receptor-TCR) trên bề mặt tế bào. TCR chịu trách nhiệm cho việc nhận diện các kháng nguyên liên kết với các phân tử phức hợp tương thích mô chính (major histocompatibility complex-MHC) và bao gồm hai chuỗi protein khác nhau. Ở 95% tế bào T, TCR bao gồm chuỗi alpha (α) và beta (β). Nếu TCR liên hợp với peptit kháng nguyên và MHC (phức hợp peptit/MHC), thì tế bào lympho T được hoạt hóa thông qua một loạt các sự kiện hóa sinh được trung gian bởi các enzym liên quan, các đồng thụ thể, các phân tử tiếp hợp chuyên dùng, và các yếu tố phiên mã được hoạt hóa hoặc được giải phóng.

Phức hợp thụ thể CD3 là một phức hợp protein và gồm bốn chuỗi. Ở động vật có vú, phức hợp này chứa một chuỗi CD3γ (gama), một chuỗi CD3δ (delta), và hai chuỗi CD3ε (epsilon). Các chuỗi này liên kết được với thụ thể tế bào T (T cell receptor-TCR) và chuỗi được gọi là ζ (zeta) để tạo ra phức hợp CD3 thụ thể tế bào T và tạo ra tín hiệu hoạt hóa ở các tế bào lympho T. Các chuỗi CD3γ (gama), CD3δ (delta), và CD3ε (epsilon) là các protein trên bề mặt tế bào có quan hệ mật thiết với nhau của siêu họ globulin miễn dịch chứa một vùng globulin miễn dịch ngoại bào. Các đuôi nội bào của các phân tử CD3 chứa một motip được bảo toàn được biết đến là motip hoạt hóa dựa trên tyrosin thụ thể miễn dịch hoặc gọi tắt là ITAM, mà cần cho việc tiếp nhận tín hiệu của TCR. Phân tử CD3 epsilon là một polypeptit mà ở người được mã hóa bởi gen *CD3E* nằm trên nhiễm sắc thể 11. Epitop được ưu tiên nhất của CD3 epsilon nằm ở các gốc axit amin 1 đến 27 của vùng ngoại bào CD3 epsilon của người.

Việc phân giải có chuyển hướng các tế bào đích thông qua việc huy động các tế bào T bởi cấu trúc kháng thể đa đặc hiệu, ít nhất đặc hiệu kép có liên quan đến sự tạo thành và phân phối perforin và granzym trong hệ khớp thần kinh hủy tế bào. Các tế bào T liên hợp có khả năng phân giải tế bào đích liên tiếp, và không bị ảnh hưởng bởi các cơ chế thoát miễn dịch can thiệp vào sự trình diện và xử lý kháng nguyên peptit, hoặc sự biệt hóa dòng tế bào T; xem, ví dụ, công bố đơn quốc tế số WO 2007/042261.

Tính độc tế bào qua trung gian các cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 có thể được đánh giá theo các cách khác nhau. Xem ví dụ 1. Các tế bào tác động có thể là các tế bào T dương tính CD8 được làm giàu (của người) được kích thích hoặc các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (của người) không được kích thích (peripheral blood mononuclear cell-PBMC). Nếu các tế bào đích có nguồn gốc từ khỉ macaca hoặc biểu hiện hoặc được chuyển nhiễm EGFRvIII khỉ macaca, thì các tế bào tác

động cũng cần có nguồn gốc từ khỉ macaca như dòng tế bào T khỉ macaca, ví dụ 4119LnPx. Các tế bào đích nên biểu hiện (ít nhất vùng ngoại bào của) EGFRvIII, ví dụ EGFRvIII của người hoặc của khỉ macaca. Các tế bào đích có thể là dòng tế bào (như CHO) mà được chuyển nhiễm ổn định hoặc tạm thời EGFRvIII, ví dụ EGFRvIII người hoặc khỉ macaca. Theo cách khác, các tế bào đích có thể là dòng tế bào biểu hiện tự nhiên dương tính EGFRvIII, như dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm của người U87 OR DK-MG. Các giá trị EC50 thông thường được cho là thấp hơn ở các dòng tế bào đích biểu hiện EGFRvIII với lượng lớn trên bề mặt tế bào. Tỷ lệ tế bào tác động so với tế bào đích (E:T) thường bằng 10:1, nhưng cũng có thể khác. Hoạt tính độc tế bào của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 có thể được đánh giá trong thử nghiệm giải phóng 51-crom (thời gian ủ là khoảng 18 giờ) hoặc trong thử nghiệm về tính độc tính tế bào dựa trên FACS (thời gian ủ là khoảng 48 giờ). Cũng có thể thay đổi thời gian ủ của thử nghiệm (phản ứng độc tế bào). Các phương pháp khác đánh giá tính độc tế bào là đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm các thử nghiệm MTT hoặc MTS, các thử nghiệm dựa trên ATP bao gồm các thử nghiệm phát quang sinh học, thử nghiệm sulforodamin B (SRB), thử nghiệm WST, thử nghiệm tạo dòng và công nghệ ECIS.

Tốt hơn nếu hoạt tính gây độc tế bào qua trung gian cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 theo sáng chế được đánh giá trong thử nghiệm về tính độc tế bào trên cơ sở tế bào. Hoạt tính gây độc tế bào cũng có thể được đánh giá trong thử nghiệm giải phóng 51-crom. Hoạt tính này được thể hiện bởi giá trị EC_{50}, mà tương ứng với nồng độ có hiệu lực bán tối đa (nồng độ của cấu trúc kháng thể mà gây ra đáp ứng độc tế bào ở mức bằng nửa mức cơ bản và mức tối đa). Tốt hơn là, giá trị EC_{50} của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 là ≤5000 pM hoặc ≤4000 pM, tốt hơn nữa là ≤3000 pM hoặc ≤2000 pM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤1000 pM hoặc ≤500 pM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤400 pM hoặc ≤300 pM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤200 pM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤100 pM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤50 pM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤20 pM hoặc ≤10 pM, và tốt nhất là ≤5 pM.

Các giá trị EC_{50} nêu trên có thể được đánh giá trong các thử nghiệm khác nhau. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này hiểu rằng giá trị EC_{50} có thể được kỳ vọng sẽ thấp hơn nếu các tế bào T CD8+ được làm giàu/được kích thích được sử dụng làm các tế bào tác động, so với PBMC không được kích thích. Có kỳ vọng thêm

rằng các giá trị EC_{50} thấp hơn nếu các tế bào đích biểu hiện số kháng nguyên đích cao hơn so với chuột cống biểu hiện đích ít hơn. Ví dụ, nếu các tế bào T CD8+ của người được làm giàu/được kích thích được sử dụng làm các tế bào tác động (và các tế bào được chuyển nhiễm EGFRvIII như các tế bào CHO hoặc dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm của người dương tính EGFRvIII U87 OR DK-MG được sử dụng làm các tế bào đích), tốt hơn là giá trị EC_{50} của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIII xCD3 ≤1000 pM, tốt hơn nữa là ≤500 pM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤250 pM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤100 pM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤50 pM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤10 pM, và tốt nhất là ≤5 pM. Nếu các PBMC của người được sử dụng làm các tế bào tác động, tốt hơn là giá trị EC_{50} của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 là ≤5000 pM hoặc ≤4000 pM (cụ thể là nếu các tế bào đích là dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm của người dương tính EGFRvIII U87 OR DK-MG), tốt hơn nữa là ≤2000 pM (cụ thể là nếu các tế bào đích là các tế bào được chuyển nhiễm EGFRvIII như các tế bào CHO), tốt hơn nữa là ≤1000 pM hoặc ≤500 pM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤200 pM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤150 pM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤100 pM, và tốt nhất là ≤50 pM, hoặc thấp hơn. Nếu dòng tế bào T của khỉ macaca như LnPx4119 được sử dụng làm tế bào tác động, và dòng tế bào được chuyển nhiễm EGFRvIII của khỉ macaca như các tế bào CHO được sử dụng làm dòng tế bào đích, tốt hơn là giá trị EC_{50} của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIII xCD3 là ≤2000pM hoặc ≤1500pM, tốt hơn nữa là ≤1000 pM hoặc ≤500 pM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤300 pM hoặc ≤250 pM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤100 pM, và tốt nhất là ≤50 pM.

Tốt hơn là, cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 theo sáng chế không gây ra/trung gian sự phân giải hoặc gần như không cảm ứng/gây ra sự phân giải các tế bào âm tính EGFRvIII như các tế bào CHO. Thuật ngữ "không gây ra sự phân giải", "gần như không gây ra sự phân giải", "không trung gian sự phân giải" hoặc "gần như không trung gian sự phân giải" có nghĩa là cấu trúc kháng thể theo sáng chế không gây ra hoặc trung gian sự phân giải quá 30%, tốt hơn là không quá 20%, tốt hơn nữa là không quá 10%, đặc biệt tốt hơn là không quá 9%, 8%, 7%, 6% hoặc 5% tế bào âm tính EGFRvIII, nhờ đó mức phân giải dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm của người dương tính EGFRvIII U87 OR DK-MG (xem trên đây) được đặt bằng 100%. Điều này thường áp dụng cho nồng độ của cấu trúc kháng thể lên đến 500nM. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này biết cách đánh giá sự phân giải tế bào mà không cần tiến hành

thêm. Hơn nữa là, bản mô tả theo sáng chế đưa ra hướng dẫn cụ thể về cách đánh giá sự phân giải tế bào.

Độ chênh lệch về hoạt tính gây độc tế bào giữa phân tử đồng dạng dạng monome và dime của từng cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 được dùng để chỉ là "chênh lệch hiệu lực". Chênh lệch hiệu lực này ví dụ, có thể được tính toán là tỷ lệ giữa giá trị EC_{50} của dạng dime và monome của phân tử này, xem ví dụ 1.8. Tốt hơn là chênh lệch hiệu lực của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 theo sáng chế là ≤ 5, tốt hơn nữa là ≤ 4, thậm chí tốt hơn nữa là ≤ 3, thậm chí tốt hơn nữa là ≤ 2 và tốt hơn nữa là ≤ 1, và tốt nhất là $\leq 0,3$.

Tốt hơn là, (các) vùng liên kết thứ nhất và/hoặc thứ hai (hoặc vùng khác bất kỳ) của cấu trúc kháng thể theo sáng chế là đặc hiệu chéo loài đối với các thành viên của bộ động vật linh trưởng thuộc giới động vật có vú. Các vùng liên kết CD3 đặc hiệu chéo loài, ví dụ, được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567. Theo một phương án, vùng liên kết thứ nhất và/hoặc thứ hai, ngoài việc liên kết với EGFRvIII của người và CD3 của người, tương ứng, cũng sẽ liên kết với EGFRvIII/CD3 của động vật linh trưởng bao gồm (nhưng không chỉ giới hạn ở) các động vật linh trưởng tân thế giới (như *Callithrix jacchus*, *Saguinus Oedipus* hoặc *Saimiri sciureus*), các động vật linh trưởng cựu thế giới (như khỉ macaca đầu tận cùng Chó và khỉ macaca), vượn, đười ươi và *homininae* không phải người. Được dự tính rằng vùng liên kết thứ nhất của cấu trúc kháng thể theo sáng chế liên kết với EGFRvIII của người trên bề mặt của tế bào đích cũng liên kết ít nhất với EGFRvIII của khỉ macaca, và/hoặc vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 của người trên bề mặt tế bào T cũng liên kết ít nhất với CD3 của khỉ macaca. Khỉ macaca được ưu tiên là *Macaca fascicularis*. *Macaca mulatta* (khỉ macaca rezut) cũng được bao gồm.

Theo một khía cạnh của sáng chế, vùng liên kết thứ nhất liên kết với EGFRvIII của người và còn liên kết với EGFRvIII của khỉ macaca, như EGFRvIII của *Macaca fascicularis*, và tốt hơn nữa là, với EGFRvIII của khỉ macaca được biểu hiện trên các tế bào bề mặt của khỉ macaca. EGFRvIII *Macaca fascicularis* được ưu tiên được thể hiện trong SEQ ID NO: 234. Tốt hơn là, ái lực của vùng liên kết thứ nhất với EGFRvIII của khỉ macaca ≤ 15 nM, tốt hơn nữa là ≤ 10 nM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤ 5 nM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤ 1 nM, thậm chí tốt hơn nữa là $\leq 0,5$ nM, thậm chí tốt hơn nữa là $\leq 0,1$ nM, và tốt nhất là $\leq 0,05$ nM hoặc thậm chí $\leq 0,01$ nM.

Tốt hơn là, chênh lệch ái lực của cấu trúc kháng thể theo sáng chế liên kết với EGFRvIII của khỉ macaca so với EGFRvIII của người [ma EGFRvIII:hu EGFRvIII] (như được xác định *ví dụ* bằng phân tích BiaCore hoặc Scatchard) là <100, tốt hơn là <20, tốt hơn nữa là <15, còn tốt hơn nữa là <10, thậm chí tốt hơn nữa là <8, tốt hơn là <6 và tốt nhất là <2. Chênh lệch ái lực của cấu trúc kháng thể theo sáng chế liên kết với EGFRvIII của khỉ macaca so với EGFRvIII của người tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,1 đến 20, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,2 đến 10, thậm chí tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,3 đến 6, thậm chí tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,5 đến 3 hoặc nằm trong khoảng từ 0,5 đến 2,5 và tốt nhất là nằm trong khoảng từ 0,5 đến 2 hoặc nằm trong khoảng từ 0,6 đến 2.

Theo một phương án về cấu trúc kháng thể theo sáng chế, vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 epsilon của người và với CD3 epsilon của *Callithrix jacchus*, *Saguinus Oedipus* hoặc *Saimiri sciureus*. Tốt hơn là, vùng liên kết thứ hai liên kết với epitop ngoại bào của các chuỗi CD3 epsilon này. Cũng được dự tính rằng vùng liên kết thứ hai liên kết với epitop ngoại bào của chuỗi CD3 epsilon của người và của *Macaca*. Epitop được ưu tiên nhất của CD3 epsilon nằm trong các gốc axit amin 1-27 của vùng ngoại bào CD3 epsilon của người. Thậm chí đặc biệt hơn là, epitop này ít nhất chứa trình tự axit amin Gln-Asp-Gly-Asn-Glu. *Callithrix jacchus và Saguinus oedipus* đều là động vật linh trưởng tân thế giới thuộc họ *Callitrichidae*, trong khi đó *Saimiri sciureus* là động vật linh trưởng tân thế giới thuộc họ *Cebidae*.

Đặc biệt được ưu tiên đối với cấu trúc kháng thể theo sáng chế là vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 của người trên bề mặt tế bào T chứa vùng VL bao gồm CDR-L1, CDR-L2 và CDR-L3 được chọn từ:

(a) CDR-L1 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 27 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567, CDR-L2 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 28 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và CDR-L3 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 29 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567;

(b) CDR-L1 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 117 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567, CDR-L2 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 118 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và CDR-L3 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 119 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567; và

(c) CDR-L1 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 153 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567, CDR-L2 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 154 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và CDR-L3 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 155 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567.

Theo một phương án được ưu tiên khác về cấu trúc kháng thể theo sáng chế, vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 của người trên bề mặt tế bào T chứa vùng VH bao gồm CDR-H 1, CDR-H2 và CDR-H3 được chọn từ:

(a) CDR-H1 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 12 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567, CDR-H2 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 13 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và CDR-H3 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 14 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567;

(b) CDR-H1 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 30 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567, CDR-H2 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 31 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và CDR-H3 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 32 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567;

(c) CDR-H1 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 48 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567, CDR-H2 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 49 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và CDR-H3 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 50 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567;

(d) CDR-H1 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 66 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567, CDR-H2 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 67 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và CDR-H3 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 68 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567;

(e) CDR-H1 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 84 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567, CDR-H2 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 85 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và CDR-H3 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 86 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567;

(f) CDR-H1 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 102 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567, CDR-H2 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 103 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và CDR-H3 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 104 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567;

(g) CDR-H1 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 120 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567, CDR-H2 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 121 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và CDR-H3 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 122 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567;

(h) CDR-H1 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 138 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567, CDR-H2 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 139 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và CDR-H3 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 140 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567;

(i) CDR-H1 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 156 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567, CDR-H2 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 157 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và CDR-H3 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 158 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567; và

(j) CDR-H1 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 174 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567, CDR-H2 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 175 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và CDR-H3 như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 176 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567.

Theo một phương án được ưu tiên hơn đối với cấu trúc kháng thể theo sáng chế đó là vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 của người trên bề mặt tế bào T chứa vùng VL được chọn từ nhóm bao gồm vùng VL như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 99, và SEQ ID NO: 102 (cũng xem SEQ ID NO: 35, 39, 125, 129, 161 hoặc 165 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567).

Theo cách khác được ưu tiên là vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 của người trên bề mặt tế bào T chứa vùng VH được chọn từ nhóm bao gồm vùng VH như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 98, và SEQ ID NO: 101 (cũng xem SEQ ID NO: 15, 19, 33, 37, 51, 55, 69, 73, 87, 91, 105, 109, 123, 127, 141, 145, 159, 163, 177 hoặc 181 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567).

Tốt hơn nữa là, cấu trúc kháng thể theo sáng chế được đặc trưng bởi vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 của người trên bề mặt tế bào T chứa vùng VL và vùng VH được chọn từ nhóm bao gồm:

(a) vùng VL như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 17 hoặc 21 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và vùng VH như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 15 hoặc 19 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567;

(b) vùng VL như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 35 hoặc 39 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và vùng VH như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 33 hoặc 37 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567;

(c) vùng VL như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 53 hoặc 57 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và vùng VH như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 51 hoặc 55 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567;

(d) vùng VL như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 71 hoặc 75 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và vùng VH như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 69 hoặc 73 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567;

(e) vùng VL như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 89 hoặc 93 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và vùng VH như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 87 hoặc 91 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567;

(f) vùng VL như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 107 hoặc 111 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và vùng VH như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 105 hoặc 109 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567;

(g) vùng VL như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 125 hoặc 129 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và vùng VH như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 123 hoặc 127 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567;

(h) vùng VL như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 143 hoặc 147 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và vùng VH như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 141 hoặc 145 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567;

(i) vùng VL như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 161 hoặc 165 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và vùng VH như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 159 hoặc 163 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567; và

(j) vùng VL như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 179 hoặc 183 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567 và vùng VH như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 177 hoặc 181 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567.

Cũng liên quan đến cấu trúc kháng thể được ưu tiên theo sáng chế đó là vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 của người trên bề mặt tế bào T chứa vùng VL như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 102 và vùng VH như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 101.

Theo một phương án được ưu tiên về cấu trúc kháng thể theo sáng chế, các vùng liên kết và cụ thể là vùng liên kết thứ hai (mà liên kết với CD3 của người trên bề mặt tế bào T) có dạng sau: Các cặp vùng VH và VL là ở dạng kháng thể đơn chuỗi (scFv). Các vùng VH và VL được bố trí theo thứ tự VH-VL hoặc VL-VH. Được ưu tiên rằng vùng VH được bố trí ở đầu tận cùng N của trình tự mối liên kết, và vùng VL được bố trí ở đầu tận cùng C của trình tự mối liên kết.

Theo một phương án được ưu tiên hơn đối với cấu trúc kháng thể theo sáng chế được đặc trưng bởi vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 của người trên bề mặt tế bào T chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100 và SEQ ID NO: 103 (cũng xem SEQ ID NO: 23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79, 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 hoặc 187 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567).

Cũng được dự tính rằng cấu trúc kháng thể theo sáng chế có chức năng khác, ngoài chức năng liên kết với các phân tử đích EGFRvIII và CD3. Ở dạng này, cấu trúc kháng thể là một cấu trúc kháng thể có ba chức năng hoặc đa chức năng bởi việc hướng đích các tế bào đích thông qua việc liên kết với EGFRvIII, gián tiếp gây ra hoạt tính gây độc tế bào T nhờ liên kết với CD3 và tạo ra một chức năng khác như tính gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể qua trung gian vùng hằng định Fc có chức năng đầy đủ nhờ huy động các tế bào tác động như các tế bào NK, nhãn đánh dấu (huỳnh quang v.v.), tác nhân điều trị như độc tố hoặc nuclit phóng xạ, và/hoặc các phân tử làm tăng thời gian bán thải trong huyết thanh, v.v..

Ví dụ về các phân tử kéo dài thời gian bán thải trong huyết thanh của cấu trúc kháng thể theo sáng chế bao gồm các peptit, protein hoặc các vùng của protein, mà được dung hợp hoặc mặt khác được liên kết với cấu trúc kháng thể. Nhóm các peptit, protein hoặc vùng protein bao gồm các peptit liên kết với các protein khác có profin dược động

học được ưu tiên trong cơ thể người như albumin huyết thanh (xem công bố đơn quốc tế số WO 2009/127691). Một quan niệm khác về các peptit kéo dài thời gian bán thải như vậy là các peptit liên kết với thụ thể Fc mới sinh (FcRn, xem công bố đơn quốc tế số WO 2007/098420), mà cũng có thể được sử dụng trong các cấu trúc theo sáng chế. Quan niệm liên kết các vùng protein lớn hơn hoặc các protein đầy đủ bao gồm *ví dụ* dung hợp albumin huyết thanh của người, các biến thể hoặc các thể đột biến của albumin huyết thanh của người (xem công bố đơn quốc tế số WO 2011/051489, WO 2012/059486, WO 2012/150319, WO 2013/135896, WO 2014/072481, WO 2013/075066) hoặc các vùng của chúng cũng như là dung hợp vùng hằng định của globulin miễn dịch (các vùng Fc) và các biến thể của chúng. Các biến thể của vùng Fc này có thể được làm tối ưu/cải biến để cho phép bắt cặp mong muốn của các dime hoặc mulime, để loại bỏ sự liên kết với thụ thể Fc (ví dụ thụ thể Fcγ) hoặc vì các lý do khác. Một quan niệm khác để kéo dài thời gian bán thải trong huyết thanh của các hợp chất protein có kích thước nhỏ trong cơ thể người đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này là pegyl hóa các hợp chất này như cấu trúc kháng thể theo sáng chế.

Theo phương án được ưu tiên, cấu trúc kháng thể theo sáng chế được mô tả là bao gồm:

(a) polypeptit chứa các thành phần có thứ tự dưới đây bắt đầu từ đầu tận cùng N:

- polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 159;
- mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1-9; và
- polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100, và SEQ ID NO: 103; và
- tùy ý đuôi His, như đuôi được thể hiện trong SEQ ID NO: 10;

(b) polypeptit chứa các thành phần có thứ tự dưới đây bắt đầu từ đầu tận cùng N:

- polypeptit có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 159;
- mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1-9;
- polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 55, SEQ ID

NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100, và SEQ ID NO: 103;

- tùy ý mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1-9;
- polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 104-134; và
- tùy ý đuôi His, như đuôi được thể hiện trong SEQ ID NO: 10;

(c) polypeptit chứa các thành phần có thứ tự dưới đây từ đầu tận cùng N:

- polypeptit có trình tự axit amin QRFVTGHFGGLX$_1$PANG (SEQ ID NO: 135) trong đó X$_1$ là Y hoặc H; và
- polypeptit có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 159;
- mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1-9;
- polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100, và SEQ ID NO: 103;
- polypeptit có trình tự axit amin QRFVTGHFGGLHPANG (SEQ ID NO: 137) hoặc QRFCTGHFGGLHPCNG (SEQ ID NO: 139); và
- tùy ý đuôi His, như đuôi được thể hiện trong SEQ ID NO: 10;

(d) polypeptit chứa các thành phần có thứ tự dưới đây từ đầu tận cùng N

- polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 98, và SEQ ID NO: 101;
- mối liên kết peptit có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 8;
- polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 158;
- polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 140; và

polypeptit chứa các thành phần có thứ tự dưới đây từ đầu tận cùng N

- polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 157;
- mối liên kết peptit có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 8;

- polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 99, và SEQ ID NO: 102 và gốc serin ở đầu tận cùng C;
- polypeptit có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 141;

(e) polypeptit chứa các thành phần có thứ tự dưới đây bắt đầu từ đầu tận cùng N:

- polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 98, và SEQ ID NO: 101;
- mối liên kết peptit có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 8;
- polypeptit có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 158.
- polypeptit có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 142; và

polypeptit chứa các thành phần có thứ tự dưới đây bắt đầu từ đầu tận cùng N:

- polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 157,
- mối liên kết peptit có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 8;
- polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 99, và SEQ ID NO: 102 và gốc serin ở đầu tận cùng C;
- polypeptit có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 143;

(f) polypeptit chứa các thành phần có thứ tự dưới đây bắt đầu từ đầu tận cùng N:

- polypeptit có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 159;
- mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1-9; và
- polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100, và SEQ ID NO: 103;
- polypeptit có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 144; và

polypeptit có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 145;

(g) polypeptit chứa các thành phần có thứ tự dưới đây bắt đầu từ đầu tận cùng N:

- polypeptit có trình tự axit amin của SEQ ID NO 159; và
- polypeptit có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 146; và

polypeptit chứa các thành phần có thứ tự dưới đây bắt đầu từ đầu tận cùng N:

- polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100, và SEQ ID NO: 103; và
- polypeptit có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 147;

(h) polypeptit chứa các thành phần có thứ tự dưới đây bắt đầu từ đầu tận cùng N:

- polypeptit có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 159;
- polypeptit có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 148; và

polypeptit chứa các thành phần có thứ tự dưới đây bắt đầu từ đầu tận cùng N:

- polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100, và SEQ ID NO: 103; và
- polypeptit có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 149; hoặc

(i) polypeptit chứa các thành phần có thứ tự dưới đây bắt đầu từ đầu tận cùng N:

- polypeptit có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 159;
- mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1-9; và
- polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100, và SEQ ID NO: 103; và
- polypeptit có trình tự axit amin được thể hiện trong SEQ ID NO: 150.

(j) polypeptit chứa các thành phần có thứ tự dưới đây bắt đầu từ đầu tận cùng N:

- polypeptit có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 159;
- mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1-9; và
- polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 55, SEQ ID

NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100, và SEQ ID NO: 103; và

- mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 6, 8 và 9; và
- vùng thứ ba có trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có SEQ ID NO: 181-188.

Như được mô tả trên đây, một vài cấu trúc kháng thể được ưu tiên theo sáng chế được cải biến bằng cách dung hợp với gốc khác như albumin hoặc các biến thể albumin. Nếu các cấu trúc dung hợp này được đặc trưng bởi các đặc tính của chúng, cụ thể là ái lực đích hoặc hoạt tính gây độc tế bào, thì người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này cần hiểu rằng các cấu trúc dung hợp tương tự hoặc các cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép chưa được cải biến có thể được cho là có các đặc tính tương tự (hoặc thậm chí tốt hơn). Ví dụ, nếu cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép được dung hợp với albumin có hoạt tính gây độc tế bào hoặc ái lực đích đáng kể hoặc mong muốn, có thể được cho rằng hoạt tính gây độc tế bào/ái lực đích tương đương/tương tự hoặc thậm chí cao hơn cũng sẽ được quan sát thấy đối với cấu trúc mà không có albumin.

Theo một phương án được ưu tiên khác, cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép theo sáng chế chứa (ngoài hai vùng liên kết) vùng thứ ba mà chứa hai monome polypeptit, mỗi vùng liên kết bao gồm vùng bản lề, vùng CH2 và CH3, trong đó hai polypeptit này (hoặc monome polypeptit) được dung hợp với nhau thông qua một mối liên kết peptit. Tốt hơn là, theo thứ tự đầu tận cùng N đến đầu tận cùng C vùng thứ ba này chứa: vùng bản lề-CH2-CH3-trình tự liên kết-vùng bản kề-CH2-CH3. Các trình tự axit amin được ưu tiên cho vùng thứ ba này được thể hiện trong SEQ ID NO: 181-188. Tốt hơn là, mỗi monome trong số hai monome polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 173-180, hoặc có ít nhất 90% tương đồng với các trình tự này. Theo một phương án được ưu tiên khác, các vùng liên kết thứ nhất và thứ hai của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép theo sáng chế được dung hợp với vùng thứ ba thông qua mối liên kết peptit mà được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 và 9 chẳng hạn.

Theo sáng chế, "vùng bản lề" là vùng bản lề IgG. Vùng này có thể được nhận diện bởi sự tương tự sử dụng hệ đánh số Kabat, xem các vị trí Kabat 223-243. Theo phần mô tả trên đây, yêu cầu tối thiểu đối với "vùng bản lề" là các gốc axit amin tương ứng với trình tự duỗi IgG_1 gồm D231 đến P243 theo đánh số Kabat. Các thuật ngữ CH2 và CH3

được dùng để chỉ các vùng hằng định chuỗi nặng 2 và 3 của globulin miễn dịch. Các vùng này có thể dễ dàng được nhận diện bởi sự tương tự sử dụng hệ đánh số Kabat, xem các vị trí Kabat 244-360 đối với CH2 và các vị trí Kabat 361-478 đối với CH3. Cần hiểu rằng có sự biến đổi giữa các globulin miễn dịch đối với vùng Fc IgG_1, vùng Fc IgG_2, vùng Fc IgG_3, vùng Fc IgG_4, vùng Fc IgM, vùng Fc IgA, vùng Fc IgD và vùng Fc IgE (Xem tài liệu, *ví dụ,* Padlan, Molecular Immunology, 31(3), 169-217 (1993)). Thuật ngữ monome Fc được dùng để chỉ hai vùng hằng định chuỗi nặng cuối của IgA, IgD, và IgG, và ba vùng hằng định chuỗi nặng cuối của IgE và IgM. Monome Fc cũng có thể bao gồm vùng bản lề linh động ở đầu tận cùng N so với các vùng này. Đối với IgA và IgM, monome Fc có thể bao gồm chuỗi J. Đối với IgG, phần Fc chứa các vùng CH2 và CH3 globulin miễn dịch và vùng bản lề giữa hai vùng đầu tiên và CH2. Mặc dù ranh giới của phần Fc của globulin miễn dịch có thể khác nhau, ví dụ đối với phần Fc chuỗi nặng IgG của người chứa vùng bản lề chức năng, nhưng vùng CH2 và CH3 có thể được xác định là chứa các gốc từ D231 (của vùng bản lề) đến P476 (của đầu tận cùng C của vùng CH3), hoặc D231 đến L476, tương ứng chẳng hạn, đối với IgG_4, trong đó việc đánh số này là theo Kabat.

Do đó, cấu trúc kháng thể theo sáng chế có thể chứa các thành phần sau theo thứ tự từ đầu tận cùng N đến C:

(a) vùng liên kết thứ nhất;

(b) mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1-9;

(c) vùng liên kết thứ hai;

(d) mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 6, 8 và 9;

(e) monome polypeptit thứ nhất của vùng thứ ba (chứa vùng bản lề, vùng CH2 và CH3);

(f) mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 192, 193, 194 và 195; và

(g) monome polypeptit thứ hai của vùng thứ ba (chứa vùng bản lề, vùng CH2 và CH3).

Cũng được ưu tiên rằng cấu trúc kháng thể theo sáng chế chứa các thành phần sau theo thứ tự đầu tận cùng N đến C:

- vùng liên kết thứ nhất có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 159;
- mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1-9;
- vùng liên kết thứ hai có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100, và SEQ ID NO: 103 (cũng xem SEQ ID NO: 23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79, 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 hoặc 187 của công bố đơn quốc tế số WO 2008/119567);
- mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 6, 8 và 9; và
- vùng thứ ba có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 181-188.

Do đó, theo một phương án được ưu tiên, cấu trúc kháng thể theo sáng chế chứa hoặc bao gồm polypeptit được chọn từ nhóm bao gồm các polypeptit được thể hiện trong SEQ ID NO: 189 hoặc 190.

Trong một phương án đối với cấu trúc kháng thể theo sáng chế, cấu trúc kháng thể này chứa hoặc gồm polypeptit như nêu trong trình tự SEQ ID NO: 160.

Các cải biến cộng hóa trị của các cấu trúc kháng thể cũng được bao gồm trong phạm vi của sáng chế, và nói chung, nhưng không phải lúc nào cũng vậy, được tiến hành sau dịch mã. Ví dụ, một vài loại cải biến cộng hóa trị của cấu trúc kháng thể được đưa vào phân tử bằng cách cho các gốc axit amin cụ thể của cấu trúc kháng thể phản ứng với chất tạo dẫn xuất hữu cơ mà có khả năng phản ứng với các mạch bên được chọn hoặc các gốc đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C.

Các gốc xysteinyl phổ biến nhất là được cho phản ứng với α-haloaxetat (và các amin tương ứng), như axit cloaxetic hoặc cloaxetamit, để thu được các dẫn xuất carboxymetyl hoặc carboxyamidometyl. Các gốc xysteinyl cũng được tạo dẫn xuất bằng cách phản ứng với bromotrifloaxeton, axit α-bromo-β-(5-imidozoyl)propionic, cloaxetyl phosphat, N-alkylmaleimit, 3-nitro-2-pyridyl disulfua, metyl 2-pyridyl disulfua, p-clomercuribenzoat, 2-clomercuri-4-nitrophenol, hoặc clo-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol.

Các gốc histidyl được tạo dẫn xuất bằng cách phản ứng với dietylpyrocarbonat ở pH 5,5-7,0 vì tác nhân này tương đối đặc hiệu với mạch bên có histidyl. Para-bromophenaxyl bromua cũng hữu dụng; tốt hơn là phản ứng này được tiến hành trong 0,1M natri cacodylat ở pH 6,0. Các gốc lysinyl và các gốc đầu amino được phản ứng với sucxinic hoặc các anhydrit của axit carboxylic khác. Quy trình tạo dẫn xuất với các tác nhân này có tác dụng làm đảo ngược điện tích của các gốc lysinyl. Các tác nhân thích hợp khác để tạo dẫn xuất các gốc chứa alpha-amino bao gồm imidoeste như metyl picolinimidat; pyridoxal phosphat; pyridoxal; clobohydrua; axit trinitrobenzensulfonic; O-metylisoure; 2,4-pentandion; và phản ứng với glyoxylat được xúc tác bởi transaminaza.

Các gốc arginyl được cải biến bằng phản ứng với một hoặc một vài tác nhân thông thường, trong số các tác nhân này là phenylglyoxal, 2,3-butandion, 1,2-xyclohexandion, và ninhydrin. Việc tạo dẫn xuất các gốc arginin đòi hỏi phản ứng phải được tiến hành trong các điều kiện kiềm do nhóm chức guanidin có pKa cao. Hơn nữa, các tác nhân này có thể phản ứng với các nhóm lysin cũng như là nhóm epsilon-amino arginin.

Các cải biến cụ thể các gốc tyrosyl có thể được tiến hành, trong đó đặc biệt ưu tiên đưa các phân tử đánh dấu phổ vào các gốc tyrosyl bằng cách phản ứng với các hợp chất diazoni thơm hoặc tetranitrometan. Thông thường nhất là, N-axetylimidizol và tetranitrometan được sử dụng để tạo ra các nhóm O-axetyl tyrosyl và các dẫn xuất 3-nitro, tương ứng. Các gốc tyrosyl được iot hóa bằng cách sử dụng ^{125}I hoặc ^{131}I để điều chế các protein được đánh dấu để dùng trong thử nghiệm miễn dịch phóng xạ, phương pháp sử dụng cloramin T được mô tả trên đây là thích hợp.

Các nhóm bên carboxyl (aspartyl hoặc glutamyl) được cải biến chọn lọc bằng phản ứng với carbodiimit (R'—N=C=N--R'), trong đó R và R' tùy ý là các nhóm alkyl khác nhau, như 1-xyclohexyl-3-(2-morpholinyl-4-etyl) carbodiimit hoặc 1-etyl-3-(4-azonia-4,4-dimetylpentyl) carbodiimit. Hơn nữa, các gốc aspartyl và glutamyl được chuyển hóa thành các gốc asparaginyl và glutaminyl bằng phản ứng với ion amoni.

Việc tạo dẫn xuất bằng các chất có chức năng kép là hữu dụng để liên kết ngang cấu trúc kháng thể theo sáng chế với nền mang hoặc bề mặt không tan trong nước để dùng trong nhiều phương pháp khác nhau. Các chất liên kết ngang thường được sử dụng bao gồm, *ví dụ*, các este 1,1-bis(diazoaxetyl)-2-phenyletan, glutaraldehyt, N-hydroxysucxinimit, ví dụ, các este với axit 4-azidosalixylic, imidoeste đồng chức năng

kép bao gồm các este disucxinimidyl như 3,3'-dithiobis(sucxinimidylpropionat), và maleimit chức năng kép như bis-N-maleimido-1,8-octan. Các chất tạo dẫn xuất như metyl-3-[(p-azidophenyl)dithio]propioimidat tạo ra các chất trung gian quang hoạt mà có khả năng tạo các liên kết ngang khi có ánh sáng. Theo cách khác, nền phản ứng không tan trong nước như carbohydrat được hoạt hóa bởi xyanogen bromua và các cơ chất phản ứng như được mô tả trong các patent Mỹ số 3,969,287; 3,691,016; 4,195,128; 4,247,642; 4,229,537; và 4,330,440 được sử dụng để cố định protein.

Các gốc glutaminyl và asparaginyl thường được loại nhóm amit thành các gốc glutamyl và aspartyl tương ứng. Theo cách khác, các gốc này được loại amit trong các điều kiện axit nhẹ. Dạng các gốc này là thuộc phạm vi của sáng chế.

Các cải biến khác bao gồm hydroxyl hóa prolin và lysin, phosphoryl hóa các nhóm hydroxyl của các gốc seryl hoặc threonyl, metyl hóa các nhóm α-amino của các mạch bên lysin, arginin, và histidin (T. E. Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, W. H. Freeman & Co., San Francisco, 1983, pp. 79-86), axetyl hóa amin ở đầu tận cùng N, và amit hóa của nhóm carboxyl ở đầu tận cùng C.

Một loại cải biến cộng hóa trị khác của cấu trúc kháng thể được bao gồm trong phạm vi sáng chế là làm thay đổi kiểu glycosyl hóa protein. Như đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, các kiểu glycosyl hóa có thể phụ thuộc vào cả trình tự của protein (*ví dụ*, sự có mặt hoặc không có mặt của các gốc axit amin glycosyl hóa cụ thể, được bàn luận dưới đây), hoặc tế bào hoặc sinh vật chủ trong đó protein được tổng hợp. Các hệ biểu hiện cụ thể được bàn luận dưới đây.

Glycosyl hóa polypeptit thường là loại được liên kết với N hoặc được liên kết với O. Loại liên kết với N được dùng để chỉ việc liên kết gốc carbohydrat với mạch bên của gốc asparagin. Các trình tự tri-peptit asparagin-X-serin và asparagin-X-threonin, trong đó X là axit amin bất kỳ ngoại trừ prolin, là các trình tự nhận diện để liên kết gốc hydrat cacbon với mạch bên asparagin nhờ enzym. Do đó, sự có mặt của một trong hai trình tự tri-peptit này trong polypeptit tạo ra vị trí glycosyl hóa tiềm năng. Glycosyl hóa được liên kết với O được dùng để chỉ việc liên kết một trong số các đường N-axetylgalactosamin, galactoza, hoặc xyloza, với axit hydroxyamino, thông thường nhất là serin hoặc threonin, mặc dù 5-hydroxyprolin hoặc 5-hydroxylysin có thể cũng được sử dụng.

Việc bổ sung các vị trí glycosyl hóa vào cấu trúc kháng thể được tiến hành thuận tiện bằng cách làm thay đổi trình tự axit amin sao cho nó chứa một hoặc nhiều trình tự

tri-peptit được mô tả trên đây (đối với các vị trí glycosyl hóa được liên kết với N). Cũng có thể tiến hành thay đổi bằng cách bổ sung, hoặc thay thế, một hoặc nhiều gốc serin hoặc threonin trong trình tự ban đầu (đối với các vị trí glycosyl hóa được liên kết với O). Để thuận tiện hơn, tốt hơn là trình tự axit amin của cấu trúc kháng thể được làm thay đổi thông qua các thay đổi ở cấp độ ADN, đặc biệt là bằng cách gây đột biến ADN mã hóa polypeptit ở các bazơ đã chọn trước sao cho các codon được tạo ra sẽ sẽ được dịch mã thành axit amin mong muốn.

Phương pháp khác để làm tăng số gốc hydrat cacbon trên cấu trúc kháng thể là liên kết các glycozit với protein thông qua phản ứng hóa học hoặc phản ứng có xúc tác enzym. Các quy trình này có ưu điểm ở chỗ không cần tổng hợp protein trong tế bào chủ mà có khả năng glycosyl hóa đối với glycosyl hóa được liên kết với N hoặc với O. Tùy thuộc vào kiểu liên kết được sử dụng, (các) đường có thể được gắn với (a) arginin và histidin, (b) các nhóm carboxyl tự do, (c) các nhóm sulfhydryl tự do như các nhóm gồm xystein, (d) các nhóm hydroxyl tự do như các nhóm gồm serin, threonin, hoặc hydroxyprolin, (e) các gốc thơm như các gốc thơm gồm phenylalanin, tyrosin, hoặc tryptophan, hoặc (f) nhóm amit của glutamin. Các phương pháp này được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 87/05330, và trong tài liệu Aplin and Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259-306.

Việc loại bỏ các gốc hydrat cacbon có mặt trên cấu trúc kháng thể ban đầu có thể được thực hiện bằng phương pháp hóa học hoặc bằng phương pháp sử dụng enzym. Quá trình khử glycosyl hóa học đòi hỏi protein phải tiếp xúc với hợp chất axit triflorometansulfonic, hoặc hợp chất tương đương. Việc xử lý này dẫn đến phân cắt hầu hết hoặc toàn bộ các đường ngoại trừ đường liên kết (N-axetylglucosamin hoặc N-axetylgalactosamin), đồng thời tạo ra polypeptit nguyên vẹn. Quá trình khử glycosyl hóa học được mô tả trong tài liệu Hakimuddin *et al.*, 1987, *Arch. Biochem. Biophys.* 259:52 và Edge *et al.*, 1981, *Anal. Biochem.* 118:131. Phân cắt các gốc hydrat cacbon bằng enzym trên polypeptit có thể được thực hiện bằng cách sử dụng nhiều glycosidaza nội sinh và ngoại sinh như được mô tả bởi tài liệu Thotakura *et al.*, 1987, Meth. Enzymol. 138:350. Glycosyl hóa ở các vị trí glycosyl hóa tiềm năng có thể được ngăn ngừa bằng cách sử dụng hợp chất tunicamyxin như được mô tả trong tài liệu Duskin *et al.*, 1982, J. Biol. Chem. 257:3105. Tunicamyxin phong bế sự tạo thành các liên kết protein-N-glycozit.

Các cải biến khác của cấu trúc kháng thể cũng được mô tả ở đây. Ví dụ, một loại cải biến cộng hóa trị khác của cấu trúc kháng thể là liên kết cấu trúc kháng thể với các polyme không protein khác nhau, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các polyol khác nhau như polyetylen glycol, polypropylen glycol, polyoxyalkylen, hoặc copolyme của polyetylen glycol và polypropylen glycol, theo cách như nêu trong patent Mỹ số 4,640,835; 4,496,689; 4,301,144; 4,670,417; 4,791,192 hoặc 4,179,337. Ngoài ra, như đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, có thể tiến hành các thay thế axit amin ở các vị trí khác nhau trong cấu trúc kháng thể, ví dụ để tạo điều kiện thuận lợi cho việc bổ sung các polyme như PEG.

Theo một vài phương án, việc cải biến cộng hóa trị cấu trúc kháng thể theo sáng chế có thể bao gồm thêm một hoặc nhiều phân tử đánh dấu. Nhóm đánh dấu có thể được liên kết với cấu trúc kháng thể thông qua các nhánh đệm có chiều dài khác nhau để làm giảm sự cản trở trong không gian tiềm ẩn. Các phương pháp khác nhau để đánh dấu protein là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và có thể được sử dụng để thực hiện sáng chế. Thuật ngữ "phân tử đánh dấu" hoặc "nhóm đánh dấu" được dùng để chỉ phân tử đánh dấu dễ phát hiện bất kỳ. Nói chung, các phân tử đánh dấu được chia thành nhiều loại khác nhau, tùy thuộc vào thử nghiệm trong đó chúng được phát hiện –ví dụ về các phân tử đánh dấu dưới đây bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở:

a) các phân tử đánh dấu đồng vị, mà có thể là các đồng vị phóng xạ hoặc nặng, như các đồng vị phóng xạ hoặc nuclit phóng xạ (*ví dụ*, ^{3}H, ^{14}C, ^{15}N, ^{35}S, ^{89}Zr, ^{90}Y, ^{99}Tc, ^{111}In, ^{125}I, ^{131}I)
b) các phân tử đánh dấu có từ tính (*ví dụ,* các hạt từ)
c) các gốc có hoạt tính oxy hóa khử
d) các thuốc nhuộm quang học (bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các nhóm mang màu, các chất phát quang và nhóm huỳnh quang) như các nhóm huỳnh quang (*ví dụ*, các chất phát quang FITC, rodamin, lantanit), các nhóm phát quang hóa học, và nhóm huỳnh quang mà có thể là nhóm huỳnh quang "phân tử nhỏ" hoặc nhóm huỳnh quang có protein
e) các nhóm enzym (*ví dụ* peroxidaza cây củ cải cay, β-galactosidaza, luxiferaza, phosphataza kiềm)
f) các nhóm được biotinyl hóa

g) các epitop polypeptit được xác định trước được nhận diện bởi các phân tử thông báo thứ cấp (*ví dụ*, các trình tự bắt cặp của vùng khóa kéo leuxin, các vị trí liên kết cho kháng thể thứ cấp, các vùng liên kết kim loại, các đuôi epitop, v.v.)

Thuật ngữ "phân tử đánh dấu huỳnh quang" có nghĩa là phân tử bất kỳ mà có thể được phát hiện nhờ các đặc tính huỳnh quang vốn có. Các phân tử đánh dấu huỳnh quang thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, floresxein, rodamin, tetrametylrodamin, eosin, erythrosin, cumarin, metyl-cumarin, pyren, Xanh malacit, stilben, Vàng luxifer, Xanh Cascade, Đỏ Texas, IAEDANS, EDANS, BODIPY FL, LC Red 640, Cy 5, Cy 5.5, LC Red 705, xanh lá cây Oregon, các thuốc nhuộm Alexa-Fluor (Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 430, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 633, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680), Xanh Cascade, Vàng Cascade và R-phycoerythrin (PE) (Molecular Probes, Eugene, OR), FITC, Rodamin, và Đỏ Texas (Pierce, Rockford, IL), Cy5, Cy5.5, Cy7 (Amersham Life Science, Pittsburgh, PA). Các thuốc nhuộm quang học thích hợp, bao gồm nhóm huỳnh quang, được mô tả trong Sổ tay hướng dẫn các mẫu dò phân tử của Richard P. Haugland.

Các phân tử đánh dấu huỳnh quang có protein thích hợp cũng được bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, protein huỳnh quang xanh lá cây, bao gồm các loài Renilla, Ptilosarcus, hoặc Aequorea có GFP (Chalfie *et al.*, 1994, *Science* 263:802-805), EGFP (Clontech Laboratories, Inc., số đăng ký ngân hàng gen U55762), protein huỳnh quang xanh da trời (BFP, Quantum Biotechnologies, Inc. 1801 de Maisonneuve Blvd. West, 8th Floor, Montreal, Quebec, Canada H3H 1J9; Stauber, 1998, *Biotechniques* 24:462-471; Heim *et al.*, 1996, *Curr. Biol.* 6:178-182), protein huỳnh quang vàng được tăng cường (EYFP, Clontech Laboratories, Inc.), luxiferaza (Ichiki *et al.*, 1993, *J. Immunol.* 150:5408-5417), β galactosidaza (Nolan *et al.*, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:2603-2607) và Renilla (công bố đơn quốc tế số WO92/15673, WO95/07463, WO98/14605, WO98/26277, WO99/49019, Patent Mỹ số 5,292,658; 5,418,155; 5,683,888; 5,741,668; 5,777,079; 5,804,387; 5,874,304; 5,876,995; 5,925,558).

Các vùng khóa kéo leuxin là các peptit mà thúc đẩy quá trình oligome hóa protein trong đó chúng được phát hiện. Các vùng khóa kéo leuxin ban đầu được xác định trong một vài protein liên kết ADN (Landschulz *et al.*, 1988, *Science* 240:1759), và đã được tìm thấy ở nhiều protein khác nhau. Trong số các vùng khóa kéo leuxin đã biết là các peptit có nguồn gốc trong tự nhiên và các dẫn xuất của chúng mà dime hóa hoặc trime

hóa. Ví dụ về các vùng khóa kéo leuxin thích hợp để tổng hợp các protein dạng oligome hòa tan được mô tả trong công bố đơn PCT số WO 94/10308, và vùng khóa kéo leuxin thu được từ protein có hoạt tính bề mặt được chiết xuất từ phổi D (surfactant protein D-SPD) được mô tả trong tài liệu Hoppe *et al.*, 1994, *FEBS Letters* 344:191. Việc sử dụng vùng khóa kéo leuxin đã cải biến mà cho phép sự trime hóa ổn định protein khác loại được dung hợp vào đó được mô tả trong tài liệu Fanslow *et al.*, 1994, Semin. Immunol. 6:267-78. Theo một phương pháp, protein dung hợp tái tổ hợp chứa đoạn kháng thể EGFRvIII hoặc dẫn xuất được dung hợp với peptit khóa kéo leuxin được biểu hiện trong các tế bào chủ thích hợp, và các đoạn kháng thể EGFRvIII dạng oligome hòa tan hoặc các dẫn xuất tạo thành được thu hồi từ dịch nổi nuôi cấy.

Cấu trúc kháng thể theo sáng chế cũng có thể chứa các vùng khác, mà *ví dụ* hữu dụng để phân lập phân tử này hoặc có liên quan đến profin dược động học thích hợp của phân tử này. Các vùng hữu dụng để phân lập cấu trúc kháng thể có thể được chọn từ các motip peptit hoặc các gốc được đưa vào thứ cấp, mà có thể được giữ lại trong phương pháp phân lập, ví dụ cột phân lập. Các phương án không giới hạn về các vùng khác này bao gồm các motip peptit được biết đến là đuôi Myc, đuôi HAT, đuôi HA, đuôi TAP, đuôi GST, vùng liên kết chitin (đuôi CBD), protein liên kết maltoza (đuôi MBP), đuôi Flag, đuôi Strep và các biến thể của chúng (ví dụ đuôi StrepII) và đuôi His. Toàn bộ các cấu trúc kháng thể được mô tả ở đây được đặc trưng bởi các CDR xác định được ưu tiên vì chứa vùng đuôi His, mà thường được biết đến là vùng lặp gồm các gốc His liên tiếp trong trình tự axit amin của phân tử, tốt hơn là gồm năm, và tốt hơn nữa là gồm sáu gốc His (hexa-histidin). Đuôi His có thể nằm ở đầu tận cùng N hoặc C của cấu trúc kháng thể chẳng hạn, tốt hơn là nằm ở đầu tận cùng C. Tốt nhất là, đuôi hexa-histidin (HHHHHH) (SEQ ID NO: 10) được liên kết với đầu tận cùng C của cấu trúc kháng thể theo sáng chế thông qua liên kết peptit.

Vùng liên kết thứ nhất của cấu trúc kháng thể theo sáng chế liên kết với EGFRvIII của người trên bề mặt của tế bào đích. Trình tự axit amin được ưu tiên của EGFRvIII của người được thể hiện bởi SEQ ID NO: 231, 232, và 233. Do đó, tốt hơn là vùng liên kết thứ nhất theo sáng chế liên kết với EGFRvIII nếu nó được biểu hiện bởi các tế bào hoặc các dòng tế bào biểu hiện trong tự nhiên, và/hoặc bởi các tế bào hoặc các dòng tế bào được biến nạp hoặc được chuyển nhiễm (ổn định/tạm thời) EGFRvIII. Theo một phương án được ưu tiên, vùng liên kết thứ nhất cũng liên kết với EGFRvIII nếu EGFRvIII được

sử dụng làm phân tử "đích" hoặc "phối tử" trong thử nghiệm liên kết *in vitro* như BIAcore hoặc Scatchard. "Tế bào đích" có thể là tế bào chưa có nhân điển hình hoặc tế bào nhân thực bất kỳ biểu hiện EGFRvIII trên bề mặt của nó; tốt hơn là tế bào đích là tế bào của người hoặc của động vật, như tế bào ung thư buồng trứng, tế bào ung thư tuyến tụy, tế bào u trung biểu mô, tế bào ung thư phổi, tế bào ung thư dạ dày và tế bào ung thư vú bộ ba âm tính.

Tốt hơn là, ái lực của vùng liên kết thứ nhất của EGFRvIII của người là ≤20 nM, tốt hơn nữa là ≤10 nM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤5 nM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤2 nM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤1 nM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤0,6 nM, thậm chí tốt hơn nữa là ≤0,5 nM, và tốt nhất là ≤0,4 nM. Ái lực có thể được đo trong thử nghiệm BIAcore hoặc trong thử nghiệm Scatchard chẳng hạn, *ví dụ* như được mô tả trong các ví dụ. Các phương pháp xác định ái lực khác cũng đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này; ví dụ xem các ví dụ kèm theo.

Các cải biến trình tự axit amin của các cấu trúc kháng thể được mô tả ở đây cũng được mô tả. Ví dụ, có thể mong muốn cải thiện ái lực liên kết và/hoặc các đặc tính sinh học khác của cấu trúc kháng thể. Các biến thể trình tự axit amin của cấu trúc kháng thể được tạo ra bằng cách tiến hành các thay đổi nucleotit thích hợp trong axit nucleic của cấu trúc kháng thể, hoặc bằng cách tổng hợp peptit. Tất cả các cải biến trình tự axit amin được mô tả dưới đây sẽ tạo ra cấu trúc kháng thể vẫn giữ lại được hoạt tính sinh học mong muốn (liên kết với EGFRvIII và với CD3) của phân tử gốc không được cải biến.

Thuật ngữ "axit amin" hoặc "gốc axit amin" thường được dùng để chỉ axit amin có định nghĩa đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này như axit amin được chọn từ nhóm bao gồm: alanin (Ala hoặc A); arginin (Arg hoặc R); asparagin (Asn hoặc N); axit aspartic (Asp hoặc D); xystein (Cys hoặc C); glutamin (Gln hoặc Q); axit glutamic (Glu hoặc E); glyxin (Gly hoặc G); histidin (His hoặc H); isoleuxin (He hoặc I): leuxin (Leu hoặc L); lysin (Lys hoặc K); methionin (Met hoặc M); phenylalanin (Phe hoặc F); prolin (Pro hoặc P); serin (Ser hoặc S); threonin (Thr hoặc T); tryptophan (Trp hoặc W); tyrosin (Tyr hoặc Y); và valin (Val hoặc V), mặc dù axit amin đã cải biến, axit amin tổng hợp hoặc axit amin hiếm có thể được sử dụng nếu muốn. Nói chung, axit amin có thể được chia thành nhóm có mạch bên không phân cực (ví dụ, Ala, Cys, He, Leu, Met, Phe, Pro, Val); mạch bên mang điện tích âm (ví dụ, Asp, Glu); mạch bên mang điện tích dương (ví dụ, Arg,

His, Lys); hoặc mạch bên phân cực không mang điện tích (ví dụ, Asn, Cys, Gln, Gly, His, Met, Phe, Ser, Thr, Trp, và Tyr).

Các cải biến axit amin bao gồm, ví dụ, loại bỏ, và/hoặc thêm, và/hoặc thay thế, các gốc trong trình tự axit amin của các cấu trúc kháng thể. Tổ hợp loại bỏ, thêm và thay thế bất kỳ có thể được tiến hành để thu được cấu trúc cuối cùng, miễn là cấu trúc cuối cùng có các đặc tính mong muốn. Các thay đổi axit amin cũng có thể làm thay đổi các quá trình sau dịch mã của cấu trúc kháng thể, như thay đổi số hoặc vị trí của các vị trí glycosyl hóa.

Ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, hoặc 6 axit amin có thể được thêm hoặc loại bỏ ở mỗi trong số các CDR (tất nhiên, phụ thuộc vào chiều dài của chúng), trong khi đó 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, hoặc 25 axit amin có thể được thêm hoặc loại bỏ ở mỗi trong số các FR. Tốt hơn là, thêm trình tự axit amin bao gồm dung hợp đầu amino và/hoặc đầu tận cùng Carboxyl đoạn có chiều dài nằm trong khoảng từ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 hoặc 10 gốc với các polypeptit chứa một trăm hoặc nhiều hơn một trăm gốc, cũng như là việc thêm một hoặc nhiều gốc axit amin vào trong trình tự. Biến thể thêm vào của cấu trúc kháng thể theo sáng chế bao gồm dung hợp enzym với đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của cấu trúc kháng thể hoặc dung hợp với polypeptit mà làm tăng thời gian bán thải trong huyết thanh của cấu trúc kháng thể.

Các vị trí ưu tiên nhất để gây đột biến thay thế bao gồm các CDR của chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ, cụ thể là vùng siêu biến, nhưng các thay đổi FR trong chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng cũng được mô tả. Tốt hơn là, các axit amin thay thế là các axit amin thay thế bảo toàn được mô tả ở đây. Tốt hơn là, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, hoặc 10 axit amin có thể được thay thế trong CDR, trong khi đó 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, hoặc 25 axit amin có thể được thay thế trong vùng khung (framework region-FR), tùy thuộc vào chiều dài của CDR hoặc FR. Ví dụ, nếu trình tự CDR bao gồm 6 axit amin, được dự tính rằng một, hai hoặc ba axit amin này được thay thế. Tương tự, nếu trình tự CDR bao gồm 15 axit amin được dự tính rằng một, hai, ba, bốn, năm hoặc sáu axit amin này trong số các axit amin được thay thế.

Phương pháp hữu dụng để xác định các gốc hoặc các vùng nhất định của cấu trúc kháng thể mà là các vị trí được ưu tiên để gây đột biến được gọi là "gây đột biến sàng lọc alanin" như được mô tả trong tài liệu Cunningham and Wells in Science, 244: 1081-1085 (1989). Ở đây, gốc hoặc nhóm gốc đích trong cấu trúc kháng thể được xác định (*ví dụ* các

gốc mang điện như arg, asp, his, lys, và glu) và được thay thế bằng axit amin trung tính hoặc axit amin mang điện tích âm (tốt nhất là alanin hoặc polyalanin) để tác động đến sự tương tác giữa axit amin với epitop.

Sau đó, các vị trí axit amin thể hiện độ nhạy chức năng với các axit amin thay thế được sàng lọc bằng cách đưa các biến thể khác ở, hoặc đối với, các vị trí thay thế. Do đó, mặc dù vị trí hoặc vùng để biến đổi trình tự axit amin được định trước, nhưng bản chất của đột biến thực chất không cần được định trước. Ví dụ, để phân tích hoặc tối ưu hóa đặc tính của đột biến ở vị trí nhất định, sàng lọc alanin hoặc gây đột biến ngẫu nhiên có thể được tiến hành ở vùng hoặc codon đích, và các biến thể cấu trúc kháng thể biểu hiện được sàng lọc tổ hợp tối ưu có hoạt tính mong muốn. Các kỹ thuật để tiến hành các đột biến thay thế ở vị trí định trước trong ADN có trình tự đã biết là đã biết rõ, ví dụ, gây đột biến sử dụng đoạn mồi M13 và gây đột biến PCR. Sàng lọc các thể đột biến được tiến hành bằng cách sử dụng các thử nghiệm hoạt tính liên kết kháng nguyên, như liên kết với EGFRvIII hoặc CD3.

Nói chung, nếu axit amin được thay thế trong một hoặc nhiều hoặc toàn bộ các CDR của chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ, thì được ưu tiên là trình tự "thay thế" thu được sau đó có ít nhất 60% hoặc 65%, tốt hơn nữa là 70% hoặc 75%, thậm chí tốt hơn nữa là 80% hoặc 85%, và đặc biệt tốt hơn là 90% hoặc 95% tương đồng với trình tự CDR "ban đầu". Điều này có nghĩa là tùy thuộc vào chiều dài của CDR mà quyết định mức tương đồng với trình tự "thay thế". Ví dụ, tốt hơn là CDR có 5 axit amin tương đồng 80% với trình tự thay thế của nó để có ít nhất một axit amin được thay thế. Do đó, các CDR của cấu trúc kháng thể có thể có các mức tương đồng khác nhau với các trình tự thay thế của chúng, ví dụ, CDRL1 có thể có mức tương đồng bằng 80%, trong khi đó CDRL3 có thể có 90%.

Các axit amin thay thế được ưu tiên (hoặc các axit amin thay đổi) là các axit amin thay thế bảo toàn. Tuy nhiên, axit amin thay thế bất kỳ (bao gồm axit amin thay thế không bảo toàn hoặc một hoặc nhiều axit amin từ "các axit amin thay thế được lấy làm ví dụ" được liệt kê trong bảng 1, dưới đây) được xem xét miễn là cấu trúc kháng thể vẫn có khả năng liên kết với EGFRvIII thông qua vùng liên kết thứ nhất và với CD3 hoặc CD3 epsilon thông qua vùng liên kết thứ hai và/hoặc các CDR của nó có mức tương đồng với trình tự được thay thế sau đó (ít nhất 60% hoặc 65%, tốt hơn nữa là 70% hoặc 75%,

thậm chí tốt hơn nữa là 80% hoặc 85%, và đặc biệt tốt hơn là 90% hoặc 95% tương đồng với trình tự CDR "ban đầu").

Các axit amin thay thế bảo toàn được thể hiện trong bảng 1 dưới tiêu đề "các axit amin thay thế được ưu tiên". Nếu các axit amin thay thế như vậy làm thay đổi hoạt tính sinh học, sau đó là các thay đổi lớn hơn, được gọi là "các axit amin thay thế được lấy làm ví dụ" trong bảng 1, hoặc như được mô tả thêm dưới đây dựa vào các nhóm axit amin, có thể được đưa vào và các sản phẩm được sàng lọc đặc tính mong muốn.

Bảng 1: Các axit amin thay thế

Gốc ban đầu	Các axit amin thay thế được lấy làm ví dụ	Các axit amin thay thế được ưu tiên
Ala (A)	val, leu, ile	val
Arg (R)	lys, gln, asn	lys
Asn (N)	gln, his, asp, lys, arg	gln
Asp (D)	glu, asn	glu
Cys (C)	ser, ala	ser
Gln (Q)	asn, glu	asn
Glu (E)	asp, gln	asp
Gly (G)	Ala	ala
His (H)	asn, gln, lys, arg	arg
Ile (I)	leu, val, met, ala, phe	leu
Leu (L)	norleuxin, ile, val, met, ala	ile
Lys (K)	arg, gln, asn	arg
Met (M)	leu, phe, ile	leu
Phe (F)	leu, val, ile, ala, tyr	tyr
Pro (P)	Ala	ala
Ser (S)	Thr	thr
Thr (T)	Ser	ser
Trp (W)	tyr, phe	tyr
Tyr (Y)	trp, phe, thr, ser	phe
Val (V)	ile, leu, met, phe, ala	leu

Các cải biến đáng kể về đặc tính sinh học của cấu trúc kháng thể theo sáng chế được tiến hành bằng cách chọn lọc các axit amin thay thế mà khác biệt đáng kể về tác dụng của chúng đến việc duy trì (a) cấu trúc khung của polypeptit ở vùng thay thế, ví dụ, ở dạng cấu trúc tấm hoặc cấu trúc xoắn, (b) điện tích hoặc tính kỵ nước của phân tử ở vị trí đích, hoặc (c) phần lớn mạch bên. Các gốc có nguồn gốc trong tự nhiên được chia thành các nhóm dựa vào các đặc tính mạch bên thông thường: (1) tính kỵ nước: norleuxin, met, ala, val, leu, ile; (2) tính ưa nước trung tính: cys, ser, thr; (3) tính axit: asp, glu; (4) tính bazơ: asn, gin, his, lys, arg; (5) các gốc mà tác động đến định hướng chuỗi: gly, pro; và (6) tính thơm: trp, tyr, phe.

Các axit amin thay thế không bảo toàn sẽ dẫn đến việc trao đổi thành viên của một trong số các nhóm này cho nhóm khác. Gốc xystein bất kỳ không tham gia vào việc duy trì cấu hình thích hợp của cấu trúc kháng thể có thể được thay thế, thường bằng serin, để cải thiện tính ổn định oxy hóa của phân tử và ngăn ngừa liên kết ngang bất thường. Ngược lại, (các) liên kết xystein có thể được bổ sung vào kháng thể để cải thiện độ ổn định của nó (đặc biệt là khi kháng thể này là đoạn kháng thể như đoạn Fv).

Đối với trình tự axit amin, tính tương đồng và/hoặc tính đồng nhất trình tự được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật chuẩn đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, thuật toán xác định tính tương đồng trình tự cục bộ nêu trong tài liệu Smith and Waterman, 1981, *Adv. Appl. Math.* 2:482, thuật toán so sánh tính tương đồng trình tự nêu trong tài liệu Needleman and Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48:443, phương pháp tìm kiếm tính tương đồng nêu trong tài liệu Pearson and Lipman, 1988, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 85:2444, các phần mềm thực hiện các thuật toán này trên máy tính (GAP, BESTFIT, FASTA, và TFASTA trong gói chương trình phần mềm Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.), chương trình khớp trình tự tốt nhất được mô tả bởi tài liệu Devereux *et al.*, 1984, *Nucl. Acid Res.* 12:387-395, tốt hơn là bằng cách sử dụng các thông số cài đặt mặc định, hoặc bằng cách kiểm tra. Tốt hơn là, tỷ lệ tương đồng được tính toán bằng FastDB dựa vào các thông số sau: điểm phạt bắt cặp nhầm là 1; điểm phạt khoảng trống là 1; điểm phạt kích thước khoảng trống là 0,33; và điểm phạt chỗ nối là 30, "Current Methods in Sequence Comparison and Analysis," Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications, pp 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc.

Ví dụ về thuật toán hữu dụng là PILEUP. PILEUP tạo ra sự xắp thẳng hàng nhiều trình tự từ một nhóm các trình tự có liên quan nhờ sắp thẳng hàng từng cặp lũy tiến. Cũng có thể vẽ sơ đồ cây thể hiện các mối quan hệ cụm được sử dụng để tạo ra sự sắp thẳng hàng. PILEUP tận dụng sự đơn giản hóa của phương pháp sắp thẳng hàng lũy tiến nêu trong tài liệu Feng & Doolittle, 1987, *J. Mol. Evol.* 35:351-360; phương pháp này tương tự với phương pháp được mô tả trong trong tài liệu Higgins and Sharp, 1989, *CABIOS* 5:151-153. Các thông số PILEUP hữu dụng bao gồm trọng số khoảng trống mặc định là 3,00, trọng số chiều dài khoảng trống mặc định là 0,10, và các khoảng trống cuối có trọng số.

Một ví dụ khác về thuật toán hữu dụng là thuật toán BLAST, được mô tả trong tài liệu: Altschul *et al.*, 1990, *J. Mol. Biol.* 215:403-410; Altschul *et al.*, 1997, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402; và Karin *et al.*, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:5873-5787. Chương trình BLAST đặc biệt hữu dụng là chương trình WU-BLAST-2 mà được bộc lộ trong tài liệu Altschul *et al.*, 1996, *Methods in Enzymology* 266:460-480. WU-BLAST-2 sử dụng một vài thông số tìm kiếm, hầu hết các thông số này được đặt bằng các giá trị mặc định. Các thông số có thể điều chỉnh được được đặt bằng các giá trị sau: khoảng chồng lặp =1, phần chồng lặp =0,125, ngưỡng từ (T)=II. Các thông số HSP S và HSP S2 là các giá trị động và được thiết lập bằng chính chương trình tùy thuộc vào thành phần của trình tự cụ thể và thành phần của cơ sở dữ liệu cụ thể mà trình tự quan tâm được tìm kiếm; tuy nhiên các giá trị này có thể được điều chỉnh để làm tăng độ nhạy.

Thuật toán hữu dụng khác là BLAST xác định khoảng trống như được bộc lộ trong tài liệu Altschul *et al.*, 1993, *Nucl. Acids Res.* 25:3389-3402. BLAST có khoảng trống sử dụng các điểm số thay thế BLOSUM-62; thông số ngưỡng T được đặt bằng 9; phương pháp hai lần so khớp để kích hoạt các đoạn kéo dài không có khoảng trống, các chiều dài khoảng trống k được tính theo mức là 10+k; Xu được đặt bằng 16, và Xg được đặt bằng 40 đối với giai đoạn tra cứu cơ sở dữ liệu và được đặt bằng 67 đối với giai đoạn xuất ra của các thuật toán. Việc sắp xếp thẳng hàng có khoảng trống được kích hoạt bằng điểm số tương ứng với khoảng 22 bit.

Nói chung, tính đồng đẳng, tính đồng nhất, hoặc tính tương đồng axit amin giữa các CDR biến thể riêng biệt ít nhất là 60% so với trình tự được mô tả ở đây, và thông thường hơn tốt hơn là có tính đồng đẳng hoặc tính tương đồng cao ít nhất là 65% hoặc 70%, tốt hơn nữa là ít nhất 75% hoặc 80%, thậm chí tốt hơn nữa là ít nhất 85%, 90%,

91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, và hầu như là 100%. Theo cách tương tự, "tỷ lệ (%) tính tương đồng trình tự axit nucleic" đối với trình tự axit nucleic của các protein liên kết được mô tả ở đây được xác định là tỷ lệ các gốc nucleotit trong trình tự ứng viên tương đồng với các gốc nucleotit trong trình tự mã hóa của cấu trúc kháng thể. Một phương pháp cụ thể sử dụng môđun BLASTN của WU-BLAST-2 được đặt đến các thông số mặc định, với quãng chồng lợp và phần chồng lặp được đặt bằng 1 và 0,125, tương ứng.

Nói chung, tính đồng đẳng, tính đồng nhất hoặc tính tương đồng trình tự axit nucleic giữa các trình tự nucleotit mã hóa từng biến thể CDR và các trình tự nucleotit được mô tả ở đây ít nhất là 60%, và thông thường hơn có tính đồng đẳng hoặc tính tương đồng cao ít nhất là 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99%, và hầu như 100%. Do đó, "CDR biến thể" là một biến thể có tính đồng đẳng, đồng nhất hoặc tương đồng được xác định rõ với CDR gốc theo sáng chế, và có chung chức năng sinh học, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ít nhất 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% tính đặc hiệu và/hoặc hoạt tính của CDR gốc.

Theo một phương án, tỷ lệ tương đồng với cấu trúc kháng thể của dòng mầm của người theo sáng chế là ≥ 70% hoặc ≥ 75%, tốt hơn nữa là ≥ 80% hoặc ≥ 85%, thậm chí tốt hơn nữa là ≥ 90%, và tốt nhất là ≥ 91%, ≥ 92%, ≥ 93%, ≥ 94%, ≥ 95% hoặc thậm chí ≥ 96%. Tính tương đồng với các sản phẩm gen dòng mầm của kháng thể người được cho là đặc điểm quan trọng để làm giảm nguy cơ các protein dùng để điều trị gây ra đáp ứng miễn dịch chống lại dược chất ở người bệnh trong suốt quá tình điều trị. Hwang & Foote ("Immunogenicity of engineered antibodies"; Methods 36 (2005) 3-10) bộc lộ rằng việc làm giảm các phần không phải của người của các cấu trúc kháng thể dược chất dẫn đến làm giảm nguy cơ gây ra tình trạng kháng thể kháng thuốc ở người bệnh trong quá trình điều trị. Bằng cách so sánh toàn bộ số dược chất kháng thể được đánh giá lâm sàng và dữ liệu tính miễn dịch tương ứng, đã cho thấy rằng việc làm tương thích với người vùng V của các kháng thể khiến cho protein có khả năng sinh miễn dịch kém hơn (trung bình 5,1% người bệnh) so với các kháng thể mang vùng V không phải của người không bị thay đổi (trung bình 23,59% người bệnh). Do đó, mức tương đồng cao hơn với các trình tự của người là mong muốn đối với các chất điều trị protein trên cơ sở vùng V dựa trên

các protein điều trị ở dạng cấu trúc kháng thể. Để xác định tính tương đồng dòng mầm này, các vùng V của VL có thể được sắp thẳng hàng với các trình tự axit amin của các đoạn V và đoạn J dòng mầm của người (http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/) bằng cách sử dụng phần mềm Vector NTI và trình tự axit amin được tính toán bằng cách lấy số gốc axit amin tương đồng chia cho tổng số các gốc axit amin của VL theo phần trăm. Phần mềm này có thể áp dụng cho các đoạn VH (http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/) với ngoại trừ là CDR3 VH có thể được loại bỏ do tính đa dạng cao và thiếu các phần tử đối tác sắp thẳng hàng CDR3 VH dòng mầm của người hiện có. Các kỹ thuật tái tổ hợp có thể được sử dụng sau đó để làm tăng tính tương đồng trình tự với các gen dòng mầm của kháng thể người.

Theo một phương án khác, cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép theo sáng chế có hiệu suất monome cao trong các điều kiện quy mô nghiên cứu chuẩn, *ví dụ,* trong quy trình tinh sạch chuẩn gồm hai bước. Tốt hơn là, hiệu suất monome của cấu trúc kháng thể theo sáng chế là $\geq$ 0,25mg/L dịch nổi, tốt hơn nữa là $\geq$ 0,5mg/L, thậm chí tốt hơn nữa là $\geq$ 1 mg/L, và tốt nhất là $\geq$ 3 mg/L dịch nổi.

Mặt khác, hiệu suất của phân tử đồng dạng cấu trúc kháng thể dạng dime và do đó tỷ lệ monome (*tức là*, monome : (monome+dime)) của cấu trúc kháng thể có thể được xác định. Hiệu suất của các cấu trúc kháng thể dạng monome và dime và tỷ lệ monome theo tính toán có thể được tính toán ở bước tinh sạch SEC dịch nổi nuôi cấy từ quy trình tổng hợp ở quy mô nghiên cứu chuẩn trong các chai lăn. Theo một phương án, tỷ lệ monome của cấu trúc kháng thể là $\geq$ 80%, tốt hơn nữa là $\geq$ 85%, thậm chí tốt hơn nữa là $\geq$ 90%, và tốt nhất là $\geq$ 95%.

Theo một phương án, cấu trúc kháng thể có tính ổn định trong huyết tương được ưu tiên (tỷ lệ giữa EC50 có huyết tương so với EC50 không có huyết tương) là $\leq$ 5 hoặc $\leq$ 4, tốt hơn nữa là $\leq$ 3,5 hoặc $\leq$ 3, thậm chí tốt hơn nữa là $\leq$ 2,5 hoặc $\leq$ 2, và tốt nhất là $\leq$ 1,5 hoặc $\leq$ 1. Độ ổn định trong huyết tương của cấu trúc kháng thể có thể được thử nghiệm bằng cách ủ cấu trúc này trong huyết tương của người ở nhiệt độ 37°C trong 24 giờ sau đó xác định EC50 trong thử nghiệm về tính độc tế bào giải phóng 51-crom. Các tế bào tác động trong thử nghiệm về tính độc tế bào có thể là các tế bào T dương tính CD8 của người được làm giàu đã qua kích thích. Các tế bào đích có thể là các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII của người. Tỷ lệ tế bào tác động so với tế bào đích (E:T) có thể được chọn là 10:1. Huyết tương của người được dùng cho mục đích này

được lấy từ máu của người cho khỏe mạnh được lấy bằng các bơm tiêm đã phủ EDTA. Các thành phần tế bào được loại bỏ bằng cách ly tâm và pha huyết tương trên được thu gom và sau đó được gộp lại. Cấu trúc kháng thể được pha loãng ngay trước thử nghiệm về tính độc tế bào trong môi trường RPMI-1640 làm đối chứng. Độ ổn định trong huyết tương được tính toán là tỷ lệ giữa EC50 (sau khi ủ trong huyết tương) so với EC50 (đối chứng). Xem ví dụ 7.

Hơn nữa được ưu tiên rằng mức chuyển hóa dạng monome sang dime của cấu trúc kháng thể theo sáng chế là thấp. Mức chuyển hóa có thể được đánh giá trong các điều kiện khác nhau và được phân tích bằng sắc ký loại trừ kích thước hiệu năng cao. Xem ví dụ 5. Ví dụ, việc ủ các phân tử đồng dạng monome của cấu trúc kháng thể có thể được tiến hành trong 7 ngày ở nhiệt độ 37°C và nồng độ bằng 250 µg/ml chẳng hạn trong tủ ủ. Trong các điều kiện này, được ưu tiên là cấu trúc kháng thể theo sáng chế có tỷ lệ dime ≤2,5%, tốt hơn nữa là ≤2%, tốt hơn nữa là ≤1,5%, thậm chí tốt hơn nữa là ≤1%, tốt hơn nữa là ≤0,5%, và tốt nhất là ≤0,25%. Trong khi cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép dựa trên EvIII-2 cho thấy tỷ lệ chuyển hóa dime là 1,56%, cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép dựa trên EvIII-1 theo sáng chế cho thấy tỷ lệ chuyển hóa dime ở giới hạn trên của giới hạn được ưu tiên nhất cho đặc tính này.

Cũng được ưu tiên là cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép theo sáng chế có mức chuyển hóa thành dime rất thấp sau một số chu kỳ đóng băng/rã đông. Ví dụ, cấu trúc kháng thể dạng monome được điều chỉnh đến nồng độ bằng 250µg/ml chẳng hạn trong dung dịch đệm công thức chung và được tiến hành ba chu kỳ đóng băng/rã đông (đóng băng ở nhiệt độ -80°C trong 30 phút sau đó rã đông trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng), sau đó tiến hành SEC hiệu năng cao để xác định tỷ lệ của cấu trúc kháng thể dạng monome ban đầu, mà đã được chuyển hóa thành cấu trúc kháng thể dạng dime. Tốt hơn là, tỷ lệ cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép ở dạng dime là ≤2,5%, tốt hơn nữa là ≤2%, tốt hơn nữa là ≤1,5%, và tốt hơn nữa là ≤1% hoặc tốt nhất ≤0,5%, ví dụ sau ba chu kỳ đóng băng/rã đông. Trong khi cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép dựa trên EvIII-2 không đáp ứng được khoảng được ưu tiên (2,53% dime), cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép dựa trên EvIII-1 theo sáng chế cho thấy tỷ lệ chuyển hóa dime ở giới hạn trên của giới hạn được ưu tiên nhất cho đặc tính này (0,59% dime).

Tốt hơn là, cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép theo sáng chế có độ ổn định nhiệt thích hợp tốt với nhiệt độ kết tụ ≥45°C hoặc ≥50°C, tốt hơn nữa là ≥51°C, ≥52°C, ≥53°C hoặc

≥54°C, thậm chí tốt hơn nữa là ≥56°C hoặc ≥57°C, và tốt nhất là ≥58°C hoặc ≥59°C. Thông số ổn định nhiệt có thể được xác định đối với nhiệt độ kết tụ kháng thể là như sau: Dung dịch kháng thể ở nồng độ 250µg/ml được chuyển vào cuvet sử dụng một lần và được đặt trong thiết bị tán xạ ánh sáng động lực (Dynamic Light Scattering-DLS). Mẫu được gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40°C đến 70°C ở tốc độ gia nhiệt bằng 0,5°C/phút với bán kính đo được không đổi. Bán kính tăng chứng tỏ là protein nóng chảy và mức kết tụ được dùng để tính toán nhiệt độ kết tụ của kháng thể. Xem ví dụ 6.

Theo cách khác, đường cong nhiệt độ nóng chảy có thể được xác định bằng phép đo nhiệt lượng quét vi phân (Differential Scanning Calorimetry-DSC) để xác định độ ổn định protein sinh lý thực chất của các cấu trúc kháng thể. Các thử nghiệm này được tiến hành bằng cách sử dụng thiết bị MicroCal LLC (Northampton, MA, U.S.A) VP-DSC. Mức hấp thu năng lượng của mẫu chứa cấu trúc kháng thể được ghi lại ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 90°C so với mẫu chỉ chứa dung dịch đệm bào chế. Cấu trúc kháng thể được điều chỉnh đến nồng độ cuối bằng 250µg/ml *ví dụ* trong dung dịch đệm chạy SEC. Để ghi lại đường cong nóng chảy tương ứng, toàn bộ nhiệt độ của mẫu được tăng từng bậc. Ở mỗi nhiệt độ T, mức hấp thu năng lượng của mẫu và đối chứng dung dịch đệm bào chế được ghi lại. Độ chênh lệch về mức hấp thu năng lượng Cp (kcal/mol/°C) của mẫu trừ đi mẫu đối chứng được lập đồ thị theo nhiệt độ tương ứng. Nhiệt độ nóng chảy được xác định là nhiệt độ mà tại đó đạt được mức hấp thu năng lượng tối đa thứ nhất.

Cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIII xCD3 theo sáng chế cũng được mô tả là có độ đục (như được đo bằng OD340 sau khi nồng độ của cấu trúc kháng thể dạng monome đã tinh sạch đạt đến mức bằng 2,5mg/ml và ủ qua đêm) ≤ 0,2, tốt hơn là ≤ 0,15, tốt hơn nữa là ≤ 0,12, thậm chí tốt hơn nữa là ≤ 0,1, hoặc thậm chí ≥ 0,09 và tốt nhất là ≤ 0,08 hoặc ≥ 0,07. Xem ví dụ 7. Trong khi cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép dựa trên EvIII-2 cho thấy độ đục tương đối cao (được đánh giá bằng OD340 sau khi cô cấu trúc kháng thể monome đã tinh sạch đến nồng độ 2,5 mg/ml và ủ qua đêm) gần bằng 3, thì chỉ có cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép dựa trên EvIII-1 theo sáng chế là trong suốt trong phạm vi phổ mong muốn đối với các hợp chất protein dùng cho dược phẩm, xem bảng 3 trong ví dụ 7.

Theo một phương án khác, cấu trúc kháng thể theo sáng chế là ổn định ở pH axit. Cấu trúc kháng thể hoạt động ở pH không sinh lý như pH 5,5 (pH mà không cần chạy sắc

ký trao đổi cation chẳng hạn) mà càng dung nạp tốt, thì mức thu hồi cấu trúc kháng thể được giải hấp khỏi cột trao đổi ion so với tổng lượng protein được nạp càng cao. Tốt hơn là, mức thu hồi cấu trúc kháng thể từ cột trao đổi ion (*ví dụ*, cation) ở pH 5,5 là ≥ 30%, tốt hơn nữa là ≥ 40%, tốt hơn nữa là ≥ 50%, thậm chí tốt hơn nữa là ≥ 60%, thậm chí tốt hơn nữa là ≥ 70%, thậm chí tốt hơn nữa là ≥ 80%, thậm chí tốt hơn nữa là ≥ 90%, thậm chí tốt hơn nữa là ≥ 95%, và tốt nhất là ≥ 99%.

Ngoài ra, được dự tính rằng cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép theo sáng chế có hiệu quả điều trị hoặc hoạt tính kháng khối u. Điều này có thể được đánh giá trong nghiên cứu như được bộ lộc trong ví dụ dưới đây về mô hình ghép ngoại lai khối u người giai đoạn tiến triển:

Vào ngày 1 của nghiên cứu, $5x10^6$ tế bào của dòng tế bào ung thư dương tính EGFRvIII của người (ví dụ dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm U87 OR DK-MG) được tiêm dưới da vào cạnh lưng bên phải của chuột cái NOD/SCID. Khi thể tích khối u trung bình đạt đến kích thước bằng $100mm^3$, các tế bào T dương tính CD3 của người được nhân rộng in vitro được cấy ghép vào chuột bằng cách tiêm $2x10^7$ tế bào vào khoang phúc mạc của chuột. Chuột ở nhóm đối chứng dùng chất dẫn 1 không nhận tế bào tác động và được sử dụng làm đối chứng không được cấy ghép để so sánh với nhóm đối chứng dùng chất dẫn 2 (có nhận tế bào tác động) để kiểm tra tác động của một mình tế bào T đến sự phát triển khối u. Điều trị bằng kháng thể bắt đầu khi thể tích khối u trung bình đạt đến kích thước bằng $200mm^3$. Kích thước khối u trung bình của mỗi nhóm điều trị vào ngày bắt đầu điều trị không khác biệt về mặt thống kê với nhóm còn lại bất kỳ (phân tích phương sai). Chuột được điều trị bằng 0,5mg/kg/ngày cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIII xCD3 bằng cách tiêm liều lớn qua đường tĩnh mạch trong khoảng thời gian từ 15 đến 20 ngày. Kích thước khối u được đo bằng thước kẹp trong suốt nghiên cứu và sự tiến triển kích thước khối u được đánh giá bằng cách so sánh thể tích khối u (tumor volume-TV) giữa các nhóm. Mức ức chế sự phát triển khối u T/C [%] được xác định bằng cách tính toán TV bằng công thức T/C% = 100 x (TV trung bình của nhóm được phân tích)/(TV trung bình của nhóm đối chứng 2).

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này biết cách cải biến hoặc điều chỉnh các thông số nhất định của nghiên cứu này, như số tế bào khối u được tiêm, vị trí tiêm, số tế bào T của người được cấy ghép, lượng cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép được sử dụng, và mốc thời gian, trong khi đó vẫn thu được kết quả có ý nghĩa và lặp lại.

Tốt hơn là, mức ức chế sự phát triển khối u T/C [%] là ≤ 70 hoặc ≤ 60, tốt hơn nữa là ≤ 50 hoặc ≤ 40, thậm chí tốt hơn nữa là ≤ 30 hoặc ≤ 20 và tốt nhất là ≤ 10 hoặc ≤ 5 hoặc thậm chí ≤ 2,5.

Sáng chế còn đề xuất polynucleotit/phân tử axit nucleic mã hóa cấu trúc kháng thể theo sáng chế.

Polynucleotit là một polyme sinh học gồm 13 hoặc nhiều hơn 13 monome nucleotit được liên kết cộng hóa trị trong một chuỗi. ADN (như cADN) và ARN (như mARN) là các ví dụ về polynucleotit có chức năng sinh học khác biệt. Các nucleotit là các phân tử hữu cơ mà dùng làm monome hoặc cấu trúc dưới phân tử của các phân tử axit nucleic như ADN hoặc ARN. Phân tử axit nucleic hoặc polynucleotit có thể là mạch kép và mạch đơn, mạch thẳng và mạch vòng. Tốt hơn là, phân tử này nằm trong vectơ mà được bao gồm trong tế bào chủ. Tế bào chủ như vậy, *ví dụ* sau khi biến nạp hoặc chuyển nhiễm vectơ hoặc polynucleotit theo sáng chế, có khả năng biểu hiện cấu trúc kháng thể. Vì mục đích đó polynucleotit hoặc phân tử axit nucleic được liên kết hoạt động được với các trình tự kiểm soát.

Mã di truyền là bộ quy tắc mà qua đó thông tin được mã hóa trong vật liệu di truyền (các axit nucleic) được dịch mã thành protein. Việc giải mã sinh học trong các tế bào sống được thực hiện bởi ribosom mà liên kết axit amin theo thứ tự được quy định bởi mARN, sử dụng các phân tử tARN để mang axit amin và để đọc ba nucleotit trên mARN cùng một lúc. Mã di truyền xác định cách các trình tự gồm các bộ ba nucleotit này, được gọi là các codon, quy định axit amin nào sẽ được bổ sung tiếp theo trong quá trình tổng hợp protein. Với một vài ngoại lệ, codon ba nucleotit trong trình tự axit nucleic quy định một axit amin. Vì phần lớn các gen được mã hóa chính xác bằng cùng một mã, mã cụ thể này thường được dùng để chỉ là mã di truyền chuẩn hoặc chính tắc. Mặc dù mã di truyền xác định trình tự protein cho một vùng mã hóa nhất định, các vùng bộ gen khác có thể gây ảnh hưởng khi và ở nơi các protein được tổng hợp.

Hơn nữa, sáng chế đề cập đến vectơ chứa polynucleotit/phân tử axit nucleic theo sáng chế.

Vectơ là một phân tử axit nucleic được sử dụng làm vật mang để chuyển vật liệu di truyền (ngoại lai) vào tế bào. Thuật ngữ "vectơ" bao gồm – nhưng không chỉ giới hạn ở – plasmit, virut, cosmit và nhiễm sắc thể nhân tạo. Nói chung, các vectơ được thao tác di truyền chứa điểm khởi đầu tái bản, vị trí đa tách dòng và chỉ thị chọn lọc. Bản thân

vectơ thường là một trình tự nucleotit, phổ biến là trình tự ADN, mà chứa trình tự cài (gen chuyển) và trình tự lớn hơn gọi là "khung" của vectơ. Các vectơ hiện đại có thể bao gồm các yếu tố khác ngoài trình tự cài gen chuyển và khung: trình tự khởi đầu, chỉ thị di truyền, đoạn kháng kháng sinh, gen thông báo, trình tự đích, đuôi tinh sạch protein. Các vectơ được gọi là vectơ biểu hiện (các cấu trúc biểu hiện) đặc biệt được dùng để biểu hiện gen chuyển trong tế bào đích, và thường có các trình tự kiểm soát.

Thuật ngữ "các trình tự kiểm soát" được dùng để chỉ các trình tự ADN cần để biểu hiện trình tự mã hóa được liên kết hoạt động được trong vi sinh vật chủ cụ thể. Các trình tự kiểm soát mà thích hợp với sinh vật chưa có nhân điển hình, ví dụ, bao gồm trình tự gen khởi đầu, tùy ý trình tự gen vận hành, và vị trí liên kết ribosom. Các tế bào nhân thực được biết đến để sử dụng gen khởi đầu, các tín hiệu polyadenyl hóa, và các gen tăng cường.

Axit nucleic "được liên kết hoạt động được" nếu nó được đặt vào trong mối quan hệ chức năng với trình tự axit nucleic khác. Ví dụ, ADN của tiền trình tự hoặc trình tự dẫn chế tiết được liên kết hoạt động được với ADN của một polypeptit nếu nó được biểu hiện ở dạng tiền protein mà tham gia vào quá trình tiết polypeptit này; gen khởi đầu hoặc gen tăng cường được liên kết hoạt động được với trình tự mã hóa nếu nó tác động đến quá trình phiên mã của trình tự này; hoặc vị trí liên kết ribosom được liên kết hoạt động được với trình tự mã hóa nếu nó được bố trí để tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình dịch mã. Nói chung, "được liên kết hoạt động được" có nghĩa là các trình tự ADN được liên kết là kế tiếp nhau, và, trong trường hợp trình tự dẫn chế tiết, là kế tiếp và nằm trong pha đọc. Tuy nhiên, các gen tăng cường không buộc phải kế tiếp. Việc liên kết được thực hiện bằng cách nối ở các vị trí cắt giới hạn thích hợp. Nếu các vị trí này không có, thì các vùng thích nghi oligonucleotit tổng hợp hoặc các mối liên kết được sử dụng theo thực tiễn thông thường.

"Chuyển nhiễm" là một quy trình đưa phân tử axit nucleic hoặc polynucleotit (kể cả vectơ) vào tế bào đích một cách có chủ ý. Thuật ngữ này hầu như được sử dụng trong các phương pháp không virut ở các tế bào có nhân thực. Tải nạp thường được sử dụng để mô tả việc chuyển phân tử axit nucleic hoặc polynucleotit qua trung gian virut. Chuyển nhiễm các tế bào động vật thường có liên quan đến các khe hở mở tạm thời hoặc "các lỗ" trên màng tế bào, để cho phép hấp thu nguyên liệu. Chuyển nhiễm có thể được tiến hành bằng cách sử dụng canxi phosphat, bằng cách xung điện, bằng cách thắt ép tế bào hoặc

bằng cách trộn lipit cation với nguyên liệu để tạo ra liposom, mà dung hợp với màng tế bào và đưa phân tử chuyển nhiễm vào bên trong.

Thuật ngữ "biến nạp" được dùng để mô tả việc chuyển không virut các phân tử axit nucleic hoặc polynucleotit (kể cả vectơ) vào vi khuẩn, và vào cả tế bào có nhân thực không phải của động vật, kể cả tế bào thực vật. Do đó, biến nạp là sự thay đổi di truyền tế bào vi khuẩn hoặc tế bào nhân thực không phải của động vật dẫn đến sự hấp thu trực tiếp qua màng tế bào từ môi trường xung quanh và sau đó kết hợp nguyên liệu di truyền ngoại sinh (các phân tử axit nucleic). Biến nạp có thể được thực hiện bằng cách nhân tạo. Để biến nạp xảy ra, tế bào hoặc vi khuẩn phải ở trạng thái khả biến, mà có thể xảy ra đáp ứng giới hạn thời gian với các điều kiện môi trường như môi trường kiệt quệ và mật độ tế bào.

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến tế bào chủ được biến nạp hoặc chuyển nhiễm polynucleotit/phân tử axit nucleic hoặc vectơ theo sáng chế.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "tế bào chủ" hoặc "tế bào nhận" được dự định để bao gồm từng tế bào hoặc chủng nuôi cấy tế bào mà có thể là hoặc đã từng là các tế bào nhận vectơ, phân tử axit nucleic ngoại sinh, và polynucleotit mã hóa cấu trúc kháng thể theo sáng chế; và/hoặc tế bào nhận chính cấu trúc kháng thể. Việc đưa nguyên liệu tương ứng vào tế bào được tiến hành bằng cách biến nạp, chuyển nhiễm và phương pháp tương tự. Thuật ngữ "tế bào chủ" cũng được dự định bao gồm thế hệ con hoặc thế hệ con tiềm ẩn của một tế bào. Do các cải biến nhất định có thể xảy ra ở các thế hệ tiếp theo bởi đột biến tự nhiên, ngẫu nhiên hoặc có chủ ý hoặc bởi tác động của môi trường, thế hệ con này thực tế có thể không giống nhau hoàn toàn (về hình thái hoặc về trình tự bổ sung ADN tổng hoặc bộ gen) so với tế bào gốc, nhưng vẫn được bao gồm trong phạm vi của thuật ngữ như được sử dụng ở đây. Các tế bào chủ thích hợp bao gồm tế bào chưa có nhân điển hình hoặc tế bào nhân thực, và cũng bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở vi khuẩn, tế bào nấm men, tế bào nấm, tế bào thực vật, và tế bào động vật như tế bào côn trùng và tế bào của động vật có vú, ví dụ, chuột nhắt, chuột cống, khỉ macaca hoặc người.

Cấu trúc kháng thể theo sáng chế có thể được tổng hợp trong vi khuẩn. Sau khi biểu hiện, cấu trúc kháng thể theo sáng chế được phân lập từ bột nhão tế bào *E. coli* ở phân đoạn hòa tan và có thể được tinh sạch bằng, ví dụ, sắc ký ái lực và/hoặc sắc ký loại trừ theo kích thước. Tinh sạch lần cuối có thể được tiến hành tương tự với quy trình tinh sạch kháng thể được biểu hiện trong các tế bào CHO chẳng hạn.

Ngoài sinh vật chưa có nhân điển hình, vi sinh vật có nhân thực như nấm sợi hoặc nấm men cũng là các tế bào chủ biểu hiện hoặc tách dòng thích hợp đối với cấu trúc kháng thể theo sáng chế. *Saccharomyces cerevisiae*, hoặc nấm men bánh mì thông thường, là vi sinh vật chủ thường được sử dụng nhất trong số các vi sinh vật chủ có nhân thực bậc thấp. Tuy nhiên, số chi, loài và chủng khác là thường sẵn có và hữu dụng ở đây, như các tế bào chủ *Schizosaccharomyces pombe*, Kluyveromyces như *K. lactis, K. fragilis* (ATCC 12424), *K. bulgaricus* (ATCC 16045), *K. wickeramii* (ATCC 24178), *K. waltii* (ATCC 56500), *K. drosophilarum* (ATCC 36906), *K. thermotolerans*, và *K. marxianus*; yarrowia (EP 402 226); *Pichia pastoris* (EP 183 070); Candida; *Trichoderma reesia* (EP 244 234); *Neurospora crassa*; Schwanniomyces như *Schwanniomyces occidentalis*; và nấm sợi như tế bào chủ Neurospora, Penicillium, Tolypocladium, và Aspergillus như *A. nidulans* và *A. niger*.

Các tế bào chủ thích hợp để biểu hiện cấu trúc kháng thể được glycosyl hóa theo sáng chế được lấy từ các vi sinh vật đa bào. Ví dụ về các tế bào của động vật không xương sống bao gồm các tế bào thực vật và tế bào côn trùng. Nhiều chủng baculovirut và biến thể và các tế bào chủ côn trùng chấp nhận được tương ứng như *Spodoptera frugiperda* (sâu bướm), *Aedes aegypti* (muỗi vằn), *Aedes albopictus* (muỗi vằn châu Á), *Drosophila melanogaster* (ruồi giấm), và *Bombyx mori* đã được xác định. Nhiều chủng virut dùng để chuyển nhiễm là sẵn có, *ví dụ*, biến thể L-1 của *Autographa californica* NPV và chủng Bm-5 của *Bombyx mori* NPV, và các virut như vậy có thể được sử dụng làm virut ở đây theo sáng chế, cụ thể là để chuyển nhiễm các tế bào *Spodoptera frugiperda*.

Các chủng nuôi cấy tế bào thực vật của cây bông, cây ngô, khoai tây, đậu tương, cây thuốc lá cảnh, cây cà chua, Arabidopsis (họ cải) và thuốc lá cũng có thể được sử dụng làm các tế bào chủ. Các vectơ tách dòng và biểu hiện hữu dụng để tổng hợp protein trong chủng nuôi cấy tế bào thực vật là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, xem tài liệu Hiatt *et al.*, Nature (1989) 342: 76-78, Owen *et al.* (1992) Bio/Technology 10: 790-794, Artsaenko *et al.* (1995) The Plant J 8: 745-750, và Fecker *et al.* (1996) Plant Mol Biol 32: 979-986.

Tuy nhiên, được quan tâm hơn cả là các tế bào của động vật có xương sống, và quy trình nuôi cấy các tế bào của động vật có xương sống trong môi trường nuôi cấy (môi trường nuôi cấy mô) đã trở thành một quy trình thông thường. Ví dụ về các dòng tế bào

chủ của động vật có vú hữu dụng là dòng tế bào thận khỉ CV1 được chuyển nhiễm SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651); dòng tế bào thận của phổi người (293 hoặc tế bào 293 được tách dòng phụ để phát triển trong môi trường nuôi cấy huyền phù, Graham et al. , J. Gen Virol. 36 : 59 (1977)); tế bào thận của chuột đuôi cụt con (BHK, ATCC CCL 10); tế bào trứng của chuột đuôi cụt Trung Quốc/-DHFR (CHO, Urlaub *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216 (1980)); tế bào sertoli của chuột nhắt (TM4, Mather, Biol. Reprod. 23: 243-251 (1980)); tế bào thận khỉ (CVI ATCC CCL 70); tế bào thận của khỉ xanh châu Phi (VERO-76, ATCC CRL1587); tế bào caxinom cổ tử cung của người (HELA, ATCC CCL 2); tế bào thận chó (MDCK, ATCC CCL 34); tế bào gan chuột trâu (BRL 3A, ATCC CRL 1442); tế bào phổi người (W138, ATCC CCL 75); tế bào gan người (Hep G2,1413 8065); khối u vú của chuột nhắt (MMT 060562, ATCC CCL5 1); tế bào TRI (Mather *et al.*, Annals N. Y Acad. Sci. (1982) 383: 44-68); tế bào MRC 5; tế bào FS4; và dòng tế bào ung thư gan của người (Hep G2).

Theo một phương án khác sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất cấu trúc kháng thể theo sáng chế, trong đó quy trình này bao gồm nuôi cấy tế bào chủ theo sáng chế trong các điều kiện cho phép biểu hiện cấu trúc kháng thể theo sáng chế và thu hồi cấu trúc kháng thể được tổng hợp từ môi trường nuôi cấy tế bào.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "nuôi cấy" được dùng để chỉ sự duy trì, sự biệt hóa, sự phát triển, sự tăng sinh và/hoặc sự nhân giống *in vitro* các tế bào trong các điều kiện thích hợp trong môi trường. Thuật ngữ "biểu hiện" bao gồm bước bất kỳ có liên quan đến sự tổng hợp cấu trúc kháng thể theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phiên mã, cải biến sau phiên mã, dịch mã, cải biến sau dịch mã, và tiết.

Nếu sử dụng các kỹ thuật tái tổ hợp, cấu trúc kháng thể có thể được tổng hợp trong tế bào, ở khoảng trống quanh tế bào chất, hoặc được tiết trực tiếp vào môi trường. Nếu cấu trúc kháng thể được tổng hợp trong tế bào, như là bước đầu tiên, thì mảnh vỡ hạt tế bào, tế bào chủ hoặc các đoạn phân giải, được loại bỏ, ví dụ, bằng cách ly tâm hoặc siêu lọc. Tài liệu Carter *et al.*, Bio/Technology 10: 163-167 (1992) mô tả quy trình phân lập các kháng thể mà được tiết vào khe quanh tế bào chất của *E. coli*. Nói tóm lại, bột nhão tế bào được rã đông khi có mặt natri axetat (pH 3,5), EDTA, và phenylmetylsulfonylflorua (PMSF) trong 30 phút. Mảnh vỡ tế bào có thể được loại bỏ bằng cách ly tâm. Nếu kháng thể được tiết vào môi trường, dịch nổi từ các hệ biểu hiện này thường được cô lần đầu bằng cách sử dụng thiết bị lọc cô protein sẵn có trên thị trường, ví dụ, thiết bị siêu lọc

Amicon hoặc Millipore Pellicon. Chất ức chế proteaza như PMSF có thể được bao gồm trong bước bất kỳ trong số các bước nêu trên để ức chế sự phân giải protein và các kháng sinh có thể được bao gồm để ngăn ngừa sự phát triển của các tạp chất ngẫu nhiên.

Cấu trúc kháng thể theo sáng chế được tổng hợp từ các tế bào chủ có thể được thu hồi hoặc được tinh sạch bằng cách sử dụng, ví dụ, sắc ký hydroxylapatit, điện di trên gel, thẩm tích, và sắc ký ái lực. Các kỹ thuật tinh sạch protein khác như phân đoạn trên cột trao đổi ion, kết tủa etanol, HPLC pha đảo, sắc ký trên silica, sắc ký trên heparin SEPHAROSE^{TM}, sắc ký trên nhựa trao đổi anion hoặc cation (như cột axit polyaspartic), sắc ký tập trung, SDS-PAGE, và kết tủa bằng amoni sulfat cũng có thể dùng được tùy thuộc vào kháng thể được thu hồi. Nếu cấu trúc kháng thể theo sáng chế chứa vùng CH3, thì nhựa Bakerbond ABX (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ) là hữu dụng để tinh sạch.

Sắc ký ái lực là kỹ thuật tinh sạch được ưu tiên. Chất nền mà phối tử ái lực gắn vào thường là agaroza, tuy nhiên các chất nền khác cũng có thể dùng được. Các chất nền ổn định về mặt cơ học như thủy tinh rỗng có kiểm soát hoặc poly (styrendivinyl) benzen cho phép tốc độ chảy nhanh hơn và thời gian xử lý ít hơn so với việc sử dụng agaroza.

Hơn nữa, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa cấu trúc kháng thể theo sáng chế hoặc cấu trúc kháng thể được tổng hợp theo quy trình theo sáng chế. Tốt hơn là dược phẩm theo sáng chế có độ đồng nhất của cấu trúc kháng thể ≥ 80%, tốt hơn nữa là ≥ 81%, ≥ 82%, ≥ 83%, ≥ 84%, hoặc ≥ 85%, tốt hơn nữa là ≥ 86%, ≥ 87%, ≥ 88%, ≥ 89%, hoặc ≥ 90%, còn tốt hơn nữa là, ≥ 91%, ≥ 92%, ≥ 93%, ≥ 94%, hoặc ≥ 95% và tốt nhất là ≥ 96%, ≥ 97%, ≥ 98% hoặc ≥ 99%.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "dược phẩm" được dùng để chỉ chế phẩm thích hợp để sử dụng cho người bệnh, tốt hơn là cho người bệnh. Dược phẩm đặc biệt được ưu tiên theo sáng chế chứa một hoặc nhiều cấu trúc kháng thể theo sáng chế, tốt hơn là với lượng hữu hiệu để điều trị. Tốt hơn là, dược phẩm còn bao gồm các chế phẩm thích hợp chứa một hoặc nhiều chất mang, chất làm ổn định, tá dược, chất pha loãng, chất làm tan, chất hoạt động bề mặt, chất nhũ hóa, chất bảo quản và/hoặc chất bổ trợ (hữu hiệu để bào chế). Tốt hơn là, các thành phần chấp nhận được của chế phẩm không độc với người sử dụng ở liều và nồng độ được sử dụng. Dược phẩm theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chế phẩm dạng lỏng, đông lạnh, và đông khô.

Chế phẩm theo sáng chế có thể chứa chất mang dược dụng. Nói chung, như được sử dụng ở đây, "chất mang dược dụng" có nghĩa là chất mang bất kỳ hay toàn bộ các

dung dịch chứa nước và không chứa nước, dung dịch vô trùng, dung môi, dung dịch đệm, ví dụ dung dịch nước muối được đệm phosphat (phosphate buffered saline-PBS), nước, hỗn dịch, nhũ tương, như nhũ tương dầu/nước, các loại khác gồm chất làm ẩm, liposom, môi trường phân tán và các chất bao, mà thích hợp để dùng trong lĩnh vực dược, cụ thể là thích hợp để dùng ngoài đường tiêu hóa. Việc sử dụng môi trường và các chất như vậy trong dược phẩm là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này, và chế phẩm chứa các chất mang như vậy có thể được bào chế bằng các phương pháp thông thường đã biết rõ.

Các phương án nhất định đề xuất dược phẩm chứa cấu trúc kháng thể theo sáng chế và một hoặc nhiều tá dược khác như các tá dược được mô tả minh họa trong phần này và phần bất kỳ ở đây. Các tá dược có thể được sử dụng trong sáng chế theo khía cạnh này nhằm nhiều mục đích, như điều chỉnh các đặc tính vật lý, hóa học hoặc sinh học của chế phẩm, như điều chỉnh độ nhớt, và hoặc các quy trình theo sáng chế để cải thiện hiệu quả và hoặc để làm ổn định các chế phẩm và các quy trình chống lại sự thoái biến và sự hư hỏng do, ví dụ, các tác động mà xảy ra trong quá trình sản xuất, vận chuyển, bảo quản, bào chế trước khi dùng, sử dụng, và quá trình sau đó.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm có thể chứa các nguyên liệu bào chế nhằm mục đích cải biến, duy trì hoặc bảo quản, *ví dụ*, độ pH, nồng độ mol, độ nhớt, độ trong, màu, tính đẳng trương, mùi, độ vô trùng, độ ổn định, tốc độ hòa tan hoặc giải phóng, khả năng hấp thu hoặc thấm chế phẩm (xem tài liệu, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18" Edition, (A.R. Genrmo, ed.), 1990, Mack Publishing Company). Theo các phương án này, các nguyên liệu bào chế thích hợp có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở:

- axit amin như glyxin, alanin, glutamin, asparagin, threonin, prolin, 2-phenylalanin, bao gồm axit amin mang điện, tốt hơn là lysin, lysin axetat, arginin, glutamat và/hoặc histidin
- các hợp chất kháng vi sinh vật như chất kháng khuẩn và kháng nấm
- chất chống oxy hóa như axit ascorbic, methionin, natri sulfit hoặc natri hydro-sulfit;
- dung dịch đệm, hệ đệm và các chất đệm mà được sử dụng để duy trì chế phẩm ở pH sinh lý hoặc ở pH thấp hơn một chút, thông thường pH nằm trong khoảng từ 5 đến 8 hoặc 9; ví dụ về các dung dịch đệm là borat, bicacbonat, Tris-HCl, xitrat, phosphat hoặc các axit hữu cơ khác, sucxinat, phosphat, histidin và axetat; ví dụ

dung dịch đệm Tris có pH nằm trong khoảng 7,0-8,5, hoặc dung dịch đệm axetat có pH nằm trong khoảng 4,0-5,5;

- các dung môi không chứa nước như propylen glycol, polyetylen glycol, dầu thực vật như dầu oliu, và este hữu cơ tiêm được như etyl oleat;
- các chất mang chứa nước bao gồm nước, dung dịch rượu/dung dịch nước, nhũ tương hoặc hỗn dịch, bao gồm dung dịch nước muối và môi trường được đệm;
- polyme dễ thoái biến sinh học như polyeste;
- chất độn như manitol hoặc glyxin;
- chất tạo chelat như axit etylendiamin tetraaxetic (EDTA);
- chất đẳng trương và làm chậm hấp thu;
- các chất tạo phức như cafein, polyvinylpyrolidon, beta-xyclodextrin hoặc hydroxypropyl-beta-xyclodextrin)
- các chất độn;
- monosacarit; disacarit; và các hydrat cacbon khác (như glucoza, manoza hoặc dextrin); hydrat cacbon có thể là đường không khử, tốt hơn là trehaloza, sucroza, octasulfat, sorbitol hoặc xylitol;
- protein (khối lượng phân tử thấp), polypeptit hoặc chất mang có protein như albumin huyết thanh bò hoặc người, gelatin hoặc globulin miễn dịch, tốt hơn là có nguồn gốc từ người;
- chất tạo màu và chất tạo hương vị;
- chất khử chứa lưu huỳnh, như glutathion, axit thioctic, natri thioglycolat, thioglyxerol, [alpha]-monothioglyxerol, và natri thio sulfat
- chất pha loãng;
- chất nhũ hóa;
- polyme ưa nước như polyvinylpyrolidon)
- ion đối tạo muối như natri;
- chất bảo quản như chất kháng vi sinh vật, chất chống oxy hóa, chất tạo chelat, các khí trơ và chất tương tự; ví dụ về chất bảo quản này là: benzalkoni clorua, axit benzoic, axit salicylic, thimerosal, rượu phenetyl, metylparaben, propylparaben, clohexidin, axit sorbic hoặc hydro peroxit);
- phức hợp kim loại như phức hợp Zn-protein;

- các dung môi và đồng dung môi (như glyxerin, propylen glycol hoặc polyetylen glycol);
- đường và rượu đường, như trehaloza, sucroza, octasulfat, manitol, sorbitol hoặc xylitol stachyoza, manoza, sorboza, xyloza, riboza, myoinisitoza, galactoza, lactitol, ribitol, myoinisitol, galactitol, glyxerol, xyclitol (ví dụ, inositol), polyetylen glycol; và rượu đường polyhydric;
- chất tạo hỗn dịch;
- chất hoạt động bề mặt hoặc chất làm ẩm như pluronic, PEG, este sorbitan, polysorbat như polysorbat 20, polysorbat, triton, trometamin, lexithin, cholesterol, tyloxapal; các chất hoạt động bề mặt có thể là chất tẩy, tốt hơn là có khối lượng phân tử >1,2 KD và/hoặc polyete, tốt hơn là có trọng lượng phân tử >3 KD; các ví dụ không giới hạn về các chất tẩy được ưu tiên là Tween 20, Tween 40, Tween 60, Tween 80 và Tween 85; các ví dụ không giới hạn về các polyete được ưu tiên là PEG 3000, PEG 3350, PEG 4000 và PEG 5000;
- chất làm tăng độ ổn định như sucroza hoặc sorbitol;
- chất làm tăng trương lực như halogenua kim loại kiềm, tốt hơn là natri hoặc kali clorua, manitol sorbitol;
- các chất dẫn phân phối ngoài đường tiêu hóa bao gồm dung dịch natri clorua, Ringer dextroza, dextroza và natri clorua, dung dịch Ringer lactat, hoặc dầu không bay hơi;
- các chất dẫn phân phối trong tĩnh mạch bao gồm các chất bổ sung dinh dưỡng và chất lỏng, các chất bổ sung chất điện giải (như các chất dựa trên Ringer dextroza).

Rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này rằng các thành phần khác nhau của dược phẩm (*ví dụ*, các thành phần được liệt kê trên đây) có thể có tác dụng khác nhau, ví dụ, và axit amin có thể hoạt động như một dung dịch đệm, chất làm ổn định và/hoặc chất chống oxy hóa; manitol có thể hoạt động như một chất độn và/hoặc chất làm tăng trương lực; natri clorua có thể hoạt động như một chất dẫn phân phối và/hoặc chất làm tăng trương lực lực; v.v..

Được dự tính rằng dược phẩm theo sáng chế có thể chứa thêm, ngoài polypeptit theo sáng chế được mô tả ở đây, chất có hoạt tính sinh học, tùy thuộc vào hướng sử dụng của chế phẩm. Các chất này có thể là dược chất tác dụng đến hệ dạ dày-ruột, các dược chất có tác dụng như chất kìm tế bào, các dược chất ngăn ngừa bệnh tăng axit uric huyết,

dược chất ức chế các phản ứng miễn dịch (ví dụ corticosteroit), dược chất điều biến đáp ứng viêm, dược chất tác dụng đến hệ tuần hoàn và/hoặc các chất như xytokin đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Cũng được dự tính rằng cấu trúc kháng thể theo sáng chế được sử dụng trong đồng liệu pháp, *tức là*, kết hợp với thuốc chống ung thư khác.

Theo các phương án nhất định, dược phẩm tối ưu sẽ được xác định bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này tùy thuộc vào, ví dụ, đường dùng dự định, dạng phân phối và liều mong muốn. Ví dụ, xem REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, *nêu trên*. Theo các phương án nhất định, các dược phẩm như vậy có thể tác động đến trạng thái vật lý, độ ổn định, tốc độ giải phóng *in vivo* và tốc độ thanh thải *in vivo* của cấu trúc kháng thể theo sáng chế. Theo các phương án nhất định, chất mang hoặc chất dẫn cơ bản trong dược phẩm có thể có bản chất chứa nước hoặc không chứa nước. Ví dụ, chất mang hoặc chất dẫn thích hợp có thể là nước dùng để tiêm, dung dịch nước muối sinh lý hoặc dịch não tủy nhân tạo có thể được bổ sung các nguyên liệu khác phổ biến trong chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa. Dung dịch nước muối được đệm trung tính hoặc dung dịch nước muối được trộn albumin huyết thanh là các chất dẫn được lấy ví dụ thêm. Theo các phương án nhất định, các chế phẩm chứa cấu trúc kháng thể theo sáng chế có thể được bào chế để bảo quản bằng cách trộn chế phẩm được chọn có mức độ tinh khiết mong muốn với các chất bào chế tùy ý (REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, *ở trên*) ở dạng bánh đông khô hoặc dung dịch chứa nước. Hơn nữa, theo các phương án nhất định, cấu trúc kháng thể theo sáng chế có thể được bào chế ở dạng bột đông khô bằng cách sử dụng các tá dược thích hợp như sucroza.

Nếu việc dùng ngoài đường tiêu hóa được đề cập, thì dược phẩm để dùng trong sáng chế có thể được đề xuất ở dạng không chứa chất gây sốt, dung dịch nước dùng được ngoài đường tiêu hóa chứa cấu trúc kháng thể theo sáng chế mong muốn trong chất dẫn dược dụng. Chất dẫn đặc biệt thích hợp để tiêm ngoài đường tiêu hóa là nước cất vô trùng, trong đó cấu trúc kháng thể theo sáng chế được bào chế ở dạng dung dịch đẳng trương, vô trùng, được bảo quản thích hợp. Theo các phương án nhất định, quy trình bào chế có thể bao gồm bào chế phân tử mong muốn với chất, như vi cầu tiêm được, các hạt dễ bị ăn mòn sinh học, các hợp chất polyme (như axit polylactic hoặc axit polyglycolic), các hạt hoặc liposom, mà có thể tạo ra sự giải phóng dược chất có kiểm soát hoặc kéo dài mà có thể được phân phối bằng cách tiêm ngấm dần. Theo các phương án nhất định, axit

hyaluronic có thể được sử dụng, có tác dụng thúc đẩy khoảng thời gian kéo dài trong hệ tuần hoàn. Theo các phương án nhất định, các thiết bị phân phối thuốc cấy được có thể được sử dụng để đưa cấu trúc kháng thể mong muốn vào.

Các dược phẩm khác là đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm các chế phẩm chứa cấu trúc kháng thể theo sáng chế ở dạng chế phẩm giải phóng/phân phối có kiểm soát hoặc kéo dài. Các kỹ thuật bào chế nhiều dạng dược phẩm phân phối kéo dài hoặc có kiểm soát khác, như chất mang liposom, vi hạt dễ ăn mòn sinh học hoặc hạt xốp và các thuốc tiêm ngấm dần, là cũng đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Xem, ví dụ, đơn yêu cầu cấp patent quốc tế số PCT/US93/00829, mô tả quá trình giải phóng có kiểm soát các vi hạt polyme xốp để phân phối dược phẩm. Chế phẩm giải phóng kéo dài có thể chứa các chất nền polyme bán thấm ở dạng các vật được tạo hình, ví dụ, màng, hoặc vi nang. Chất nền giải phóng kéo dài có thể bao gồm polyeste, hydrogel, polylactit (như được mô tả trong Patent Mỹ số 3,773,919 và công bố đơn yêu cầu cấp patent châu Âu số EP 058481), copolyme của axit L-glutamic và gamma etyl-L-glutamat (Sidman et al., 1983, Biopolymers 2:547-556), poly (2-hydroxyetyl-metacrylat) (Langer *et al.*, 1981, J. Biomed. Mater. Res. 15:167-277 và Langer, 1982, Chem. Tech. 12:98-105), etylen vinyl axetat (Langer et al., 1981, nêu trên) hoặc axit poly-D(-)-3-hydroxybutyric (công bố đơn yêu cầu cấp patent châu Âu số EP 133,988). Chế phẩm giải phóng kéo dài cũng có thể chứa liposom mà có thể được bào chế bằng phương pháp bất kỳ trong số một vài phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Xem tài liệu, *ví dụ*, Eppstein et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82:3688-3692; công bố đơn yêu cầu cấp patent châu Âu số EP 036,676; EP 088,046 và EP 143,949.

Cấu trúc kháng thể cũng có thể được bẫy trong các vi nang được bào chế, ví dụ, bằng các kỹ thuật tụ giọt hoặc bằng cách polyme hóa mặt phân cách (ví dụ, hydroxymetylxenluloza hoặc vi nang gelatin và vi nang poly (metylmetacylat), tương ứng), ở dạng các hệ phân phối dược chất dạng keo (ví dụ, liposom, vi cầu albumin, vi nhũ tương, hạt nano và nang nano), hoặc ở dạng nhũ tương thô. Các kỹ thuật như vậy được bộc lộ trong tài liệu Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Oslo, A., Ed., (1980).

Dược phẩm được dùng *in vivo* thường được tạo ra ở dạng chế phẩm vô trùng. Quy trình vô trùng có thể được tiến hành bằng cách lọc qua màng lọc vô trùng. Nếu chế phẩm

được đông khô, thì quy trình vô trùng sử dụng phương pháp này có thể được tiến hành trước hoặc sau khi đông khô và hoàn nguyên. Các chế phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa có thể được bảo quản ở dạng đông khô hoặc ở dạng dung dịch. Các chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa thường được đựng trong đồ chứa có lỗ nạp vô trùng, ví dụ, túi hoặc lọ dung dịch dùng qua đường tĩnh mạch có nắp mà kim tiêm dưới da có thể xuyên qua được.

Một khía cạnh khác theo sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa cấu trúc kháng thể theo sáng chế tự đệm, mà có thể được sử dụng làm dược phẩm, như được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 06138181A2 (PCT/US2006/022599). Nhiều tài liệu bộc lộ về các nguyên liệu bào chế và làm ổn định protein và các phương pháp hữu dụng về vấn đề này là sẵn có, như tài liệu của Arakawa et al., "Solvent interactions in pharmaceutical formulations," Pharm Res. 8(3): 285-91 (1991); Kendrick et al., "Physical stabilization of proteins in aqueous solution" in: RATIONAL DESIGN OF STABLE PROTEIN FORMULATIONS: THEORY AND PRACTICE, Carpenter and Manning, eds. Pharmaceutical Biotechnology. 13: 61-84 (2002), và tài liệu của Randolph et al., "Surfactant-protein interactions", Pharm Biotechnol. 13: 159-75 (2002), cụ thể là xem các phần có liên quan đến tá dược và quy trình sử dụng tá dược để bào chế chế phẩm protein tự đệm theo sáng chế, đặc biệt đối với các dược phẩm protein và quy trình sử dụng thuốc cho người và/hoặc thú y.

Các muối có thể được sử dụng theo các phương án nhất định của sáng chế, ví dụ, để điều chỉnh nồng độ ion và/hoặc tính đẳng trương của chế phẩm và/hoặc cải thiện độ hòa tan và/hoặc độ ổn định vật lý của protein hoặc thành phần khác của chế phẩm theo sáng chế. Như đã biết rõ, các ion có thể làm ổn định trạng thái tự nhiên của protein bằng cách liên kết với các gốc mang điện tích trên bề mặt protein và bằng cách chắn các nhóm phân cực và có điện tích trên protein và làm giảm cường độ tương tác tĩnh điện, tương tác hút và đẩy. Các ion cũng có thể làm ổn định tình trạng biến tính của protein bằng cách liên kết với, cụ thể là, các liên kết peptit biến tính (--CONH) của protein. Hơn nữa, tương tác ion với các nhóm phân cực và có điện tích trên protein cũng có thể làm giảm các tương tác tĩnh điện giữa phân tử và nhờ đó ngăn ngừa hoặc làm giảm sự kết tụ và không hòa tan của protein.

Các loại ion khác nhau một cách đáng kể về khả năng tác động đến protein của chúng. Số dãy phân loại ion và tác động của chúng đến protein đã được phát triển mà có

thể được sử dụng để bào chế dược phẩm theo sáng chế. Một ví dụ về dãy phân loại là dãy Hofmeister, mà phân loại các chất tan ion và không ion phân cực theo tác động của chúng đến độ ổn định cấu hình của các protein trong dung dịch. Các chất hòa tan làm ổn định được dùng để chỉ là "chất tạo ion làm ổn định." Các chất tan làm mất ổn định được dùng để chỉ là "chất tạo ion làm mất ổn định." Các chất tạo ion làm ổn định thường được sử dụng ở nồng độ cao (ví dụ, >1 mol amoni sulfat) để kết tủa protein trong dung dịch ("hiện tượng kết tủa khi tăng nồng độ muối"). Các chất tan tạo ion làm mất ổn định thường được sử dụng để làm biến tính và/hoặc hòa tan protein ("hiện tượng hòa tan khi tăng nồng độ muối"). Hiệu quả tương đối của các ion đối với "hiện tượng hòa tan khi tăng nồng độ muối " và "hiện tượng kết tủa khi tăng nồng độ muối" xác định vị trí của chúng trong dãy Hofmeister.

Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến axit amin tự do có thể được sử dụng trong các chế phẩm chứa cấu trúc kháng thể theo sáng chế ở dạng các chất độn, chất làm ổn định, và chất chống oxy hóa, cũng như là các cách sử dụng chuẩn khác. Lysin, prolin, serin, và alanin có thể được sử dụng để làm ổn định protein trong chế phẩm. Glyxin là hữu dụng trong quá trình đông khô để đảm bảo các đặc tính và cấu trúc bánh chính xác. Arginin có thể được sử dụng để ức chế sự kết tụ protein, ở cả chế phẩm dạng lỏng và dạng đông khô. Methionin là hữu dụng làm chất chống oxy hóa.

Polyol bao gồm đường, ví dụ, manitol, sucroza, và sorbitol và rượu polyhydric như, ví dụ, glyxerol và propylen glycol, và, đối với các mục đích bàn luận ở đây, polyetylen glycol (PEG) và các chất có liên quan. Polyol là chất tạo ion làm ổn định. Chúng là các chất làm ổn định hữu dụng trong cả chế phẩm dạng lỏng và chế phẩm đông khô để bảo vệ protein khỏi các quá trình thoái biến hóa học và vật lý. Các polyol cũng hữu dụng để điều chỉnh trương lực của chế phẩm. Trong số các polyol hữu dụng theo các phương án chọn lọc theo sáng chế, manitol thường được sử dụng để đảm bảo độ ổn định cấu trúc của bánh trong các chế phẩm đông khô. Manitol đảm bảo độ ổn định cấu trúc cho bánh. Hợp chất này thường được sử dụng với chất bảo quản đông khô, ví dụ, sucroza. Sorbitol và sucroza là các chất trong số các chất được ưu tiên để điều chỉnh tính trương và dùng làm các chất làm ổn định để bảo vệ chống lại các tác động đông lạnh-rã đông trong quá trình vận chuyển hoặc bào chế các thuốc có khối lượng lớn trong quy trình sản xuất. Các đường khử (mà chứa các nhóm aldehyt hoặc keton tự do), như glucoza và lactoza, có thể glycat hóa các gốc lysin và arginin trên bề mặt. Do đó, các đường này

thường không phải là polyol được ưu tiên sử dụng trong số các polyol được ưu tiên theo sáng chế. Ngoài ra, các đường mà tạo ra loại phản ứng này, như sucroza, được thủy phân thành fructoza và glucoza trong các điều kiện axit, và do đó gây ra phản ứng glycat hóa, do đó các đường này cũng không phải là polyol được ưu tiên trong số các polyol được ưu tiên theo sáng chế về mặt này. PEG hữu dụng để làm ổn định protein và làm chất bảo vệ đông lạnh và có thể được sử dụng trong sáng chế về mặt này.

Theo các phương án, chế phẩm chứa cấu trúc kháng thể theo sáng chế còn chứa chất hoạt động bề mặt. Các phân tử protein này có thể dễ hấp thu trên bề mặt và dễ bị biến tính và kết tụ sau đó ở các bề mặt phân cách khí-lỏng, rắn-lỏng, và lỏng-lỏng. Các tác động này thường tỷ lệ nghịch với nồng độ protein. Các tương tác có hại này thường tỷ lệ nghịch với nồng độ protein và thường được tăng lên do quá trình khuấy cơ học, như các tương tác được tạo ra trong quá trình vận chuyển và xử lý sản phẩm. Chất hoạt động bề mặt thường được sử dụng để ngăn ngừa, làm giảm thiểu, hoặc làm giảm sự hấp thu bề mặt. Các chất hoạt động bề mặt hữu dụng theo sáng chế về mặt này bao gồm polysorbat 20, polysorbat 80, các este axit béo khác của sorbitan polyetoxylat, và poloxame 188. Các chất hoạt động bề mặt cũng thường được sử dụng để kiểm soát độ ổn định cấu tạo của protein. Sử dụng các chất hoạt động bề mặt về mặt này là đặc hiệu protein vì, chất hoạt động bề mặt nhất định bất kỳ thường sẽ làm ổn định một vài protein và làm mất ổn định một vài protein khác.

Các polysorbat rất dễ bị thoái biến do oxy hóa và thường, như được cung cấp, chứa peroxit với lượng đủ để làm oxy hóa các mạch bên của gốc protein, đặc biệt là methionin. Do đó, polysorbat cần được sử dụng cẩn thận, và khi được sử dụng, cần được sử dụng ở nồng độ hữu hiệu thấp nhất. Về mặt này, các polysorbat chứng minh cho quy tắc chung rằng các tá dược nên được sử dụng ở nồng độ hữu hiệu thấp nhất.

Theo các phương án khác, chế phẩm chứa cấu trúc kháng thể theo sáng chế còn chứa một hoặc nhiều chất chống oxy hóa. Ở chừng mực nào đó quá trình oxy hóa protein gây hại có thể được ngăn ngừa ở dược phẩm bằng cách duy trì lượng oxy trong không khí và nhiệt độ thích hợp và bằng cách tránh tiếp xúc với ánh sáng. Các tá dược chống oxy hóa cũng có thể được sử dụng để ngăn ngừa sự thoái biến protein do oxy hóa. Các chất chống oxy hóa hữu dụng trong số các chất chống oxy hóa hữu dụng về mặt này là các chất khử, chất khử oxy/gốc tự do, và chất tạo chelat. Các chất chống oxy hóa dùng trong các chế phẩm protein dùng để điều trị theo sáng chế tốt hơn là hòa tan trong nước và duy

trì hoạt tính của chúng trong suốt thời hạn sử dụng của một sản phẩm. EDTA là một chất chống oxy hóa được ưu tiên theo sáng chế về mặt này. Các chất chống oxy hóa có thể làm phá hủy protein. Ví dụ, chất khử, như cụ thể là glutathion, có thể phá vỡ liên kết disulfua trong phân tử. Do đó, các chất chống oxy hóa dùng trong sáng chế được chọn, trong số các chất chống oxy hóa khác, để loại bỏ hoặc đủ làm giảm khả năng protein tự phá hủy trong chế phẩm.

Các chế phẩm theo sáng chế có thể chứa ion kim loại mà là các đồng yếu tố protein và cần để tạo ra phức hợp phối hợp protein, như kẽm cần để tạo ra các hỗn dịch insulin nhất định. Các ion kim loại cũng có thể ức chế một vài quy trình mà làm thoái biến protein. Tuy nhiên, các ion kim loại cũng xúc tác các quy trình vật lý và hóa học mà làm thoái biến protein. Các ion magie (10-120 mM) có thể được sử dụng để ức chế quá trình đồng phân hóa axit aspartic thành axit isoaspartic. Các ion Ca^{+2} (lên đến 100mM) có thể làm tăng độ ổn định của deoxyribonucleaza của người. Tuy nhiên Mg^{+2}, Mn^{+2}, và Zn^{+2}, có thể làm mất ổn định rhDNaza. Tương tự, Ca^{+2} và Sr^{+2} có thể làm ổn định yếu tố VIII, yếu tố này có thể bị làm mất ổn định bởi Mg^{+2}, Mn^{+2} và Zn^{+2}, Cu^{+2} và Fe^{+2}, và có thể được làm tăng kết tụ bởi ion Al^{+3}.

Theo các phương án, chế phẩm chứa cấu trúc kháng thể theo sáng chế còn chứa một hoặc một vài chất bảo quản. Các chất bảo quản này là cần thiết khi phát triển các chế phẩm đa liều dùng ngoài đường tiêu hóa mà bao gồm nhiều hơn một lần rút chế phẩm từ cùng một đồ chứa. Chức năng chủ yếu của các chất bảo quản này là ức chế sự phát triển vi khuẩn và đảm bảo độ vô trùng cho chế phẩm trong suốt thời hạn sử dụng hoặc thời gian sử dụng sản phẩm dược phẩm. Các chất bảo quản thường được sử dụng bao gồm rượu benzyl, phenol và m-cresol. Mặc dù các chất bảo quản có lịch sử sử dụng lâu dài với các thuốc dùng ngoài đường tiêu hóa phân tử nhỏ, nhưng việc phát triển các chế phẩm protein mà chứa các chất bảo quản có thể vẫn là thách thức. Hầu hết các chất bảo quản luôn có tác dụng làm mất ổn định (gây kết tụ) đối với protein, và điều này đã trở thành yếu tố chính làm hạn chế việc sử dụng chúng trong các chế phẩm protein đa liều. Cho đến nay, hầu hết các dược phẩm protein đã được bào chế chỉ nhằm sử dụng một lần. Tuy nhiên, nếu các chế phẩm đa liều có thể bào chế được thì các chế phẩm này có thêm ưu điểm là làm tiện lợi cho người bệnh, làm tăng tính thương mại của chế phẩm. Một ví dụ rõ về chế phẩm này là hocmon tăng trưởng của người (human growth hormone-hGH) mà việc phát triển các chế phẩm của chúng chứa chất bảo quản đã dẫn đến việc thương mại

hóa của dạng trình bày bút tiêm sử dụng nhiều lần, tiện lợi hơn. Có ít nhất bốn thiết bị bút tiêm như vậy chứa các chế phẩm hGH có chất bảo quản hiện đã được bán trên thị trường. Norditropin (dạng lỏng, Novo Nordisk), Nutropin AQ (dạng lỏng, Genentech) & Genotropin (hộp hai ngăn-dạng đông khô, Pharmacia & Upjohn) chứa phenol trong khi Somatrope (Eli Lilly) được bào chế với m-cresol. Một vài khía cạnh cần được xem xét trong quá trình bào chế và phát triển các dạng liều chứa chất bảo quản. Nồng độ chất bảo quản hữu hiệu trong sản phẩm dược phẩm phải được làm tối ưu. Điều này đòi hỏi phải thử nghiệm chất bảo quản nhất định trong dạng liều với khoảng nồng độ mà thu được hiệu quả kháng khuẩn mà không làm ảnh hưởng đến độ ổn định protein.

Tất nhiên là, việc phát triển các chế phẩm dạng lỏng chứa các chất bảo quản vẫn còn có nhiều thách thức hơn so với các chế phẩm đông khô. Các chế phẩm đông khô có thể được đông khô mà không cần chất bảo quản và được hoàn nguyên bằng chất pha loãng chứa chất bảo quản ở thời điểm sử dụng. Điều này giúp làm rút ngắn thời gian mà chất bảo quản tiếp xúc với protein, làm giảm thiểu đáng kể các rủi ro về độ ổn định có liên quan. Với các chế phẩm dạng lỏng, hiệu lực bảo quản và độ ổn định cần được duy trì trong suốt thời hạn sử dụng chế phẩm (khoảng từ 18 đến 24 tháng). Một điểm quan trọng cần lưu ý đó là hiệu lực bảo quản cần được chứng minh ở chế phẩm cuối chứa dược chất và toàn bộ các thành phần tá dược.

Các cấu trúc kháng thể được bộc lộ ở đây cũng có thể được bào chế ở dạng liposom-miễn dịch. "Liposom" là một túi nhỏ gồm nhiều loại lipit, phospholipit và/hoặc chất hoạt động bề mặt mà hữu dụng để phân phối dược chất tới động vật có vú. Các thành phần của liposom thường được bố trí trong chế phẩm hai lớp, tương tự với sự bố trí lipit của màng sinh học. Liposom chứa cấu trúc kháng thể được bào chế bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, như các phương pháp được mô tả trong tài liệu Epstein *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwang *et al.* , Proc. Natl Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980); Patent Mỹ số 4,485,045 và 4,544,545; và công bố đơn quốc tế số WO 97/38731. Liposom có thời gian tuần hoàn kéo dài được bộc lộ trong patent Mỹ số 5,013,556. Các liposom đặc biệt hữu dụng có thể được tạo ra bằng phương pháp bay hơi pha đảo với chế phẩm lipit chứa phosphatidylcholin, cholesterol và phosphatidyletanolamin được tạo dẫn xuất PEG (PEG-PE). Liposom được ép đùn qua các thiết bị lọc có cỡ lỗ xác định để thu được các liposom có đường kính mong muốn. Đoạn Fab' của cấu trúc kháng thể theo sáng chế có thể được tiếp hợp với liposom như

được mô tả trong tài liệu Martin *et al.* J. Biol. Chem. 257: 286-288 (1982) thông qua phản ứng trao đổi disulfua. Tác nhân hóa trị liệu tùy ý được bao gồm trong liposom. Xem tài liệu Gabizon *et al*. J. National Cancer Inst. 81 (19) 1484 (1989).

Một khi dược phẩm được bào chế, dược phẩm này có thể được bảo quản trong các lọ vô trùng ở dạng dung dịch, hỗn dịch, gel, nhũ tương, chất rắn, tinh thể, hoặc ở dạng bột được khử nước hoặc bột đông khô. Các chế phẩm như vậy có thể được bảo quản ở dạng chuẩn bị sẵn để dùng hoặc ở dạng (*ví dụ*, đông khô) mà được hoàn nguyên trước khi dùng.

Hoạt tính sinh học của dược phẩm được mô tả ở đây có thể được xác định bằng các thử nghiệm về tính độc tế bào chẳng hạn, như được mô tả trong các ví dụ dưới đây, trong công bố đơn quốc tế số WO 99/54440 hoặc được mô tả bởi Schlereth *et al*. (Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12). "Hiệu quả" hay "hiệu quả *in vivo*" như được sử dụng ở đây được dùng để chỉ đáp ứng với liệu pháp sử dụng dược phẩm theo sáng chế, bằng cách sử dụng các tiêu chuẩn đáp ứng NCI chuẩn hóa. Thành công hoặc hiệu quả *in vivo* của liệu pháp sử dụng dược phẩm theo sáng chế được dùng để chỉ hiệu quả của dược phẩm đối với mục đích dùng dự định, *tức là* khả năng dược phẩm gây ra tác dụng mong muốn, tức là làm suy yếu các tế bào bệnh học, ví dụ các tế bào khối u. Hiệu quả *in vivo* có thể được kiểm tra bằng các phương pháp chuẩn được thiết lập cho các thực thể bệnh tương ứng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở số đếm bạch cầu, số tế bào biệt hóa, phân tích tế bào hoạt hóa có đánh dấu huỳnh quang, hút tế bào tủy xương. Ngoài ra, các thông số hóa học lâm sàng đặc hiệu bệnh khác nhau và các phương pháp chuẩn được thiết lập khác có thể được sử dụng. Hơn nữa, phương pháp chụp cắt lớp có hỗ trợ bằng máy tính, chụp tia X, chụp cắt lớp cộng hưởng từ hạt nhân (ví dụ để đánh giá đáp ứng dựa trên tiêu chí-viện nghiên cứu ung thư quốc gia [Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, Lister TA, Vose J, Grillo-Lopez A, Hagenbeek A, Cabanillas F, Klippensten D, Hiddemann W, Castellino R, Harris NL, Armitage JO, Carter W, Hoppe R, Canellos GP. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. J Clin Oncol. 1999 Apr;17(4):1244]), sàng lọc chụp cắt lớp phát xạ positron, số đếm bạch cầu, số tế bào biệt hóa, phân tích tế bào hoạt hóa có đánh dấu huỳnh quang, hút tủy xương, sinh thiết/mô học hạch lympho, và các thông số hóa học lâm sàng đặc hiệu u

lympho khác nhau (ví dụ lactat dehydrogenaza) và các phương pháp chuẩn được thiết lập khác có thể được sử dụng.

Một thách thức lớn khác trong quá trình phát triển các dược phẩm như dược phẩm theo sáng chế là việc điều chỉnh có thể dự đoán được các đặc tính dược động học. Cuối cùng, profin dược động học của dược chất ứng viên, tức là profin của các thông số dược động học mà tác động đến khả năng điều trị tình trạng bệnh nhất định của một dược chất cụ thể, có thể được thiết lập. Các thông số dược động học của dược chất ảnh hưởng đến khả năng điều trị một bệnh nhất định của một dược chất bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: thời gian bán thải, thể tích phân bố, chuyển hóa ở gan lần đầu và mức liên kết trong huyết thanh máu. Hiệu quả của dược chất nhất định có thể bị tác động bởi mỗi thông số trong số các thông số nêu trên.

"Thời gian bán thải" có nghĩa là thời gian mà 50% lượng dược chất được sử dụng được thải trừ qua các quá trình sinh học, ví dụ chuyển hóa, bài tiết , v.v.. Thuật ngữ "chuyển hóa qua gan lần đầu" có nghĩa là khả năng dược chất được chuyển hóa sau khi tiếp xúc lần đầu với gan, tức là khi dược chất này đi qua gan lần đầu. "Thể tích phân bố" có nghĩa là lượng dược chất được giữ lại qua các khoang khác nhau của cơ thể, như ví dụ các khoang nội bào và ngoại bào, mô và cơ quan, v.v. và mức phân bố dược chất trong các khoang này. "Mức liên kết trong huyết thanh máu" có nghĩa là khả năng dược chất tương tác và liên kết với các protein trong huyết thanh máu, như albumin, dẫn đến làm giảm hoặc làm mất hoạt tính sinh học của dược chất.

Các thông số dược động học cũng bao gồm sinh khả dụng, thời gian trễ (Tlag), Tmax, tốc độ hấp thu, mức xâm nhập nhiều hơn và/hoặc Cmax đối với một lượng dược chất nhất định được sử dụng. "Sinh khả dụng" có nghĩa là lượng dược chất trong khoang máu. "Thời gian trễ" có nghĩa là thời gian trễ giữa việc sử dụng dược chất và việc đo và phát hiện dược chất trong máu hoặc huyết tương. "Tmax" là thời gian sau khi mà nồng độ dược chất trong máu đạt tối đa, và "Cmax" là nồng độ tối đa trong máu thu được của một dược chất nhất định. Thời gian đạt được nồng độ dược chất trong máu hoặc mô mà cần để tạo ra tác dụng sinh học bị ảnh hưởng bởi tất cả các thông số. Các thông số dược động học của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép có tính đặc hiệu chéo loài, có thể được xác định trong thử nghiệm tiền lâm sàng ở động vật linh trưởng không phải tinh tinh như được nêu trên đây, cũng như được nêu trong công bố của Schlereth *et al.* (Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12) chẳng hạn.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến cấu trúc kháng thể theo sáng chế hoặc cấu trúc kháng thể được tổng hợp bằng quy trình theo sáng chế dùng để phòng ngừa, điều trị hoặc cải thiện khối u hoặc bệnh ung thư hoặc bệnh ung thư di căn.

Theo một phương án được ưu tiên của sáng chế, khối u hoặc bệnh ung thư này là khối u rắn.

Các chế phẩm được mô tả ở đây là hữu dụng làm dược phẩm để điều trị, cải thiện và/hoặc ngăn ngừa tình trạng bệnh lý như được mô tả ở đây ở người bệnh cần điều trị. Thuật ngữ "điều trị" được dùng để chỉ cả việc điều trị chữa bệnh và điều trị phòng ngừa hoặc ngăn ngừa bệnh. Điều trị bao gồm cho cơ thể, mô phân lập, hoặc tế bào thu được từ người bệnh mà bị bệnh/rối loạn, có triệu chứng của bệnh/rối loạn, hoặc dễ mắc bệnh/rối loạn sử dụng chế phẩm nhằm mục đích chữa trị, làm lành, làm giảm bớt, làm dịu, làm thay đổi, chữa khỏi, cải thiện, làm thuyên giảm, hoặc tác động đến bệnh, triệu chứng bệnh hoặc khả năng dễ mắc bệnh.

Thuật ngữ "cải thiện" như được sử dụng ở đây được dùng để chỉ việc làm thuyên giảm tình trạng bệnh của người bệnh mắc khối u hoặc bệnh ung thư hoặc bệnh ung thư di căn như được mô tả dưới đây, bằng cách cho đối tượng cần điều trị sử dụng cấu trúc kháng thể theo sáng chế. Việc làm thuyên giảm như vậy cũng có thể được nhận thấy là làm chậm hoặc ngừng sự tiến triển của khối u hoặc bệnh ung thư hoặc bệnh ung thư di căn ở người bệnh. Thuật ngữ "ngăn ngừa" như được sử dụng ở đây có nghĩa là tránh xuất hiện hoặc tái phát bệnh ở người bệnh bị khối u hoặc bệnh ung thư hoặc bệnh ung thư di căn như được mô tả dưới đây, bằng cách cho đối tượng cần điều trị sử dụng cấu trúc kháng thể theo sáng chế.

Thuật ngữ "bệnh" được dùng để chỉ tình trạng bệnh bất kỳ mà thu được lợi từ việc điều trị bằng cấu trúc kháng thể hoặc dược phẩm được mô tả ở đây. Thuật ngữ bệnh này bao gồm cả bệnh hoặc rối loạn cấp tính và mạn tính kể cả các tình trạng bệnh lý mà động vật có vú dễ mắc.

"U tân sinh" là một tình trạng phát triển bất thường của mô, tuy nhiên không phải lúc nào cũng tạo thành khối. Khi tạo thành khối, u tân sinh thường được gọi là "khối u". U tân sinh hoặc khối u có thể là lành tính, ác tính tiềm ẩn (tiền ung thư), hoặc ác tính. U tân sinh ác tính thường được gọi là bệnh ung thư. U tân sinh ác tính thường xâm lấn và phá hủy mô xung quanh và có thể dẫn đến di ăn, tức là, chúng lan sang các phần, các mô hoặc các cơ quan khác của cơ thể. Do đó, thuật ngữ "bệnh ung thư di căn" bao gồm cả

các tình trạng di căn tới các mô hoặc cơ quan khác ngoài mô của khối u ban đầu. U lympho và bệnh bạch cầu là các u tân sinh lympho. Đối với các mục đích theo sáng chế, các tình trạng bệnh này cũng được bao gồm trong các thuật ngữ "khối u" hoặc "bệnh ung thư".

Theo một phương án được ưu tiên của sáng chế, khối u hoặc bệnh ung thư là khối u rắn và bệnh ung thư di căn từ bệnh bất kỳ trong số các bệnh nêu trên gây ra.

Khối u hoặc bệnh ung thư được ưu tiên liên quan đến sáng chế được chọn từ nhóm bao gồm u nguyên bào đệm thần kinh, u não hình sao, u nguyên bào tủy, ung thư vú, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư hệ thần kinh trung ương. Tốt hơn là, khối u hoặc bệnh ung thu này là u nguyên bào thần kinh đệm đa dạng (GBM) hoặc u não tế bào hình sao giảm biệt hóa. Bệnh ung thư di căn có thể do bệnh bất kỳ trong số các bệnh trên đây gây ra.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp điều trị hoặc cải thiện khối u hoặc bệnh ung thư hoặc bệnh ung thư di căn, bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng cấu trúc kháng thể theo sáng chế hoặc cấu trúc kháng thể được tổng hợp bằng quy trình theo sáng chế.

Thuật ngữ "đối tượng cần điều trị" hoặc đối tượng "có nhu cầu điều trị" bao gồm các đối tượng đã mắc rối loạn, cũng như là các đối tượng trong đó rối loạn được ngăn ngừa. Đối tượng cần điều trị hoặc "người bệnh" bao gồm người và các đối tượng động vật có vú khác mà được điều trị để chữa bệnh hoặc điều trị để phòng bệnh.

Cấu trúc kháng thể theo sáng chế thường được bào chế theo đường dùng và phương pháp dùng cụ thể, theo dạng liều và tần suất dùng cụ thể, theo các phương pháp điều trị bệnh cụ thể, với khoảng sinh khả dụng và lượng tồn lưu, trong số các yếu tố khác. Tốt hơn là, các nguyên liệu của chế phẩm được bào chế ở nồng độ mà chấp nhận được với vị trí dùng.

Do đó chế phẩm và dược phẩm có thể được bào chế theo sáng chế để phân phối bằng đường dùng thích hợp bất kỳ. Trong phạm vi sáng chế, đường dùng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở

- đường dùng khu trú (như trên da, xông hít, mũi, mắt, tai/qua tai, âm đạo, niêm mạc);
- các đường qua đường tiêu hóa (như đường miệng, đường dạ dày ruột, dưới lưỡi, dưới môi, trong má, đường trực tràng); và

- các đường ngoài đường tiêu hóa (như đường tĩnh mạch, đường động mạch, đường trong xương, đường trong cơ, đường trong não, đường trong não thất, trên màng cứng, nội tủy mạc, đường dưới da, đường trong màng bụng, trong màng ối, trong khớp, trong tim, trong da, trong thương tổn, trong tử cung, trong bàng quang, trong dịch kính, qua da, trong mũi, qua niêm mạc, trong bao hoạt dịch, trong gian miệng ống).

Dược phẩm và cấu trúc kháng thể theo sáng chế đặc biệt hữu dụng để dùng ngoài đường tiêu hóa, ví dụ, phân phối dưới da hoặc trong tĩnh mạch, ví dụ bằng cách tiêm như tiêm lượng lớn, hoặc bằng cách truyền như truyền liên tục. Dược phẩm có thể được sử dụng bằng thiết bị y tế. Ví dụ về các thiết bị y tế để dùng dược phẩm được mô tả trong các patent Mỹ số 4,475,196; 4,439,196; 4,447,224; 4,447, 233; 4,486,194; 4,487,603; 4,596,556; 4,790,824; 4,941,880; 5,064,413; 5,312,335; 5,312,335; 5,383,851; và 5,399,163.

Cụ thể là, sáng chế đề cập đến việc sử dụng không đứt quãng chế phẩm thích hợp. Theo một ví dụ không giới hạn, sử dụng không đứt quãng hoặc hầu như không đứt quãng, tức là sử dụng liên tục có thể được thực hiện bởi hệ thống bơm nhỏ được mang bởi người bệnh để đo dòng chất điều trị đi vào cơ thể người bệnh. Dược phẩm chứa cấu trúc kháng thể theo sáng chế có thể được sử dụng bằng cách sử dụng hệ bơm này. Hệ bơm như vậy thường đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, và thường phụ thuộc vào việc đổi định kỳ các hộp chứa chất điều trị được truyền. Khi đổi hộp trong hệ bơm này, thì có thể làm gián đoạn tạm thời dòng liên tục của chất điều trị đi vào cơ thể người bệnh. Trong trường hợp này, giai đoạn sử dụng trước khi thay hộp và giai đoạn sử dụng sau khi thay hộp vẫn sẽ được coi là có nghĩa một lần "sử dụng không đứt quãng" chất điều trị này trong phương pháp và phương tiện điều trị theo sáng chế.

Việc sử dụng liên tục hoặc không đứt quãng cấu trúc kháng thể theo sáng chế có thể là trong tĩnh mạch hoặc dưới da bằng cách sử dụng thiết bị phân phối chất lỏng hoặc hệ thống bơm nhỏ có cơ cấu dẫn động chất lỏng để dẫn động chất lỏng ra khỏi bình chứa và cơ cấu khởi động để khởi động cơ cấu dẫn động. Hệ thống bơm để sử dụng dưới da có thể bao gồm một kim tiêm hoặc ống thông để xuyên qua da của người bệnh và phân phối chế phẩm thích hợp vào cơ thể của người bệnh. Hệ thống bơm này có thể được cố định trực tiếp hoặc được gắn vào da của người bệnh độc lập với tĩnh mạch, động mạch hoặc mạch máu, nhờ đó cho phép hệ thống bơm tiếp xúc trực tiếp với da của người bệnh. Hệ

thống bơm này có thể gắn vào da của người bệnh trong 24 giờ đến vài ngày. Hệ thống bơm có thể có kích cỡ nhỏ với bình chứa có thể tích nhỏ. Theo một ví dụ không giới hạn, thể tích của bình chứa dùng để chứa dược phẩm thích hợp được sử dụng có thể nằm trong khoảng từ 0,1 đến 50ml.

Sử dụng liên tục cũng có thể là sử dụng qua da bằng cách sử dụng miếng dán lên da và thay miếng dán ở các khoảng thời gian. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hiểu rằng các hệ miếng dán để phân phối dược chất là thích hợp cho mục đích này. Cần lưu ý rằng việc sử dụng qua da đặc biệt thích hợp với việc sử dụng không đứt quãng, vì việc thay miếng dán đã cạn thuốc thứ nhất có thể được thực hiện thích hợp đồng thời với việc đặt một miếng dán mới thứ hai, ví dụ lên bề mặt da liền kề ngay với miếng dán đã cạn thuốc thứ nhất và ngay trước khi loại miếng dán đã cạn thuốc thứ nhất. Các vấn đề về ngắt quãng dòng chảy hoặc phá hủy tế bào gốc không nảy sinh.

Nếu dược phẩm được đông khô, thì trước tiên dược phẩm đông khô được hoàn nguyên trong một chất lỏng thích hợp trước khi dùng. Dược phẩm đông khô có thể được hoàn nguyên trong, ví dụ, nước kìm khuẩn để tiêm (bacteriostatic water for injection-BWFI), dung dịch nước muối sinh lý, dung dịch nước muối được đệm phosphat (phosphate buffered saline-PBS), hoặc dung dịch tương tự mà protein đã được đông khô trước đó.

Các chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng cho đối tượng ở liều thích hợp mà có thể được xác định ví dụ bằng các nghiên cứu tăng dần liều bằng cách sử dụng các liều tăng dần của cấu trúc kháng thể theo sáng chế có tính đặc hiệu chéo loài được mô tả ở đây cho động vật linh trưởng không phải tinh tinh, ví dụ khỉ macaca. Như nêu trên đây, cấu trúc kháng thể theo sáng chế có tính đặc hiệu chéo loài được mô tả ở đây có thể được sử dụng thích hợp ở dạng tương tự trong thử nghiệm tiền lâm sàng ở động vật linh trưởng không phải tinh tinh và được sử dụng làm thuốc ở người. Phác đồ dùng liều sẽ được quyết định bởi thầy thuốc và các yếu tố lâm sàng. Như đã biết rõ trong lĩnh vực y học, các liều dùng cho một người bệnh bất kỳ sẽ tùy thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm kích thước của người bệnh, diện tích bề mặt cơ thể, độ tuổi, hợp chất cụ thể được sử dụng, giới tính, thời gian và đường dùng, tình trạng sức khỏe chung, và các dược chất khác được sử dụng đồng thời.

Thuật ngữ "liều hữu hiệu" hoặc "liều dùng hữu hiệu" được xác định là lượng đủ để đạt được hoặc ít nhất đạt được một phần tác dụng mong muốn. Thuật ngữ "liều hữu

hiệu điều trị" được xác định là lượng đủ để chữa trị hoặc ít nhất một phần kìm hãm bệnh và biến chứng của bệnh ở người bệnh đã bị bệnh. Lượng hoặc liều hữu hiệu cho mục đích sử dụng này sẽ tùy thuộc vào tình trạng bệnh được điều trị (chỉ định), cấu trúc kháng thể được phân phối, phạm vi và mục đích điều trị, mức độ nghiêm trọng của bệnh, liệu pháp điều trị trước đó, tiền sử lâm sàng của người bệnh và đáp ứng với chất điều trị, đường dùng, kích thước (thể trọng, bề mặt cơ thể và kích thước cơ quan) và/hoặc tình trạng bệnh (độ tuổi và tình trạng sức khỏe chung) của người bệnh, và tình trạng chung của hệ miễn dịch riêng của người bệnh. Liều thích hợp có thể được điều chỉnh theo đánh giá của thầy thuốc sao cho liều này có thể được sử dụng cho người bệnh một lần hoặc qua một loạt lần sử dụng, và để thu được tác dụng điều trị tối ưu.

Liều thông thường có thể nằm trong khoảng từ 0,1μg/kg đến 30mg/kg hoặc lớn hơn, tùy thuộc vào các yếu tố nêu trên. Theo các phương án cụ thể, liều dùng có thể nằm trong khoảng từ 1,0μg/kg đến 20 mg/kg, tùy ý nằm trong khoảng từ 10μg/kg đến 10mg/kg hoặc từ 100μg/kg đến 5mg/kg.

Tốt hơn là lượng hữu hiệu để điều trị của cấu trúc kháng thể theo sáng chế làm giảm mức độ nghiêm trọng của các triệu chứng bệnh, làm tăng tần suất hoặc thời gian không mang triệu chứng bệnh hoặc ngăn ngừa tình trạng suy yếu hoặc ốm yếu do đau đớn của bệnh tật. Để điều trị các khối u có biểu hiện EGFRvIII, lượng hữu hiệu để điều trị của cấu trúc kháng thể theo sáng chế, ví dụ cấu trúc kháng thể kháng EGFRvIII/kháng CD3, tốt hơn là ức chế sự phát triển tế bào hoặc sự phát triển khối u ít nhất khoảng 20%, ít nhất khoảng 40%, ít nhất khoảng 50%, ít nhất khoảng 60%, ít nhất khoảng 70%, ít nhất khoảng 80%, hoặc ít nhất khoảng 90% so với các người bệnh không được điều trị. Khả năng hợp chất ức chế sự phát triển khối u có thể được đánh giá trên mẫu động vật dự đoán hiệu quả điều trị khối u của người.

Dược phẩm có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với các chất điều trị khác như các chất điều trị chống ung thư nếu cần, ví dụ các dược chất có protein và không có protein khác. Các dược chất này có thể được sử dụng đồng thời với chế phẩm chứa cấu trúc kháng thể theo sáng chế như được mô tả ở đây hoặc sử dụng riêng biệt trước hoặc sau khi sử dụng cấu trúc kháng thể này ở các liều và các khoảng cách được xác định hợp lý.

Thuật ngữ "liều hữu hiệu và không độc" như được sử dụng ở đây được dùng để chỉ liều dung nạp của cấu trúc kháng thể theo sáng chế mà đủ mạnh để làm suy yếu các tế

bào gây bệnh, triệt tiêu khối u, co khối u hoặc làm ổn định bệnh mà không hoặc hầu như không gây ra các tác dụng độc đáng kể. Các liều không độc và hữu hiệu như vậy có thể được xác định *ví dụ* bằng cách nghiên cứu tăng dần liều được mô tả trong giải pháp đã biết và cần thấp hơn liều gây ra các phản ứng phụ có hại nghiêm trọng (độc tính giới hạn liều (dose limiting toxicity-DLT)).

Thuật ngữ "độc tính" như được sử dụng ở đây được dùng để chỉ các tác dụng độc của thuốc được thể hiện ở các phản ứng có hại hoặc các phản ứng có hại nghiêm trọng. Các phản ứng phụ này có thể chỉ việc không có khả năng dung nạp thuốc nói chung và/hoặc không có khả năng dung nạp cục bộ sau khi dùng thuốc. Tính độc cũng có thể bao gồm các tác dụng sinh quái thai hoặc tác dụng tạo chất gây ung thư do thuốc gây ra.

Thuật ngữ "độ an toàn", "độ an toàn *in vivo*" hoặc "khả năng dung nạp" như được sử dụng ở đây được hiểu là việc sử dụng thuốc mà không trực tiếp gây ra các phản ứng có hại nghiêm trọng sau khi dùng (dung nạp khu trú) và trong suốt khoảng thời gian dùng thuốc kéo dài. "Độ an toàn", "độ an toàn *in vivo*" hoặc "khả năng dung nạp" có thể được đánh giá ví dụ ở các thời điểm cách đều trong suốt thời gian điều trị và giai đoạn tiếp theo. Các biện pháp đánh giá bao gồm đánh giá lâm sàng, các biểu hiện ở cơ quan chẳng hạn, và sàng lọc các bất thường trong thí nghiệm. Đánh giá lâm sàng có thể được tiến hành và các sự lệch so với các phát hiện bình thường được ghi lại/ký hiệu theo các tiêu chuẩn NCI-CTC và/hoặc MedDRA. Các biểu hiện ở cơ quan có thể bao gồm các tiêu chí như dị ứng/tính miễn dịch, máu/tủy xương, chứng loạn nhịp tim, tình trạng đông máu và tiêu chí tương tự, như nêu trong *ví dụ* bộ tiêu chuẩn thuật ngữ chung về các phản ứng có hại v3.0 (Common terminology criteria for adverse events-CTCAE). Các thông số thí nghiệm mà có thể được kiểm tra bao gồm ví dụ huyết học, hóa học lâm sàng, profin đông máu và phân tích nước tiểu và xét nghiệm các thể dịch khác như huyết thanh, huyết tương, hệ bạch huyết hoặc dịch tủy sống, chất lỏng và dịch lỏng khác. Do đó, độ an toàn có thể được đánh giá ví dụ bằng cách kiểm tra thể chất, các kỹ thuật hình ảnh (tức là siêu âm, chụp tia x, chụp cắt lớp CT, chụp cộng hưởng từ (Magnetic Resonance Imaging-MRI)), các biện pháp khác bằng các thiết bị kỹ thuật (tức là điện tâm đồ), các dấu hiệu sinh tồn, bằng cách đo các thông số thí nghiệm và ghi lại các phản ứng bất lợi. Ví dụ, các phản ứng bất lợi ở động vật linh trưởng không phải tinh tinh trong phương pháp và sử dụng theo sáng chế có thể được kiểm tra bằng các phương pháp mô bệnh học và/hoặc mô hóa học.

Các thuật ngữ trên đây cũng được đề cập *ví dụ* trong tài liệu Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals S6; ICH Harmonised Tripartite Guideline; hội thảo quốc tế ICH vào ngày 16 tháng 7 năm 1997.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến kit chứa cấu trúc kháng thể theo sáng chế, cấu trúc kháng thể được sản xuất bằng quy trình theo sáng chế, polynucleotit theo sáng chế, vectơ theo sáng chế, và/hoặc tế bào chủ theo sáng chế.

Trong phạm vi sáng chế, thuật ngữ "kit" có nghĩa là hai hoặc nhiều thành phần – một trong số các thành phần này tương ứng với cấu trúc kháng thể, dược phẩm, vectơ hoặc tế bào chủ theo sáng chế – được đóng gói cùng nhau trong một đồ chứa, đồ đựng hoặc tương tự. Do đó, kit có thể được mô tả là một bộ sản phẩm và/hoặc dụng cụ mà thích hợp để đạt được mục tiêu nhất định, mà có thể đưa ra thị trường dưới dạng một bộ sản phẩm.

Kit có thể chứa một hoặc nhiều đồ đựng (như lọ, ống thuốc tiêm, đồ chứa, bơm tiêm, bình, túi) có hình dạng, kích thước và vật liệu thích hợp bất kỳ (tốt hơn là không thấm nước, *ví dụ* nhựa hoặc thủy tinh) chứa cấu trúc kháng thể hoặc dược phẩm theo sáng chế ở liều dùng thích hợp (xem trên đây). Kit có thể chứa thêm hướng dẫn sử dụng (*ví dụ* ở dạng tờ in rời hoặc sổ hướng dẫn), các dụng cụ để sử dụng cấu trúc kháng thể theo sáng chế như bơm tiêm, bơm, cốc pha hoặc dụng cụ tương tự, các dụng cụ để hoàn nguyên cấu trúc kháng thể theo sáng chế và/hoặc dụng cụ để pha loãng cấu trúc kháng thể theo sáng chế.

Sáng chế cũng đề cập đến kit cho bộ sử dụng đơn liều. Kit theo sáng chế cũng có thể chứa đồ đựng thứ nhất chứa cấu trúc kháng thể khô/đông khô và đồ đựng thứ hai chứa chế phẩm chứa nước. Theo các phương án nhất định của sáng chế, kit chứa các bơm tiêm đã nạp trước nhiều ngăn hoặc một ngăn (*ví dụ*, bơm tiêm chất lỏng và bơm tiêm đông khô) được đề xuất.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ dưới đây minh họa cho sáng chế. Các ví dụ này không nên được hiểu là làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Sáng chế chỉ bị giới hạn bởi yêu cầu bảo hộ.

Ví dụ 1

Hoạt tính độc tế bào

Hiệu lực của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 theo sáng chế trong việc chuyển hướng các tế bào T tác động chống lại các tế bào đích biểu hiện EGFRvIII được phân tích trong năm thử nghiệm về tính độc tế bào *in vitro*:

- Hiệu lực của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 trong việc chuyển hướng các tế bào T tác động CD8+ của người được kích thích chống lại các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII người được đánh giá trong thử nghiệm giải phóng ^{51}Cr trong 18 giờ (tỷ lệ tế bào tác động trên tế bào đích là 10:1). Fig.7
- Hiệu lực của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 trong việc chuyển hướng các tế bào T tác động CD8+ người được kích thích chống lại dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm người dương tính EGFRvIII U87 được đánh giá trong thử nghiệm giải phóng ^{51}Cr trong 18 giờ (tỷ lệ tế bào tác động trên tế bào đích là 10:1). Fig.8
- Hiệu lực của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 trong việc chuyển hướng các tế bào T trong PBMC người không được kích thích ($CD14^-/CD56^-$) chống lại các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII người khi có mặt và không có mặt EGFRvIII hòa tan được đánh giá trong thử nghiệm về tính độc tế bào dựa trên FACS trong 48 giờ (tỷ lệ tế bào tác động trên tế bào đích là 10:1). Fig.6 và bảng 6
- Hiệu lực của các cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 trong việc chuyển hướng các tế bào T trong PBMC người không được kích thích ($CD14^-/CD56^-$) chống lại dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm người dương tính EGFRvIII U87 được đánh giá trong thử nghiệm về tính độc tế bào dựa trên FACS trong 48 giờ. Fig.8
- Để xác nhận rằng các cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 phản ứng chéo có khả năng chuyển hướng các tế bào T khỉ macaca chống lại các dòng tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII khỉ macaca, thử nghiệm về tính độc tế bào dựa trên FACS trong 48 giờ được tiến hành với dòng tế bào T khỉ macaca LnPx4119 làm tế bào T tác động (tỷ lệ tế bào tác động trên tế bào đích là 10:1). Fig.10

Ví dụ 1.1

Thử nghiệm giải phóng crom với các tế bào T người được kích thích

Các tế bào T đã kích thích được làm giàu đối với các tế bào T $CD8^+$ được tạo ra như được mô tả dưới đây. Đĩa petri (có đường kính 145mm, Greiner bio-one GmbH, Kremsmünster) được phủ kháng thể đặc hiệu kháng CD3 sẵn có trên thị trường (OKT3, Orthoclone) ở nồng độ cuối bằng 1µg/ml trong 1 giờ ở nhiệt độ 37°C. Protein không liên kết được loại bỏ bằng một bước rửa bằng PBS. 3–5 x 10^7 PBMC người được bổ sung vào đĩa petri đã được phủ trước trong 120ml RPMI 1640 có glutamin được làm ổn định/10% FCS/IL-2 20 U/ml (Proleukin®, Chiron) và được kích thích trong 2 ngày. Vào ngày thứ ba, các tế bào được thu gom và được rửa một lần bằng RPMI 1640. IL-2 được bổ sung đến nồng độ cuối bằng 20U/ml và các tế bào được nuôi cấy lại trong một ngày trong cùng môi trường nuôi cấy tế bào như trên. Các tế bào lympho T độc tế bào $CD8^+$ (CTL) được làm giàu bằng cách tiêu trừ các tế bào T $CD4^+$ và các tế bào NK $CD56^+$ bằng cách sử dụng các hạt Dynal theo quy trình của nhà sản xuất.

Các tế bào đích CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII khỉ macaca hoặc EGFRvIII người được rửa hai lần bằng PBS và được đánh dấu bằng 11,1 MBq ^{51}Cr trong môi trường RPMI có thể tích cuối bằng 100µl với 50% FCS trong 60 phút ở nhiệt độ 37°C. Sau đó, các tế bào đích đã đánh dấu được rửa 3 lần bằng 5ml RPMI và sau đó được sử dụng trong thử nghiệm về tính độc tế bào. Thử nghiệm này được tiến hành trong đĩa có 96 lỗ trong môi trường RPMI bổ sung có tổng thể tích cuối bằng 200µl với tỷ lệ E:T bằng 10:1. Nồng độ ban đầu của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép đã tinh sạch nằm trong khoảng từ 0,01 đến 1µg/ml và các dung dịch pha loãng ba lần của chúng được sử dụng. Thời gian ủ của thử nghiệm này là 18 giờ. Tính độc tế bào được xác định là giá trị trương đối của lượng crom được giải phóng trong dịch nổi tế bào so với sự chênh lệch phân giải tối đa (bổ sung Triton-X) và phân giải tự phát (không có tế bào tác động). Tất cả các lần đánh giá được tiến hành bốn lần. Việc đánh giá hoạt tính crom trong các dịch nổi được tiến hành trong thiết bị đếm Wizard 3'' gamma (Perkin Elmer Life Sciences GmbH, Köln, Đức). Phân tích các kết quả được tiến hành với phần mềm Prism 5 cho Windows (phiên bản 5.0, GraphPad Software Inc., San Diego, California, USA). Các giá trị EC50 được tính toán bằng chương trình phân tích từ các đường cong đáp ứng liều xichma được sử dụng để so sánh hoạt tính gây độc tế bào.

Ví dụ 1.2

Hiệu lực của việc chuyển hướng các tế bào T tác động của người được kích thích chống lại các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII người

Hoạt tính gây độc tế bào của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 theo sáng chế được phân tích trong thử nghiệm về tính độc tế bào giải phóng 51-crom (^{51}Cr) sử dụng các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII người làm các tế bào đích, và các tế bào T CD8+ người được kích thích làm tế bào tác động. Thử nghiệm này được tiến hành như được mô tả trong ví dụ 1.1.

Cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 thể hiện hoạt tính độc tế bào rất hiệu quả chống lại các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII người ở nồng độ nằm trong khoảng picomol một chữ số.

Ví dụ 1.3

Hiệu lực của việc chuyển hướng các tế bào T tác động của người được kích thích chống lại dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm của người dương tính EGFRvIII DK-MG

Hoạt tính gây độc tế bào của các cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 được phân tích trong thử nghiệm về tính độc tế bào giải phóng ^{51}-crom (^{51}Cr) sử dụng dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm của người dương tính EGFRvIII DK-MG làm nguồn tế bào đích, và các tế bào T CD8+ của người được kích thích làm các tế bào tác động. Thử nghiệm được tiến hành như được mô tả trong Ví dụ 1.1.

Theo các kết quả của thử nghiệm giải phóng 51-crom sử dụng các tế bào lympho T CD8+ của người được làm giàu đã qua kích thích làm các tế bào tác động và các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII của người làm tế bào đích, cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 theo sáng chế cũng có hiệu lực về hoạt tính gây độc tế bào chống lại các tế bào đích biểu hiện tự nhiên; xem Fig.9.

Ví dụ 1.4

Thử nghiệm về tính độc tế bào dựa trên FACS với PBMC người không được kích thích

Phân lập các tế bào tác động

Các tế bào đơn nhân máu ngoại vi của người (human peripheral blood mononuclear cell-PBMC) được chuẩn bị bằng cách ly tâm gradien mật độ Ficoll từ các chế phẩm tế bào lympho được làm giàu (lớp váng máu ly tâm), một sản phẩm phụ của ngân hàng máu thu gom máu để truyền máu. Lớp váng máu ly tâm được cung cấp bởi ngân hàng máu địa phương và PBMC được chuẩn bị vào cùng ngày thu gom máu. Sau khi ly tâm mật độ Ficoll và rửa nhiều lần bằng PBS Dulbecco (Gibco), hồng cầu còn lại được loại bỏ khỏi PBMC bằng cách ủ với dung dịch đệm phân giải hồng cầu (155 mM NH_4Cl, 10 mM $KHCO_3$, 100 µM EDTA). Các tiểu cầu được loại khỏi dịch nổi bằng cách

ly tâm PBMC ở tốc độ 100 x g. Các tế bào lympho còn lại chủ yếu bao gồm các tế bào lympho B và T, các tế bào NK và các bạch cầu đơn nhân. PBMC được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C/5% CO_2 trong môi trường RPMI (Gibco) có 10% FCS (Gibco).

Tiêu trừ các tế bào $CD14^+$ và $CD56^+$

Để tiêu trừ các tế bào $CD14^+$, các vi hạt CD14 người (Milteny Biotec, MACS, #130-050-201) được sử dụng, để tiêu trừ các tế bào NK sử dụng vi hạt CD56 người (MACS, #130-050-401). PBMC được đếm và được ly tâm trong 10 phút ở nhiệt độ trong phòng với lực ly tâm 300 x g. Dịch nổi được loại bỏ và kết viên tế bào được tái huyền phù trong dung dịch đệm phân lập MACS [80µL/ 10^7 tế bào; PBS (Invitrogen, #20012-043), 0,5% (thể tích/thể tích) FBS (Gibco, #10270-106), 2mM EDTA (Sigma-Aldrich, #E-6511)]. Vi hạt CD14 và vi hạt CD56 (20µL/10^7 tế bào) được bổ sung và được ủ trong 15 phút ở nhiệt độ 4-8°C. Các tế bào được rửa bằng dung dịch đệm phân lập MACS (1 - 2mL/10^7 tế bào). Sau khi ly tâm (xem trên đây), dịch nổi được loại bỏ và các tế bào được tái huyền phù trong dung dịch đệm phân lập MACS (500µL/10^8 tế bào). Sau đó, các tế bào âm tính CD14/CD56 được phân lập bằng cách sử dụng cột LS (Miltenyi Biotec, #130-042-401). PBMC không có tế bào CD14+/CD56+ được nuôi cấy trong môi trường đầy đủ RPMI tức là RPMI1640 (Biochrom AG, #FG1215) được bổ sung 10% FBS (Biochrom AG, #S0115), axit amin không thiết yếu 1x (Biochrom AG, #K0293), dung dịch đệm Hepes 10mM (Biochrom AG, #L1613), 1mM natri pyruvat (Biochrom AG, #L0473) và 100U/mL penixilin/streptomyxin (Biochrom AG, #A2213) ở nhiệt độ 37°C trong tủ ủ cho đến khi cần.

Đánh dấu các tế bào đích

Để phân tích sự phân giải tế bào trong thử nghiệm trắc lưu tế bào, thuốc nhuộm màng huỳnh quang $DiOC_{18}$ (DiO) (Molecular Probes, #V22886) được sử dụng để đánh dấu các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII người hoặc EGFRvIII khỉ macaca làm tế bào đích và phân biệt chúng với các tế bào tác động. Nói tóm lại, các tế bào được thu hoạch, rửa một lần bằng PBS và điều chỉnh đến 10^6 tế bào/mL trong PBS chứa 2% (thể tích/thể tích) FBS và thuốc nhuộm màng DiO (5µL/10^6 tế bào). Sau khi ủ trong 3 phút ở nhiệt độ 37°C, các tế bào được rửa hai lần trong môi trường RPMI đầy đủ và lượng tế bào được điều chỉnh đến 1,25 x 10^5 tế bào/mL. Khả năng sống sót của tế bào được xác định bằng cách sử dụng 0,5% (thể tích/thể tích) dung dịch EosinG đẳng trương (Roth, #45380).

Phân tích dựa trên phép trắc lưu tế bào

Thử nghiệm này được thiết kế để xác định mức phân giải của các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII người hoặc khỉ cyno khi có mặt các dung dịch pha loãng theo bậc của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIII. Các thể tích tương đương của các tế bào đích được đánh dấu DiO và các tế bào tác động (tức là, PBMC không có tế bào $CD14^+$) được trộn, thu được tỷ lệ tế bào E:T bằng 10:1. 160µl huyền phù này được chuyển vào mỗi lỗ của đĩa có 96 lỗ. 40µL của các dung dịch pha loãng theo bậc của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 và đối chứng âm đặc hiệu kép (cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép dựa trên CD3 nhận diện kháng nguyên đích không liên quan) hoặc môi trường đầy đủ RPMI làm đối chứng âm khác được bổ sung. Phản ứng gây độc tế bào qua trung gian kháng thể đặc hiệu kép được tiến hành trong 48 giờ trong tủ ủ được làm ẩm 7% CO_2. Sau đó, các tế bào được chuyển sang đĩa có 96 lỗ mới và mức hao hụt tính nguyên vẹn màng tế bào đích được kiểm tra bằng cách bổ sung propidium iodua (PI) ở nồng độ cuối bằng 1µg/mL. PI là một thuốc nhuộm không thấm được qua màng tế bào thường không bám vào các tế bào sống, trong khi đó các tế bào chết hấp thu thuốc nhuộm này và vì thế dễ phát hiện khi phát xạ huỳnh quang.

Các mẫu được đánh giá bằng phép trắc lưu tế bào trên thiết bị FACSCanto II và được phân tích bằng phần mềm FACSDiva (cả thiết bị và phần mềm đều do Becton Dickinson cung cấp). Các tế bào đích được xác định là các tế bào dương tính DiO. Các tế bào đích âm tính PI được phân loại là các tế bào đích sống. Tỷ lệ gây độc tế bào được tính toán bằng công thức sau:

$$\text{Mức gây độc tế bào [\%]} = \frac{n_{\text{tế bào đích chết}}}{n_{\text{tế bào đích}}} \times 100$$

n = Số phản ứng

Sử dụng phần mềm GraphPad Prism 5 (Graph Pad Software, San Diego), tỷ lệ mức gây độc tế bào được lập đồ thị theo nồng độ cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép tương ứng. Các đường cong đáp ứng liều được phân tích bằng các mô hình hồi quy logistic bốn thông số để đánh giá các đường cong đáp ứng liều xichma với độ dốc nghiêng cố định và các giá trị EC50 được tính toán.

Ví dụ 1.5

Hiệu quả của việc chuyển hướng PBMC của người không được kích thích chống lại các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII người khi có mặt và không có mặt EGFRvIII hòa tan

Hoạt tính độc tế bào của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 được phân tích bằng thử nghiệm về tính độc tế bào dựa trên FACS sử dụng các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII người làm tế bào đích, và PBMC người không được kích thích làm tế bào tác động. Thử nghiệm này được tiến hành như được mô tả trong ví dụ 1.4 trên đây.

Bất ngờ là, các giá trị EC50 thường cao hơn trong các thử nghiệm về tính độc tế bào với PBMC không được kích thích làm tế bào tác động so với các thử nghiệm về tính độc tế bào sử dụng các tế bào T CD8+ của người được kích thích (xem ví dụ 1.2).

Ví dụ 1.6

Hiệu quả của việc chuyển hướng PBMC người không được kích thích chống lại dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm của người dương tính EGFRvIII U87 hoặc các tế bào DK-MG

Hoạt tính độc tế bào của các cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 được phân tích tiếp trong thử nghiệm về tính độc tế bào dựa trên FACS sử dụng dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm của người dương tính EGFRvIII U87 hoặc DK-MG làm nguồn tế bào đích và PBMC người không được kích thích làm các tế bào tác động. Thử nghiệm này được tiến hành như được mô tả trong ví dụ 1.4 trên đây. Các kết quả được thể hiện trên Fig 8 và Fig.9.

Ví dụ 1.7

Hiệu lực của việc chuyển hướng các tế bào T khỉ macaca chống lại các tế bào CHO biểu hiện EGFRvIII khỉ macaca

Cuối cùng, hoạt tính gây độc tế bào của các cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 được phân tích trong thử nghiệm về tính độc tế bào dựa trên FACS sử dụng các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII khỉ macaca (cyno) làm các tế bào đích, và dòng tế bào T khỉ macaca 4119LnPx (Knappe et al. Blood 95:3256-61 (2000)) làm nguồn các tế bào tác động. Đánh dấu các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII khỉ macaca làm tế bào đích và phân tích giải phóng ^{51}Cr dựa vào phép trắc lưu tế bào được thực hiện như được mô tả trên đây.

Các kết quả được thể hiện trên Fig.10. Các tế bào T khỉ macaca từ dòng tế bào 4119LnPx được cảm ứng để giết hiệu quả các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII khỉ macaca bằng cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 theo sáng chế.

Ví dụ 1.8

Chênh lệch hiệu lực giữa phân tử đồng dạng monome và dime của cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép

Để xác định sự khác nhau về hoạt tính gây độc tế bào giữa phân tử đồng dạng monome và dime của từng cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EGFRvIIIxCD3 (được dùng để chỉ là chênh lệch hiệu lực), thử nghiệm về tính độc tế bào giải phóng 51-crom trong 18 giờ được tiến hành như được mô tả trên đây (ví dụ 1.1) với cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép đã tinh sạch dạng monome và dime. Các tế bào tác động là các tế bào T CD8+ của người được làm giàu đã qua kích thích. Các tế bào đích là các tế bào CHO được chuyển nhiễm hu EGFRvIII. Tỷ lệ tế bào tác động so với tế bào đích (E:T) là 10:1. Chênh lệch hiệu lực được tính toán là tỷ lệ giữa các giá trị EC50.

Ví dụ 2

Độ ổn định sau khi ủ 24 giờ trong huyết tương của người

Cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép đã tinh sạch được ủ với tỷ lệ 1:5 trong bồn chứa huyết tương người ở nhiệt độ 37°C trong 96 giờ tại nồng độ cuối nằm trong khoảng từ 2 đến 20µg/ml. Sau khi ủ trong huyết tương, các cấu trúc kháng thể được so sánh trong thử nghiệm giải phóng 51-crom với các tế bào T CD8+ người được làm giàu đã qua kích thích và các tế bào CHO được chuyển nhiễm EGFRvIII người tại nồng độ ban đầu nằm trong khoảng từ 0,01 đến 0,1µg/ml và với tỷ lệ tế bào tác động so với tế bào đích (E:T) là 10:1 (thử nghiệm được tiến hành như được mô tả trong ví dụ 1.1). Các cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép mới được rã đông, không được ủ được bao gồm làm các đối chứng.

Các kết quả được thể hiện trên Fig.11; cấu trúc kháng thể EvIII-2 có độ ổn định trong huyết tương (EC_{50} huyết tương/EC_{50} đối chứng) là khoảng 2. Đáng ngạc nhiên là, cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép theo sáng chế cho thấy gần như không có sự chuyển hóa nào.

Ví dụ 3

Phân tích tính đồng nhất protein bằng sắc ký trao đổi cation có độ phân giải cao

Tính đồng nhất protein của các cấu trúc kháng thể theo sáng chế được phân tích bằng sắc ký trao đổi cation có độ phân giải cao CIEX.

50µg cấu trúc kháng thể monome được pha loãng bằng 50ml dung dịch đệm liên kết A (20mM natri dihydro phosphat, 30mM NaCl, 0,01% natri octanat, pH 5,5), và 40ml dung dịch này được đưa vào cột chứa 1ml BioPro SP-F (YMC, Đức) được nối với thiết bị Äkta Micro FPLC (GE Healthcare, Đức). Sau khi mẫu liên kết, bước rửa bằng dung dịch đệm liên kết khác được tiến hành. Để giải hấp protein, gradien muối tăng tuyến tính sử dụng dung dịch đệm B (20mM natri dihydro phosphat, 1000mM NaCl, 0,01% natri octanat, pH 5,5) lên đến 50% dung dịch đệm B được đưa vào với thể tích bằng 10 lần thể tích cột. Toàn bộ quá trình chạy được kiểm tra ở bước sóng hấp thụ quang 280, 254 và 210nm. Phân tích được tiến hành bằng cách kết hợp đỉnh của tín hiệu ở bước sóng 280nm được ghi lại trong tờ đánh giá chạy sắc ký bằng phần mềm Äkta Unicorn.

Các kết quả được thể hiện trên Figtrên Fig.12. Hầu như toàn bộ các cấu trúc kháng thể thử nghiệm đều có tính đồng nhất rất tốt ≥ 95% (diện tích dưới đường cong nồng độ (= AUC) của đỉnh chính).

Ví dụ 4

Tính kỵ nước trên bề mặt như được đo bằng HIC Butyl

Tính kỵ nước trên bề mặt của các cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép theo sáng chế được thử nghiệm trong sắc ký tương tác kỵ nước HIC ở chế độ dòng chảy liên tục.

50µg cấu trúc kháng thể monome được pha loãng bằng dung dịch đệm công thức chung đến thể tích cuối bằng 500µl (10mM axit xitric, 75mM lysin HCl, 4% trehaloza, pH 7,0) và được đưa vào cột chứa 1ml butyl Sepharoza FF (GE Healthcare, Đức) được nối với hệ thống FPLC có bộ phận tinh sạch Äkta (GE Healthcare, Đức). Toàn bộ quá trình chạy được kiểm tra ở bước sóng hấp phụ quang 280, 254 và 210nm. Phân tích được tiến hành bằng cách kết hợp đỉnh của tín hiệu ở bước sóng 280nm được ghi lại trong tờ đánh giá chạy sắc ký bằng phần mềm Äkta Unicorn. Đặc tính giải hấp được đánh giá bằng cách so sánh diện tích và tốc độ tăng và giảm tín hiệu protein nhờ đó chỉ ra cường độ tương tác giữa thể dung hợp albumin BiTE với chất nền.

Cấu trúc kháng thể có đặc tính giải hấp tốt, mà hầu như là nhanh và hoàn toàn: xem Fig.13.

Ví dụ 5

Sự chuyển hóa monome thành dime sau (i) ba chu kỳ đông lạnh/rã đông và (ii) 7 ngày ủ tại nồng độ 250µg/ml

Cấu trúc dạng monome của kháng thể EGFRvIIIxCD3 đặc hiệu kép được đưa vào các điều kiện áp lực khác nhau sau đó chạy máy SEC hiệu năng cao để xác định tỷ lệ cấu trúc kháng thể dạng monome ban đầu, mà được chuyển hóa thành cấu trúc kháng thể dạng dime.

(i) 25µg cấu trúc kháng thể dạng monome được điều chỉnh đến nồng độ bằng 250µg/ml bằng dung dịch đệm công thức chung và sau đó được đông lạnh ở nhiệt độ -80°C trong 30 phút sau đó rã đông trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau ba chu kỳ đông lạnh/rã đông, lượng dime được xác định bằng máy HP-SEC.

(ii) 25µg cấu trúc kháng thể dạng monome được điều chỉnh đến nồng độ 250µg/ml bằng dung dịch đệm công thức chung sau đó ủ ở nhiệt độ 37°C trong 7 ngày. Lượng dime được xác định bằng máy HP-SEC.

Cột SEC có độ phân giải cao TSK Gel G3000 SWXL (Tosoh, Tokyo-Nhật Bản) được nối với bộ phận tinh sạch Äkta 10 FPLC (GE Lifesciences) được trang bị bộ lấy mẫu tự động A905. Dung dịch đệm chạy và làm cân bằng cột chứa 100mM KH_2PO_4 – 200mM Na_2SO_4 được điều chỉnh đến pH 6,6. Dung dịch kháng thể (25µg protein) được đưa vào cột đã làm cân bằng và tiến hành giải hấp với tốc độ dòng bằng 0,75ml/phút tại áp suất tối đa là 7MPa. Toàn bộ quá trình chạy được kiểm tra tại bước sóng hấp phụ quang 280, 254 và 210nm. Tiến hành phân tích bằng cách kết hợp đỉnh của tín hiệu ở bước sóng 210nm được ghi lại trên tờ đánh giá chạy sắc ký bằng phần mềm Äkta Unicorn. Lượng dime được tính toán bằng cách lấy diện tích đỉnh dime chia cho tổng diện tích của đỉnh monome cộng với dime.

Các kết quả được thể hiện trên Fig.14 và Fig.15 dưới đây. Cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép EVIII-1xCD3 theo sáng chế được trình diện với tỷ lệ dime bằng 0,59% sau ba chu kỳ đông lạnh/rã đông (Fig.15), và với tỷ lệ dime là 0,26% sau 7 ngày ủ ở nhiệt độ 37°C trong khi các cấu trúc đặc hiệu kép EvIII-1xCD3 thể hiện các giá trị cao hơn 1,56% sau 7 ngày ủ và 2,53% sau ba chu kỳ đông lạnh/rã đông.

Ví dụ 6

Độ ổn định nhiệt

Nhiệt độ kết tụ kháng thể được xác định như sau: 40µl dung dịch cấu trúc kháng thể ở nồng độ 250µg/ml được chuyển vào cuvet sử dụng một lần và được đặt trong thiết

bị tán xạ ánh sáng động lực học Wyatt DynaPro NaNOtar (Wyatt). Mẫu được gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40°C đến 70°C với tốc độ gia nhiệt bằng 0,5°C/phút với bán kính đo được không thay đổi. Bán kính tăng chứng tỏ protein nóng chảy và mức kết tụ được sử dụng bằng gói chương trình phần mềm trong thiết bị DLS để tính toán nhiệt độ kết tụ của cấu trúc kháng thể.

Bảng 2: Nhiệt độ kết tụ của các cấu trúc dặc hiệu kép được xác định bằng thiết bị DLS (tán xạ ánh sáng động-dynamic light scattering)

EGFRvIII HALB BiTE	Độ ổn định nhiệt DLS T_A [°C]
EvIII-1	51,6
EvIII-2	51,2

Ví dụ 7

Độ đục ở nồng độ kháng thể 2500µg/ml

1ml dung dịch cấu trúc kháng thể đã tinh sạch có nồng độ bằng 250µg/ml được cô bằng thiết bị cô ly tâm nhanh đến nồng độ 2500µg/ml. Sau khi lưu trữ trong 16 giờ ở nhiệt độ 5°C, độ đục của dung dịch kháng thể được xác định bằng cách đo độ hấp phụ quang ở bước sóng OD340 nm dựa vào dung dịch đệm công thức chung.

Các kết quả được thể hiện trong bảng 3 dưới đây. Trong khi cấu trúc kháng thể EvIII-1 theo sáng chế có độ đục rất tốt ≤ 0,03, thì cấu trúc kháng thể EvIII-2 thể hiện độ đục đáng kể, điều này cho thấy các đặc tính ít có lợi khi bào chế phân tử này trong dược phẩm.

Bảng 3: Độ đục của các cấu trúc kháng thể sau khi cô đến nồng độ 2,5 mg/ml qua đêm

EGFRvIII HALB BiTE	Độ đục sau 16 giờ @ 2500 µg/ml [OD340]
EvIII-1	0,029
EvIII-2	2,87

SEQ ID NO:	Mô tả	Nguồn gốc	Trình tự
1.	Mối liên kết peptit	nhân tạo	GGGG
2.	Mối liên kết peptit	nhân tạo	GGGGS
3.	Mối liên kết peptit	nhân tạo	GGGGQ
4.	Mối liên kết peptit	nhân tạo	PGGGGS
5.	Mối liên kết peptit	nhân tạo	PGGDGS
6.	Mối liên kết peptit	nhân tạo	SGGGGS
7.	Mối liên kết peptit	nhân tạo	GGGGSGGGS
8.	Mối liên kết peptit	nhân tạo	GGGGSGGGGS
9.	Mối liên kết peptit	nhân tạo	GGGGSGGGGSGGGGS

10.	Hexa-histidin	nhân tạo	HHHHHH
11.	CDR-L1 của F6A	nhân tạo	GSSTGAVTSGYYPN
12.	CDR-L2 của F6A	nhân tạo	GTKFLAP
13.	CDR-L3 của F6A	nhân tạo	ALWYSNRWV
14.	CDR-H1 của F6A	nhân tạo	IYAMN
15.	CDR-H2 của F6A	nhân tạo	RIRSKYNNYATYYADSVKS
16.	CDR-H3 của F6A	nhân tạo	HGNFGNSYVSFFAY
17.	VH của F6A	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNIYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKSRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSFFAYWGQGTLVTVSS
18.	VL của F6A	nhân tạo	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
19.	VH-VL của F6A	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNIYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKSRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSFFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
20.	CDR-L1 của H2C	nhân tạo	GSSTGAVTSGYYPN
21.	CDR-L2 của H2C	nhân tạo	GTKFLAP
22.	CDR-L3 của H2C	nhân tạo	ALWYSNRWV
23.	CDR-H1 của H2C	nhân tạo	KYAMN
24.	CDR-H2 của H2C	nhân tạo	RIRSKYNNYATYYADSVKD
25.	CDR-H3 của H2C	nhân tạo	HGNFGNSYISYWAY

26.	VH của H2C	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSS
27.	VL của H2C	nhân tạo	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
28.	VH-VL của H2C	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQE PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE DEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
29.	CDR-L1 của H1E	nhân tạo	GSSTGAVTSGYYPN
30.	CDR-L2 của H1E	nhân tạo	GTKFLAP
31.	CDR-L3 của H1E	nhân tạo	ALWYSNRWV
32.	CDR-H1 của H1E	nhân tạo	SYAMN
33.	CDR-H2 của H1E	nhân tạo	RIRSKYNNYATYYADSVKG
34.	CDR-H3 của H1E	nhân tạo	HGNFGNSYLSFWAY
35.	VH của H1E	nhân tạo	EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGTLVTVSS
36.	VL của H1E	nhân tạo	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
37.	VH-VL của H1E	nhân tạo	EVQLVESGGGLEQPGGSLKLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSFWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPED EAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
38.	CDR-L1 của G4H	nhân tạo	GSSTGAVTSGYYPN
39.	CDR-L2 của G4H	nhân tạo	GTKFLAP
40.	CDR-L3 của G4H	nhân tạo	ALWYSNRWV

41.	CDR-H1 của G4H	nhân tạo	RYAMN
42.	CDR-H2 của G4H	nhân tạo	RIRSKYNNYATYYADSVKG
43.	CDR-H3 của G4H	nhân tạo	HGNFGNSYLSYFAY
44.	VH của G4H	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSYFAYWGQGTLVTVSS
45.	VL của G4H	nhân tạo	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
46.	VH-VL của G4H	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNRYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSYFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQE PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE DEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
47.	CDR-L1 của A2J	nhân tạo	RSSTGAVTSGYYPN
48.	CDR-L2 của A2J	nhân tạo	ATDMRPS
49.	CDR-L3 của A2J	nhân tạo	ALWYSNRWV
50.	CDR-H1 của A2J	nhân tạo	VYAMN
51.	CDR-H2 của A2J	nhân tạo	RIRSKYNNYATYYADSVKK
52.	CDR-H3 của A2J	nhân tạo	HGNFGNSYLSWWAY
53.	VH của A2J	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNVYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKKRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSWWAYWGQGTLVTVSS
54.	VL của A2J	nhân tạo	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGATDMRPSGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL

55.	VH-VL của A2J	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNVYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKKRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYLSWWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQ EPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGATDMRPSGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQP EDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
56.	CDR-L1 của E1L	nhân tạo	GSSTGAVTSGYYPN
57.	CDR-L2 của E1L	nhân tạo	GTKFLAP
58.	CDR-L3 của E1L	nhân tạo	ALWYSNRWV
59.	CDR-H1 của E1L	nhân tạo	KYAMN
60.	CDR-H2 của E1L	nhân tạo	RIRSKYNNYATYYADSVKS
61.	CDR-H3 của E1L	nhân tạo	HGNFGNSYTSYYAY
62.	VH của E1L	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKSRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYTSYYAYWGQGTLVTVSS
63.	VL của E1L	nhân tạo	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
64.	VH-VL của E1L	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKSRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYTSYYAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQE PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE DEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
65.	CDR-L1 của E2M	nhân tạo	RSSTGAVTSGYYPN
66.	CDR-L2 của E2M	nhân tạo	ATDMRPS
67.	CDR-L3 của E2M	nhân tạo	ALWYSNRWV

68.	CDR-H1 của E2M	nhân tạo	GYAMN
69.	CDR-H2 của E2M	nhân tạo	RIRSKYNNYATYYADSVKE
70.	CDR-H3 của E2M	nhân tạo	HRNFGNSYLSWFAY
71.	VH của E2M	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNGYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKERFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHRNFGNSYLSWFAYWGQGTLVTVSS
72.	VL của E2M	nhân tạo	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGATDMRPSGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
73.	VH-VL của E2M	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNGYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKERFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHRNFGNSYLSWFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQE PSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGATDMRPSGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE DEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
74.	CDR-L1 của F7O	nhân tạo	GSSTGAVTSGYYPN
75.	CDR-L2 của F7O	nhân tạo	GTKFLAP
76.	CDR-L3 của F7O	nhân tạo	ALWYSNRWV
77.	CDR-H1 của F7O	nhân tạo	VYAMN
78.	CDR-H2 của F7O	nhân tạo	RIRSKYNNYATYYADSVKK
79.	CDR-H3 của F7O	nhân tạo	HGNFGNSYISWWAY
80.	VH của F7O	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNVYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKKRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISWWAYWGQGTLVTVSS
81.	VL của F7O	nhân tạo	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL

82.	VH-VL của F7O	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNVYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKKRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISWWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQ EPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGYYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE DEAEYYCALWYSNRWVFGGGTKLTVL
83.	CDR-L1 của F12Q	nhân tạo	GSSTGAVTSGNYPN
84.	CDR-L2 của F12Q	nhân tạo	GTKFLAP
85.	CDR-L3 của F12Q	nhân tạo	VLWYSNRWV
86.	CDR-H1 của F12Q	nhân tạo	SYAMN
87.	CDR-H2 của F12Q	nhân tạo	RIRSKYNNYATYYADSVKG
88.	CDR-H3 của F12Q	nhân tạo	HGNFGNSYVSWWAY
89.	VH của F12Q	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGTLVTVSS
90.	VL của F12Q	nhân tạo	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
91.	VH-VL của F12Q	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQ EPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL

92.	CDR-L1 của I2C	nhân tạo	GSSTGAVTSGNYPN
93.	CDR-L2 của I2C	nhân tạo	GTKFLAP
94.	CDR-L3 của I2C	nhân tạo	VLWYSNRWV
95.	CDR-H1 của I2C	nhân tạo	KYAMN
96.	CDR-H2 của I2C	nhân tạo	RIRSKYNNYATYYADSVKD
97.	CDR-H3 của I2C	nhân tạo	HGNFGNSYISYWAY
98.	VH của I2C	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSS
99.	VL của I2C	nhân tạo	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
100.	VH-VL của I2C	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQE PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
101.	VH của F12q	nhân tạo	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGTLVTVSS
102.	VL của F12q	nhân tạo	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
103.	F12q	scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQ EPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
104.	HALB	người	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD

			LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
105.	HALB7	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAGTFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAAMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
106.	HALB098	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
107.	HALB114	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALDVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL

			VELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPHLVAASKAALGL
108.	HALB254	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALGVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
109.	HALB253	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALDVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
110.	HALB131	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPHLVAASQAALGL
111.	HALB135	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY

			APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPHLVAASKAALGL
112.	HALB133	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPKLVAASKAALGL
113.	HALB234	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALDVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPKLVAASKAALGL
114.	HALB C34S	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE

			FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
115.	HALB7 C34S	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAGTFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAAMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
116.	HALB098 C34S	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
117.	HALB114 C34S	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALDVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPHLVAASKAALGL

118.	HALB254 C34S	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALGVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
119.	HALB253 C34S	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALDVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
120.	HALB131 C34S	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPHLVAASQAALGL
121.	HALB135 C34S	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK

			AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPHLVAASKAALGL
122.	HALB133 C34S	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPKLVAASKAALGL
123.	HALB234 C34S	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQSPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALDVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPKLVAASKAALGL
124.	HALB C34A	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY

			LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
125.	HALB7 C34A	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAGTFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAAMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL
126.	HALB098 C34A	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
127.	HALB114 C34A	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALDVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPHLVAASKAALGL
128.	HALB254 C34A	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC

			TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALGVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
129.	HALB253 C34A	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALDVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPKLVAASQAALGL
130.	HALB131 C34A	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPHLVAASQAALGL
131.	HALB135 C34A	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD

			LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPHLVAASKAALGL
132.	HALB133 C34A	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDKFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPKLVAASKAALGL
133.	HALB234 C34A	nhân tạo	DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLC TVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFY APELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPK AEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPAD LPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDE FKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDY LSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALDVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTAL VELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGPKLVAASKAALGL
134.	Ab156	nhân tạo	RDWDFDVFGGGTPVGG
135.	peptit liên kết FcRn tuyến tính	nhân tạo	QRFVTGHFGGLXPANG
136.	peptit Y liên kết FcRn tuyến tính	nhân tạo	QRFVTGHFGGLYPANG
137.	peptit H liên kết	nhân tạo	QRFVTGHFGGLHPANG

	FcRn tuyến tính		
138.	peptit H liên kết FcRn lõi	nhân tạo	TGHFGGLHP
139.	peptit H liên kết FcRn vòng	nhân tạo	QRFCTGHFGGLHPCNG
140.	Thể lai chéo 1 HC		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
141.	Thể lai chéo 1 LC		GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
142.	Thể lai chéo 2 HC		ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGT QTYTCNVDHKPSNTKVDKTVEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
143.	Thể lai chéo 2 LC		GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
144.	Phân tử liên kết		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQY

	Fc dị Fc		GSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
145.	Phân tử đối tác Fc dị Fc		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQY GSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
146.	Kháng thể lớn 1 Fc đích		EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
147.	Kháng thể lớn 1 CD3 Fc		EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
148.	Kháng thể lớn 2 Fc đích		EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
149.	Kháng thể lớn 2 CD3 Fc		EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
150.	Mono Fc		APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVTTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
151.	EvIII-1	VH CDR1	NYGMH
152.	EvIII-1	VH CDR2	VIWYDGSDKYYADSVRG

153.	EvIII-1	VH CDR3	DGYDILTGNPRDFDY
154.	EvIII-1	VL CDR1	RSSQSLVHSDGNTYLS
155.	EvIII-1	VL CDR2	RISRRFS
156.	EvIII-1	VL CDR3	MQSTHVPRT
157.	EvIII-1	VH	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWYDGSDKYYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLVTVSS
158.	EvIII-1	VL	DTVMTQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRRFSGVPDRFSGSGAGTDFTL EISRVEAEDVGVYYCMQSTHVPRTFGCGTKVEIK
159.	EvIII-1	scFv	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWYDGSDKYYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDTVMTQTPL SSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDV GVYYCMQSTHVPRTFGCGTKVEIK
160.	EvIII-1	Phân tử đặc hiệu kép	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWYDGSDKYYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDTVMTQTPL SSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDV GVYYCMQSTHVPRTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ GTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
161.	EvIII-2	VH CDR1	NYGMH
162.	EvIII-2	VH CDR2	VIWYDGSDKYYADSVRG
163.	EvIII-2	VH CDR3	DGYDILTGNPRDFDY
164.	EvIII-2	VL CDR1	RSSQSLVHSDGNTYLS
165.	EvIII-2	VL CDR2	RISRRFS
166.	EvIII-2	VL CDR3	MQSTHVPRT

167.	EvIII-2	VH	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSDKYYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLVTVSS
168.	EvIII-2	VL	DTVMTQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRRFSGVPDRFSGSGAGTDFTL EISRVEAEDVGVYYCMQSTHVPRTFGQGTKVEIK
169.	EvIII-2	scFv	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSDKYYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDTVMTQTPL SSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDV GVYYCMQSTHVPRTFGQGTKVEIK
170.	EvIII-2	Phân tử đặc hiệu kép	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSDKYYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDTVMTQTPL SSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDV GVYYCMQSTHVPRTFGQGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ GTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
171.	EGFR vIII	Người	LEEKKGNYVVTDHGSCVRACGADSYEMEEDGVRKCKKCEGPCRKVCNGIGIGEFKDSLSINAT NIKHFKNCTSISGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAF ENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVIISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQ KTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPREF VENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVWKYA DAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPTNGPKIPSIATGMVGALLLLLVVALGIGLFMRRRHIVR KRTLRRLLQERELVEPLTPSGEAPNQALLRILKETEFKKIKVLGSGAFGTVYKGLWIPEGEKVKI PVAIKELREATSPKANKEILDEAYVMASVDNPHVCRLLGICLTSTVQLITQLMPFGCLLDYVRE HKDNIGSQYLLNWCVQIAKGMNYLEDRRLVHRDLAARNVLVKTPQHVKITDFGLAKLLGAEE KEYHAEGGKVPIKWMALESILHRIYTHQSDVWSYGVTVWELMTFGSKPYDGIPASEISSILEKG

			ERLPQPPICTIDVYMIMVKCWMIDADSRPKFRELIIEFSKMARDPQRYLVIQGDERMHLPSPTDS NFYRALMDEEDMDDVVDADEYLIPQQGFFSSPSTSRTPLLSSLSATSNNSTVACIDRNGLQSCPI KEDSFLQRYSSDPTGALTEDSIDDTFLPVPEYINQSVPKRPAGSVQNPVYHNQPLNPAPSRDPHY QDPHSTAVGNPEYLNTVQPTCVNSTFDSPAHWAQKGSHQISLDNPDYQQDFFPKEAKPNGIFK GSTAENAEYLRVAPQSSEFIGA
172.	EGFR vIII	Khỉ cynomolgus	LEEKKGNYVVTDHGSCVRACGADSYEMEEDGVRKCKKCEGPCRKVCNGIGIGEFKDTLSINAT NIKHFKNCTSISGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAF ENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVIISGNKNLCYANTINWKKLFGTSSQ KTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCQNVSRGRECVDKCNILEGEPREFV ENSECIQCHPECLPQVMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVWKYAD AGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCARNGPKIPSIATGMLGALLLLLVVALGIGLFMRRRHIVR KRTLRRLLQERELVEPLTPSGEAPNQALLRILKETEFKKIKVLGSGAFGTVYKGLWIPEGEKVKI PVAIKELREATSPKANKEILDEAYVMASVDNPHVCRLLGICLTSTVQLITQLMPFGCLLDYVRE HKDNIGSQYLLNWCVQIAKGMNYLEDRRLVHRDLAARNVLVKTPQHVKITDFGLAKLLGAEE KEYHAEGGKVPIKWMALESILHRIYTHQSDVWSYGVTVWELMTFGSKPYDGIPASEISSILEKG ERLPQPPICTIDVYMIMVKCWMIDADSRPKFRELIIEFSKMARDPQRYLVIQGDERMHLPSPTDS NFYRALMDEEDMDDVVDADEYLIPQQGFFSSPSTSRTPLLSSLSATSNNSTVACIDRNGLQSCPI KEDSFLQRYSSDPTGALTEDSIDDTFLPVPEYINQSVPKRPAGSVQNPVYHNQPLNPAPSRDPHY QDPHSTAVGNPEYLNTVQPTCVNSTFDSPAHWAQKGSHQISLDNPDYQQDFFPKEAKPNGIFK GSTAENAEYLRVAPQSSEFIGA
173.	Fc monome-1 +c/-g	nhân tạo	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT

			VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
174.	Fc monome-2 +c/-g/delGK	nhân tạo	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
175.	Fc monome-3 -c/+g	nhân tạo	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
176.	Fc monome-4 -c/+g/delGK	nhân tạo	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
177.	Fc monome-5 -c/-g	nhân tạo	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
178.	Fc monome-6 -c/-g/delGK	nhân tạo	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
179.	Fc monome-7 +c/+g	nhân tạo	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ

			VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
180.	Fc monome-8 +c/+g/delGK	nhân tạo	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
181.	scFc-1	nhân tạo	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
182.	scFc-2	nhân tạo	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
183.	scFc-3	nhân tạo	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV

			HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
184.	scFc-4	nhân tạo	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
185.	scFc-5	nhân tạo	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

186.	scFc-6	nhân tạo	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGG GGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
187.	scFc-7	nhân tạo	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
188.	scFc-8	nhân tạo	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY

			SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
189.	EvIII-1xCD3-scFc	Phân tử HLE đặc hiệu kép	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWYDGSDKYYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDTVMTQTPL SSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDV GVYYCMQSTHVPRTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ GTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
190.	EvIII-1xCD3-scFc_delGK	Phân tử HLE đặc hiệu kép	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWYDGSDKYYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDTVMTQTPL SSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDV GVYYCMQSTHVPRTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKG LEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ GTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE

			MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
191.	Mối liên kết peptit	Mối liên kết $(G_4S)_4$	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
192.	Mối liên kết peptit	Mối liên kết $(G_4S)_5$	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
193.	Mối liên kết peptit	Mối liên kết $(G_4S)_6$	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
194.	Mối liên kết peptit	Mối liên kết $(G_4S)_7$	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
195.	Mối liên kết peptit	Mối liên kết $(G_4S)_8$	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS

Yêu cầu bảo hộ

1. Cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng liên kết thứ nhất liên kết với thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì VIII (epidermal growth factor receptor VIII – EGFRvIII) của người và của khỉ macaca trên bề mặt của tế bào đích và vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 của người trên bề mặt tế bào T, trong đó vùng liên kết thứ nhất bao gồm polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 157 và polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 158.

2. Cấu trúc kháng thể theo điểm 1, trong đó cấu trúc kháng thể này ở dạng được chọn từ nhóm bao gồm $(scFv)_2$, đoạn kháng thể nhị hợp (diabody) và oligome của chúng.

3. Cấu trúc kháng thể theo điểm 1, trong đó vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 epsilon của người và với CD3 epsilon của *Callithrix jacchus, Saguinus oedipus* hoặc *Saimiri sciureus,* và bao gồm:

(i) vùng VL bao gồm: CDR-L1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 11, CDR-L2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:12, và CDR-L3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:13; và vùng VH bao gồm: CDR-H1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 14, CDR-H2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:15, và CDR-H3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:16;

(ii) vùng VL bao gồm: CDR-L1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 20, CDR-L2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:21, và CDR-L3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:22; và vùng VH bao gồm: CDR-H1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 23, CDR-H2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:24, và CDR-H3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:25;

(iii) vùng VL bao gồm: CDR-L1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 29, CDR-L2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:30, và CDR-L3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:31; và vùng VH bao gồm: CDR-H1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 32, CDR-H2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:33, và CDR-H3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:34;

(iv) vùng VL bao gồm: CDR-L1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 38, CDR-L2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:39, và CDR-L3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:40; và vùng VH bao gồm: CDR-H1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 41, CDR-H2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:42, và CDR-H3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:43;

(v) vùng VL bao gồm: CDR-L1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 47, CDR-L2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:48, và CDR-L3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:49; và vùng VH bao gồm: CDR-H1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 50, CDR-H2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:51, và CDR-H3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:52;

(vi) vùng VL bao gồm: CDR-L1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 56, CDR-L2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:57, và CDR-L3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:58; và vùng VH bao gồm: CDR-H1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 59, CDR-H2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:60, và CDR-H3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:61;

(vii) vùng VL bao gồm: CDR-L1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 65, CDR-L2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:66, và CDR-L3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:67; và vùng VH bao gồm: CDR-H1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 68, CDR-H2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:69, và CDR-H3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:70;

(viii) vùng VL bao gồm: CDR-L1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 74, CDR-L2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:75, và CDR-L3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:76; và vùng VH bao gồm: CDR-H1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 77, CDR-H2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:78, và CDR-H3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:79;

(ix) vùng VL bao gồm: CDR-L1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 83, CDR-L2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:84, và CDR-L3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:85; và vùng VH bao gồm: CDR-H1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 86, CDR-H2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:87, và CDR-H3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:88;

(x) vùng VL bao gồm: CDR-L1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92, CDR-L2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:93, và CDR-L3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:94; và vùng VH bao gồm: CDR-H1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 95, CDR-H2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:96, và CDR-H3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:97;

hoặc

(xi) vùng VH có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 101, và vùng VL có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 102.

4. Cấu trúc kháng thể theo điểm 1, bao gồm:

(a) polypeptit bao gồm, theo thứ tự sau tính từ đầu tận cùng N:

(i) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 159;

(ii) mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 1 đến 9;

(iii) polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có: SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100, và SEQ ID NO: 103; và

(iv) tùy ý, đuôi His có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10;

(b) polypeptit bao gồm, theo thứ tự sau tính từ đầu tận cùng N:

(i) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 159;

(ii) mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 1 đến 9;

(iii) polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có: SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID

NO: 55, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100, và SEQ ID NO: 103;

(iv) tùy ý, mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 1 đến 9;

(v) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:134; và

(vi) tùy ý, đuôi His có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10;

(c) polypeptit bao gồm, theo thứ tự sau tính từ đầu tận cùng N:

(i) polypeptit có trình tự axit amin QRFVTGHFGGLX$_1$PANG (SEQ ID NO: 135) trong đó X$_1$ là Y hoặc H;

(ii) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 159;

(iii) mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 1 đến 9;

(iv) polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có: SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100, và SEQ ID NO: 103;

(v) polypeptit có trình tự axit amin QRFVTGHFGGLHPANG (SEQ ID NO: 137) hoặc QRFCTGHFGGLHPCNG (SEQ ID NO: 139); và

(vi) tùy ý, đuôi His có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10;

(d) polypeptit thứ nhất bao gồm, theo thứ tự sau tính từ đầu tận cùng N:

(i) polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có: SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 98, và SEQ ID NO: 101;

(ii) mối liên kết peptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8;

(iii) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 158; và

(iv) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 140;

và polypeptit thứ hai bao gồm, theo thứ tự sau tính từ đầu tận cùng N:

(i) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 157;

(ii) mối liên kết peptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8;

(iii) polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm: SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 99, và SEQ ID NO: 102, và gốc serin ở đầu tận cùng C; và

(iv) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 141;

(e) polypeptit thứ nhất bao gồm, theo thứ tự sau tính từ đầu tận cùng N:

(i) polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm: SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 98, và SEQ ID NO: 101;

(ii) mối liên kết peptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8;

(iii) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 158; và

(iv) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 142;

và polypeptit thứ hai bao gồm, theo thứ tự sau tính từ đầu tận cùng N:

(i) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 157;

(ii) mối liên kết peptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 8;

(iii) polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm: SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 45, SEQ ID

NO: 54, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 99, and SEQ ID NO: 102, và gốc serin ở đầu tận cùng C; và

(iv) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 143;

(f) polypeptit thứ nhất bao gồm, theo thứ tự sau tính từ đầu tận cùng N:

(i) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 159;

(ii) mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 1 đến 9;

(iii) polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có: SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100, và SEQ ID NO: 103; và

(iv) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 144;

và polypeptit thứ hai có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 145;

(g) polypeptit thứ nhất bao gồm, theo thứ tự sau tính từ đầu tận cùng N:

(i) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 159; và

(ii) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 146;

và polypeptit thứ hai bao gồm, theo thứ tự sau tính từ đầu tận cùng N:

(i) polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm: SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100, và SEQ ID NO: 103; và

(ii) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 147;

(h) polypeptit thứ nhất bao gồm, theo thứ tự sau tính từ đầu tận cùng N:

(i) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 159; và

(ii) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 148;

và polypeptit thứ hai bao gồm, theo thứ tự sau tính từ đầu tận cùng N:

(i) polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm: SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100, và SEQ ID NO: 103; và

(ii) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 149;

(i) polypeptit bao gồm theo thứ tự sau tính từ đầu tận cùng N:

(i) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 159;

(ii) mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 1 đến 9;

(iii) polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có: SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100, và SEQ ID NO: 103;

(iv) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 150;

hoặc

(j) polypeptit bao gồm, theo thứ tự sau tính từ đầu tận cùng N:

(i) polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 159;

(ii) mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 1 đến 9;

(iii) polypeptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có: SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 46, SEQ ID

NO: 55, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 100, và SEQ ID NO: 103;

(iv) mối liên kết peptit có trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm các trình tự: SEQ ID NO: 1, 2, 4, 5, 6, 8 và 9; và

(v) vùng thứ ba có trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID NO: 181 đến 188.

5. Cấu trúc kháng thể theo điểm 4, trong đó cấu trúc kháng thể này bao gồm polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 160.

6. Polynucleotit mã hóa cấu trúc kháng thể theo điểm 1.

7. Vectơ chứa polynucleotit theo điểm 6.

8. Tế bào chủ phân lập được biến nạp hoặc chuyển nhiễm bằng polynucleotit theo điểm 6.

9. Quy trình sản xuất cấu trúc kháng thể theo điểm 1, trong đó quy trình này bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ chứa polypeptit mã hóa cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép bao gồm vùng liên kết thứ nhất liên kết với EGFRvIII của người và của khỉ macaca trên bề mặt của tế bào đích và vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 của người trên bề mặt tế bào T, trong đó vùng liên kết thứ nhất bao gồm polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 157 và polypeptit có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 158, trong các điều kiện cho phép biểu hiện cấu trúc kháng thể này, và thu hồi cấu trúc kháng thể được tạo ra từ môi trường nuôi cấy.

10. Dược phẩm chứa cấu trúc kháng thể theo một điểm 1 và chất mang, chất ổn định, tá dược, chất pha loãng, chất hòa tan, chất hoạt động bề mặt, chất nhũ hóa, chất bảo quản hoặc chất bổ trợ.

11. Polypeptit bao gồm:

(a) vùng liên kết thứ nhất liên kết với thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì VIII (Epidermal Growth Factor receptor vIII - EGFRvIII) của người và của khỉ macaca, và bao gồm: vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 157, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (VL) có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 158; và

(b) vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 của người, và bao gồm: vùng VL bao gồm: CDR-L1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 92, CDR-L2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:93, và CDR-L3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:94; và vùng VH bao gồm: CDR-H1 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 95, CDR-H2 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:96, và CDR-H3 có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:97.

12. Polypeptit theo điểm 11, trong đó polypeptit này bao gồm (a) vùng liên kết thứ nhất liên kết với EGFRvIII của người và của khỉ macaca, và bao gồm: vùng VH có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 157, và vùng VL có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 158; và (b) vùng liên kết thứ hai liên kết với CD3 của người, và bao gồm vùng VH có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 98, và vùng VL có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 99.

13. Polypeptit theo điểm 11, trong đó polypeptit này bao gồm (a) vùng thứ nhất có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:159; và (b) vùng thứ hai có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:100.

14. Polypeptit theo điểm 13, trong đó polypeptit này còn bao gồm đuôi His có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10.

15. Polypeptit theo điểm 13, trong đó polypeptit này bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:189.

16. Polypeptit theo điểm 13, trong đó polypeptit này bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:190.

17. Polypeptit bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 160.

18. Polypeptit theo điểm 17, trong đó polypeptit này còn bao gồm đuôi His có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 10.

19. Polypeptit theo điểm 17, trong đó polypeptit này bao gồm, theo thứ tự sau tính từ đầu tận cùng N: trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 160, và đuôi His có trình tự nêu trong SEQ ID NO: 10.

20. Polypeptit theo điểm 17, trong đó polypeptit này còn bao gồm Fc chuỗi đơn (scFc) có trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự SEQ ID No. 181 đến 188.

21. Polypeptit theo điểm 20, trong đó polypeptit này bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:189.

22. Polypeptit theo điểm 20, trong đó polypeptit này bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:190.

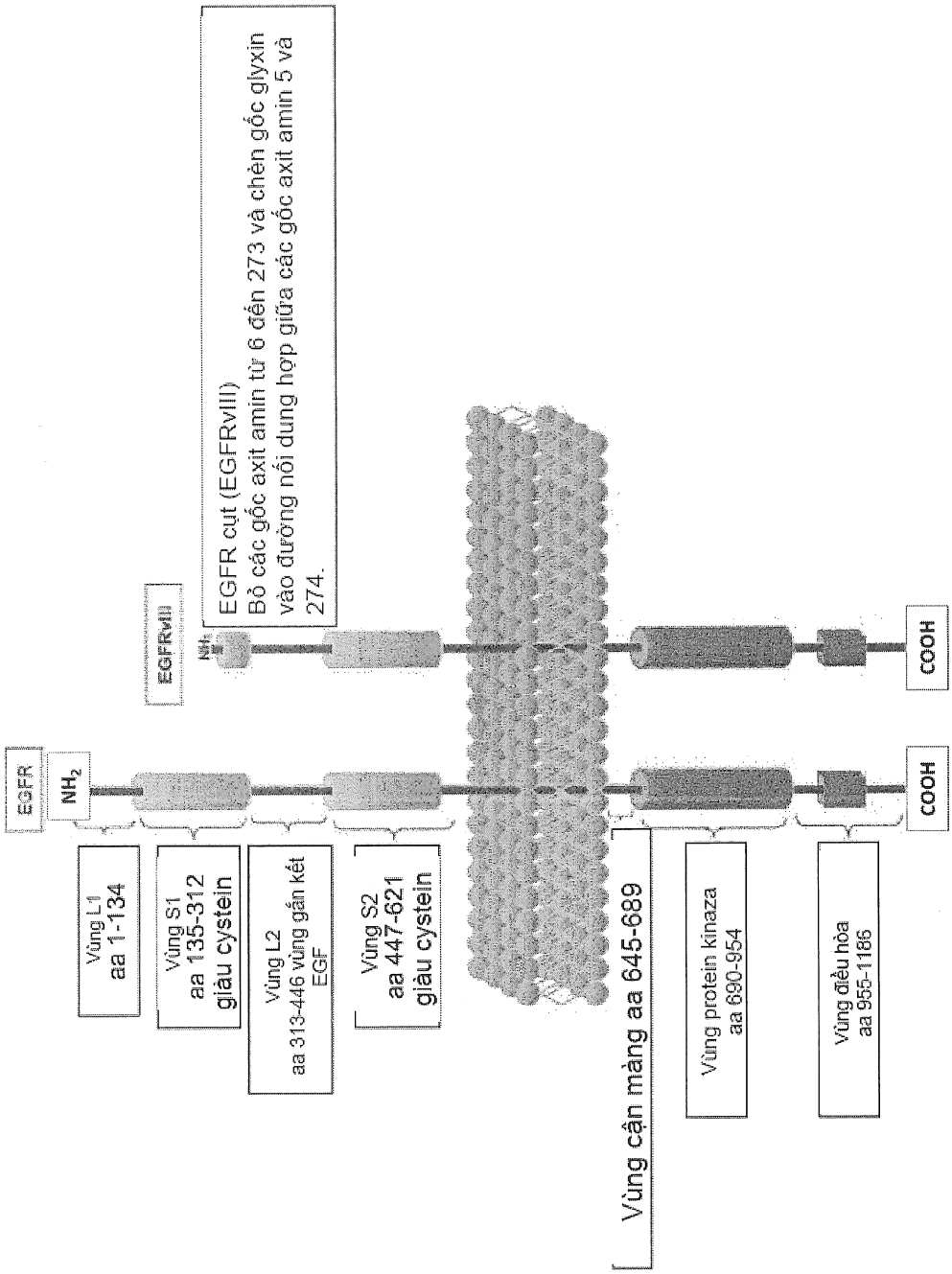

EGFR
NH2
EGFRvIII
NH2
EGFR cụt (EGFRvIII)
Bỏ các gốc axit amin từ 6 đến 273 và chèn gốc glyxin vào đường nối dung hợp giữa các gốc axit amin 5 và 274.
COOH
COOH
Vùng L1 aa 1-134
Vùng S1 aa 135-312 giàu cystein
Vùng L2 aa 313-446 vùng gắn kết EGF
Vùng S2 aa 447-621 giàu cystein
Vùng cận màng aa 645-689
Vùng protein kinaza aa 690-954
Vùng điều hòa aa 955-1186

Fig.1

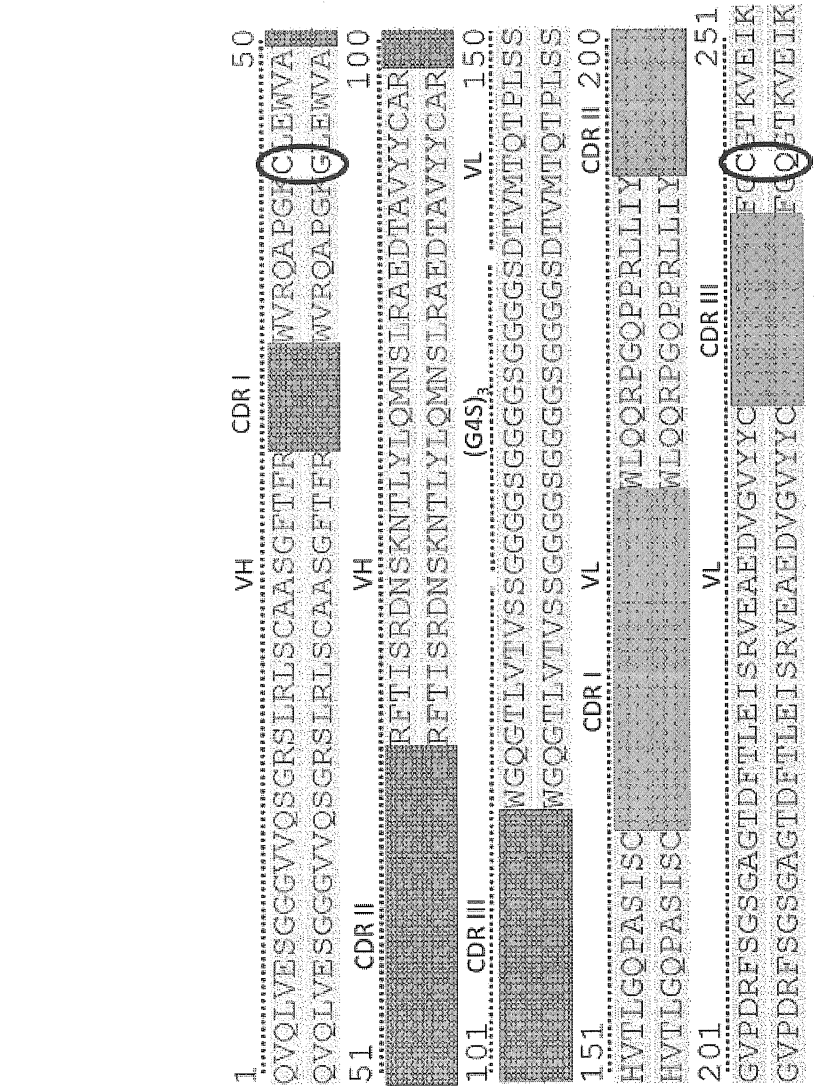
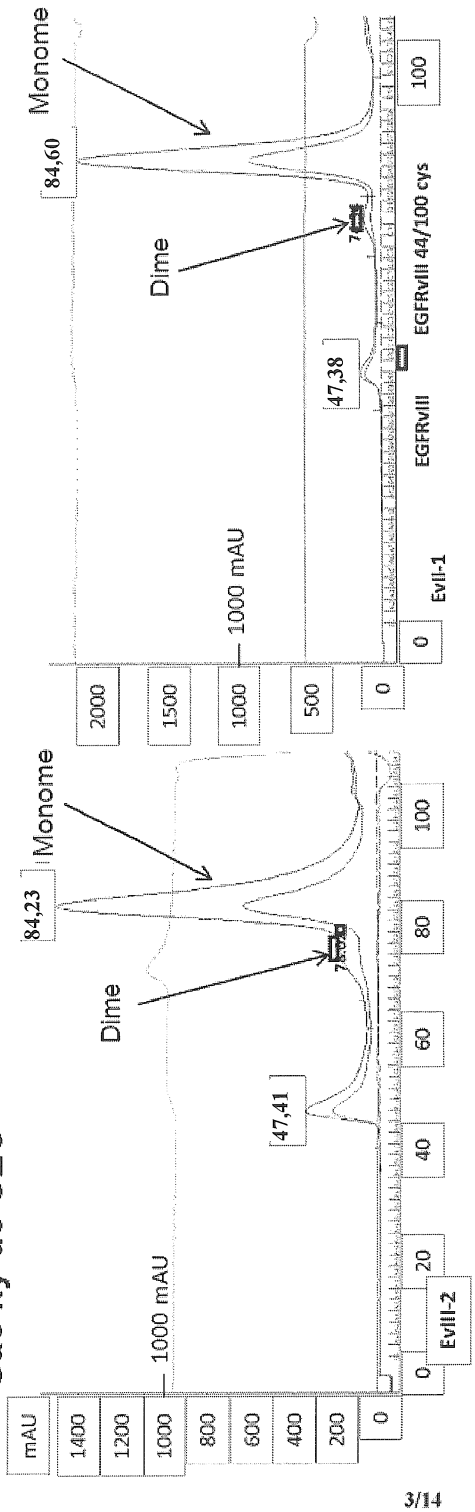

EvIII-1
EvIII-2
VH
CDR I
VH
CDR II
CDR III
(G4S)3
VL
CDR I
VL
CDR II
VL
CDR III

Fig.2

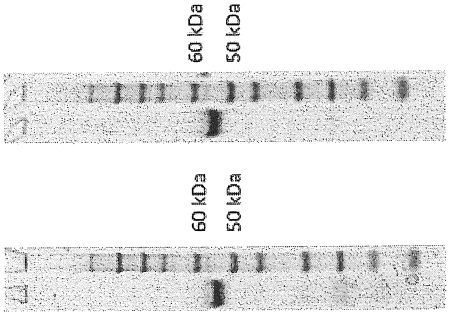
Fig.3

Sắc ký đồ SEC



3/14

Fig.4



Đường màu xanh = OD280 nm
Đường màu đỏ = OD254 nm

EGFRvIII BiTE	Hiệu suất monome [µg/l]	Phần trăm monome
EvIII-2	2503	90
EvIII-1	3671	93

Fig.5

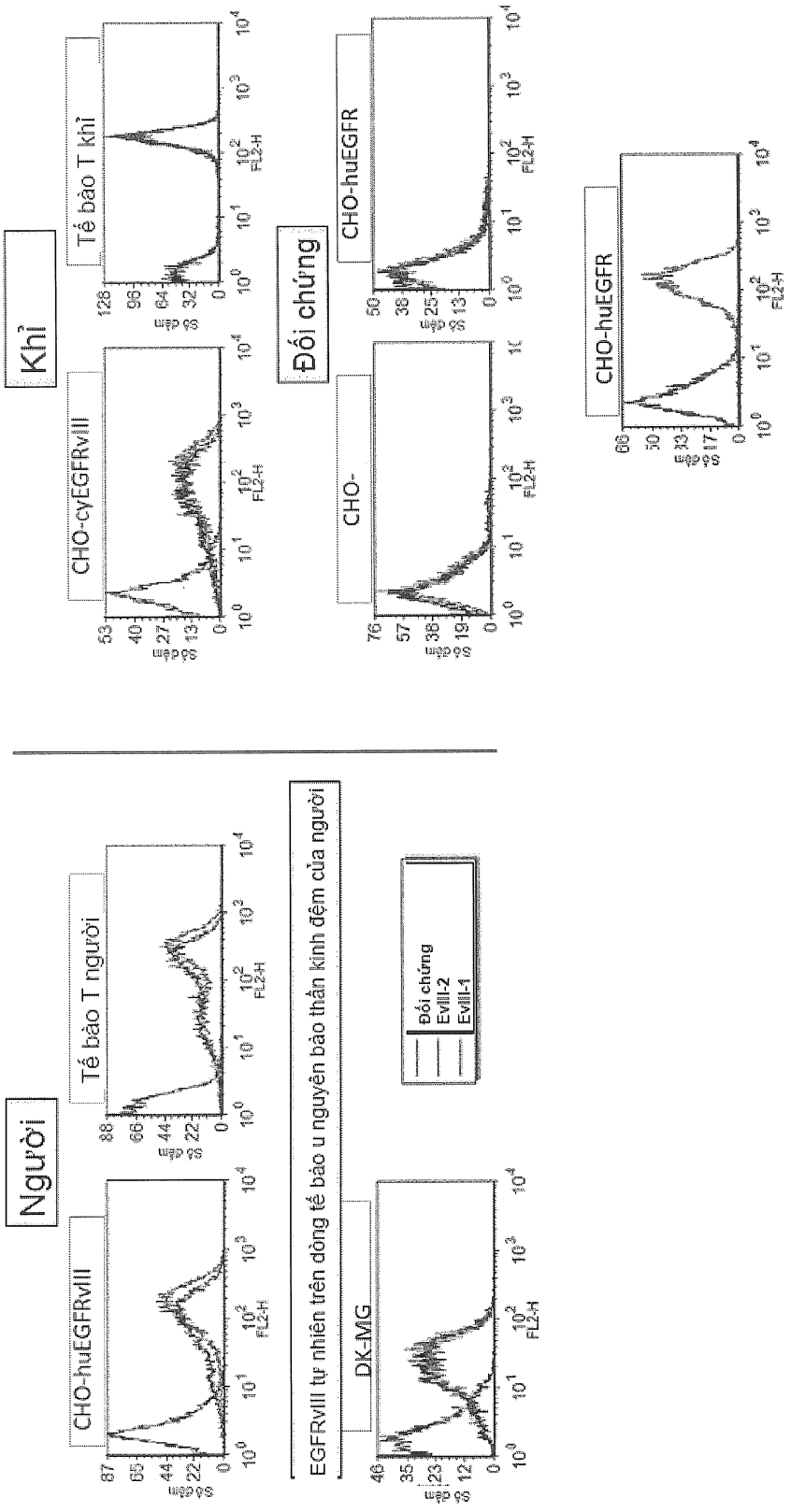

Người
Khỉ
Đối chứng
CHO-huEGFRvIII
Tế bào T người
CHO-cyEGFRvIII
Tế bào T khỉ
CHO-
CHO-huEGFR
DK-MG
Đối chứng
EvIII-2
EvIII-1
Số đếm
FL2-H
EGFRvIII tự nhiên trên dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm của người

Fig.6

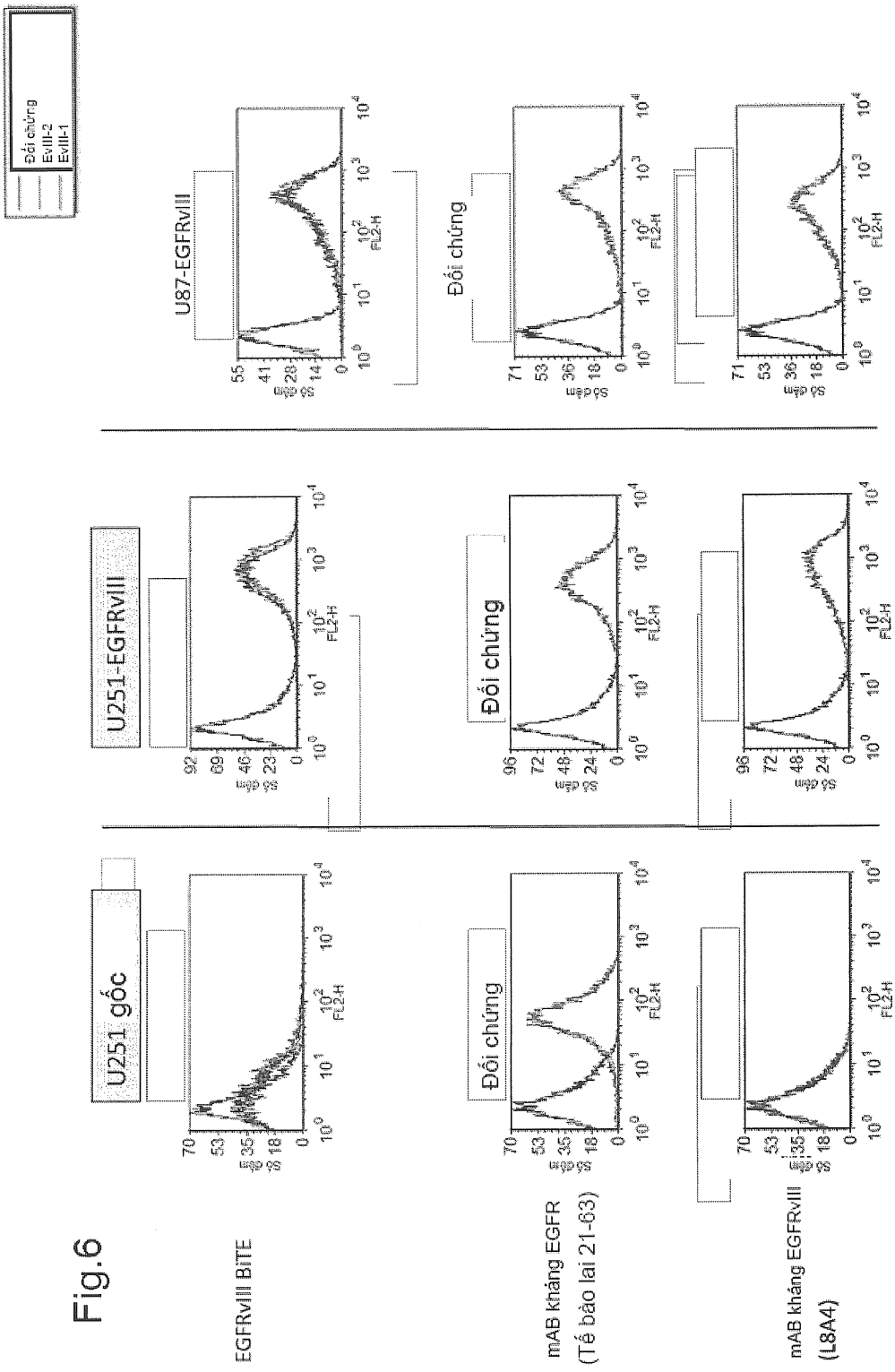
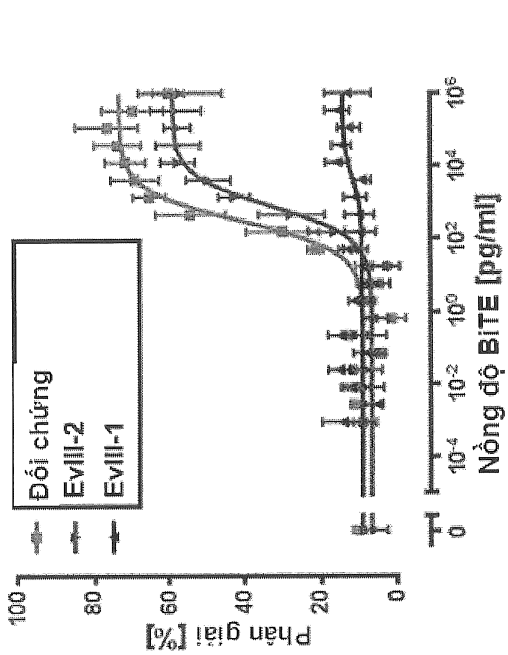
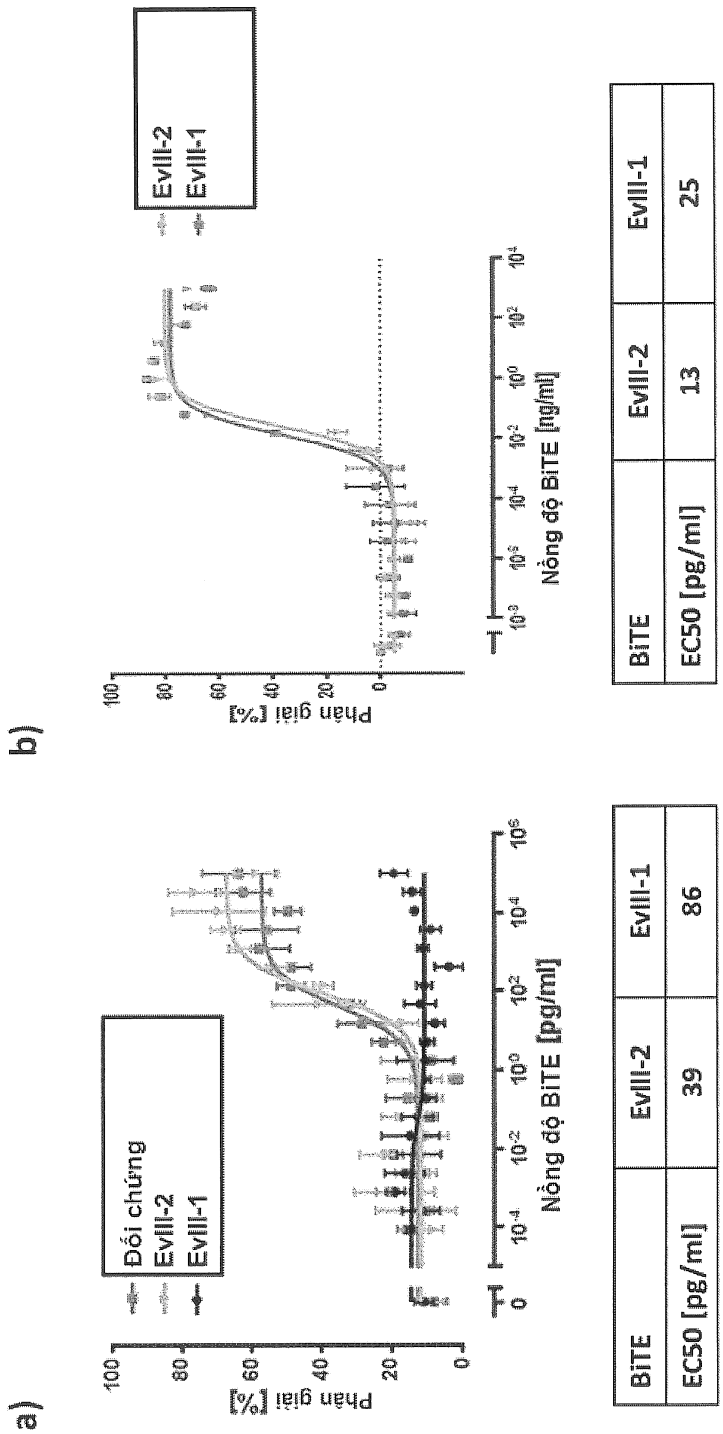

Đối chứng
EvIII-2
EvIII-1
U87-EGFRvIII
U251-EGFRvIII
U251 gốc
Đối chứng
Đối chứng
Đối chứng
Số đếm
FL2-H
EGFRvIII BiTE
mAB kháng EGFR
(Tế bào lai 21-63)
mAB kháng EGFRvIII
(L8A4)

Fig.7



BiTE	EvIII-2	EvIII-1
EC50 [pg/ml]	317	783

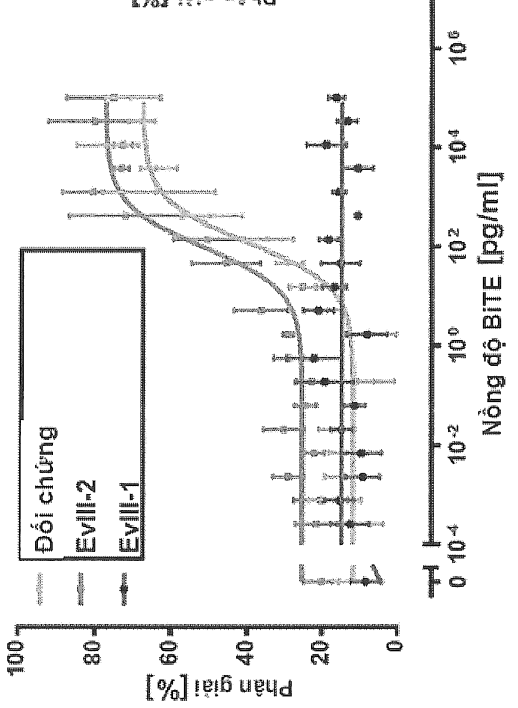
Fig.8



BiTE	EvIII-2	EvIII-1
EC50 [pg/ml]	39	86

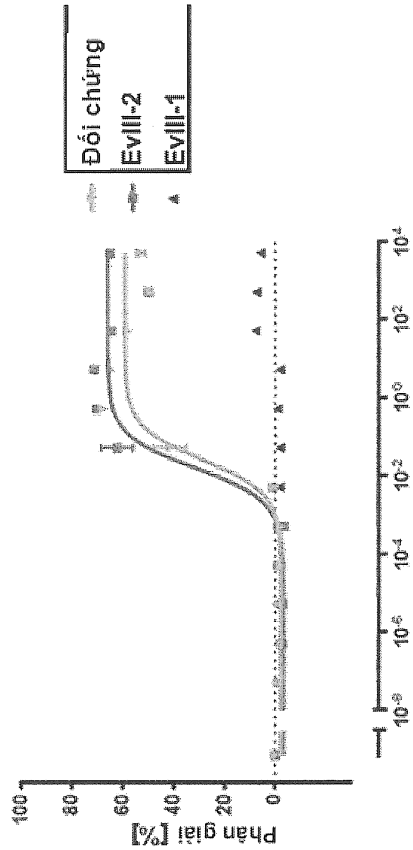
BiTE	EvIII-2	EvIII-1
EC50 [pg/ml]	13	25

Fig.9



BiTE	EvIII-2	EvIII-1
EC50 [pg/ml]	94	117

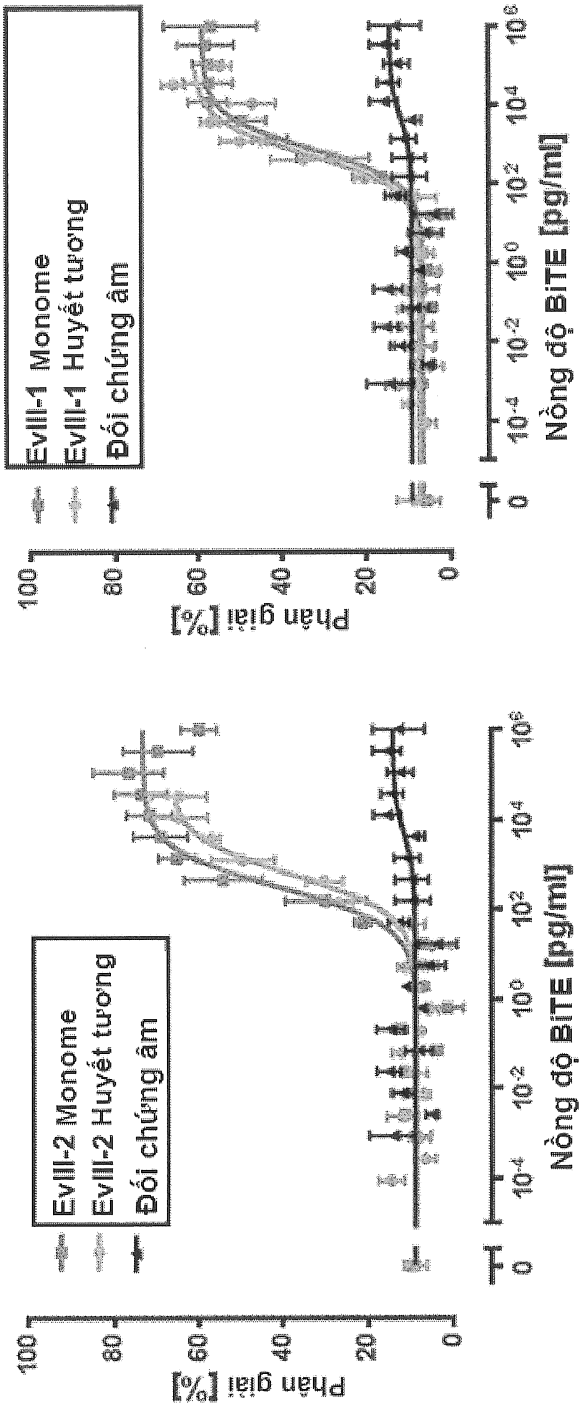
Fig.10



BiTE	EvIII-2	EvIII-1
EC50 [pg/ml]	15	24

8/14

Fig.11



	EC_{50} [pg/mL]		Tỷ lệ huyết tương so với đối chứng
	có huyết tương không có huyết tương		*(EC_{50} của huyết tương/EC_{50} của đối chứng)*
EvIII-2	594	315	1,89
EvIII-1	586	783	0,75

Fig.12

EGFRvIII BiTE	AUC của đỉnh chính [%]
EvIII-2	100
EvIII-1	96,4

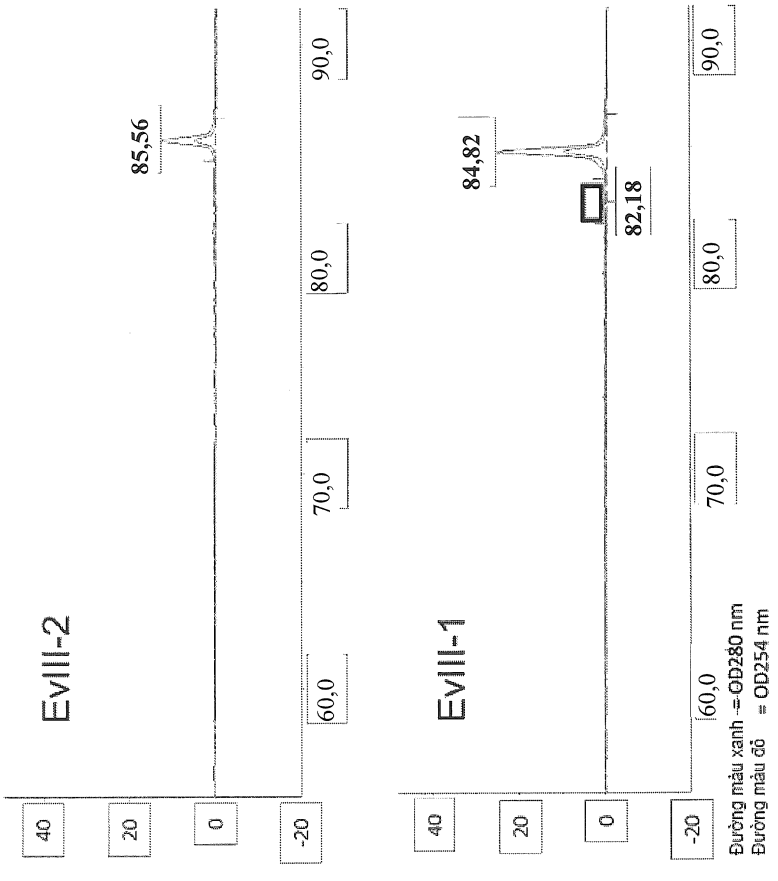


Fig.13

EGFRvIII BiTE	Đặc tính giải hấp đo bằng HIC Octyl
EvIII-2	3
EvIII-1	3

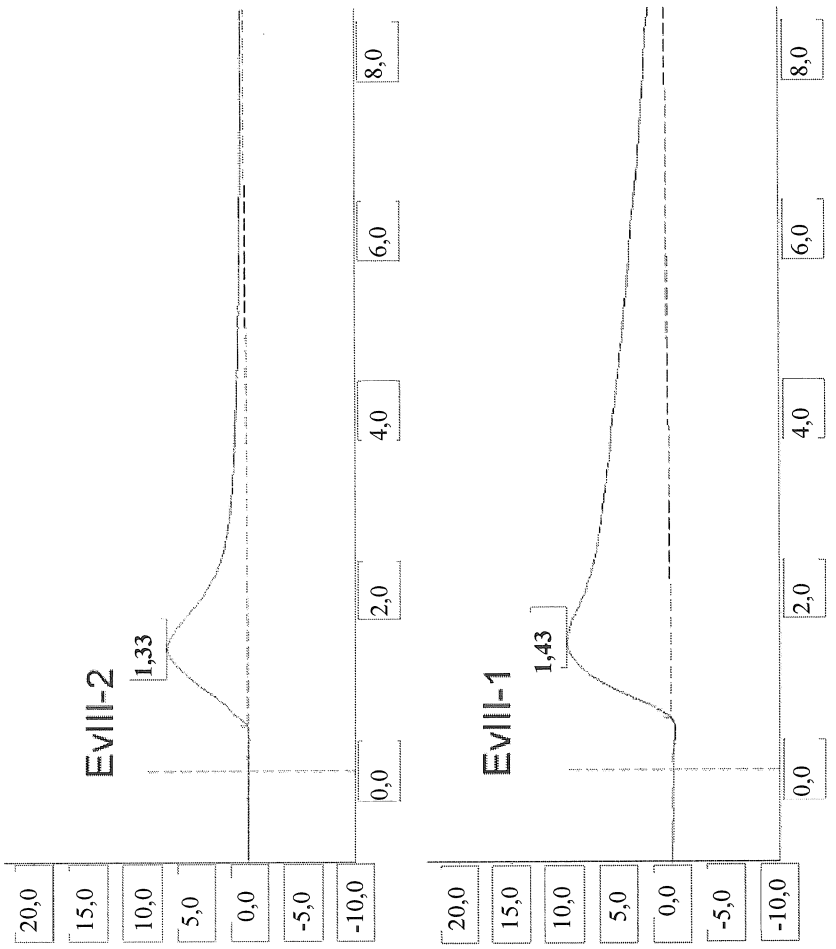


Fig.14

EGFRvIII BiTE	BiTE dime [%]
EvIII-2	1,56
EvIII-1	0,26

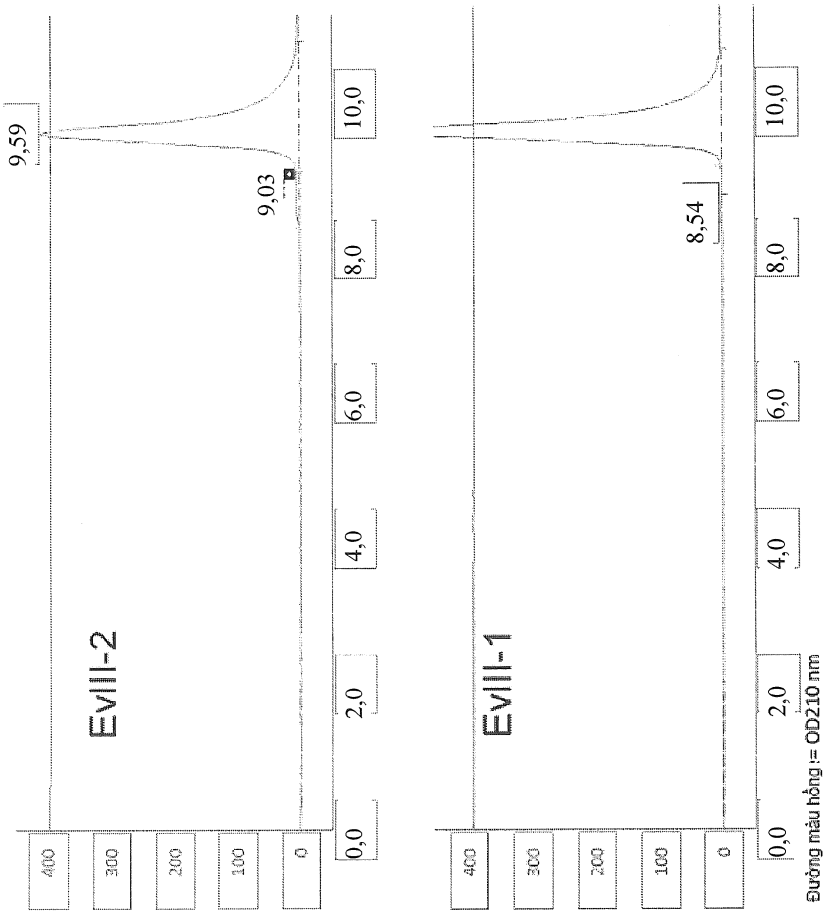
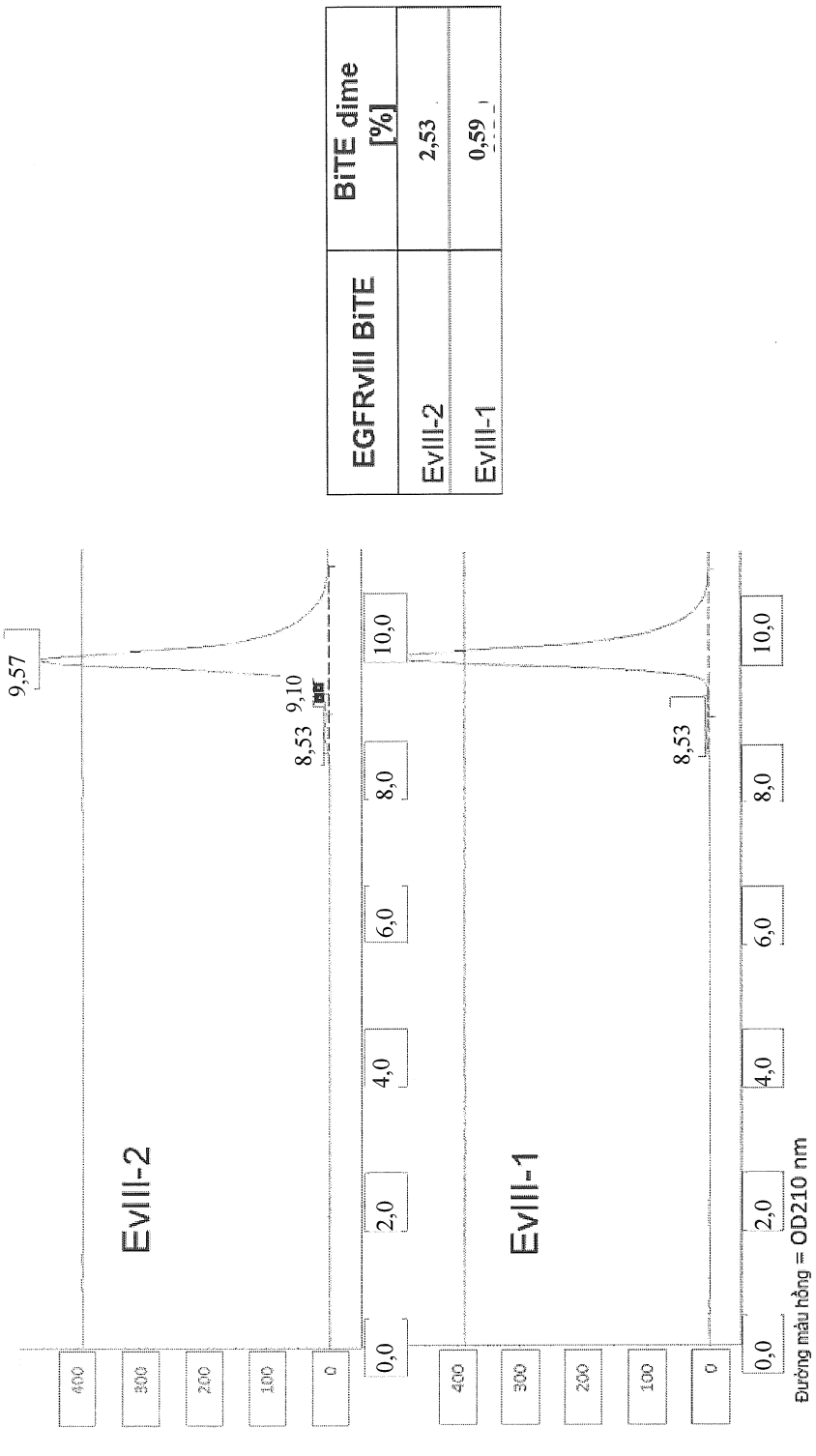
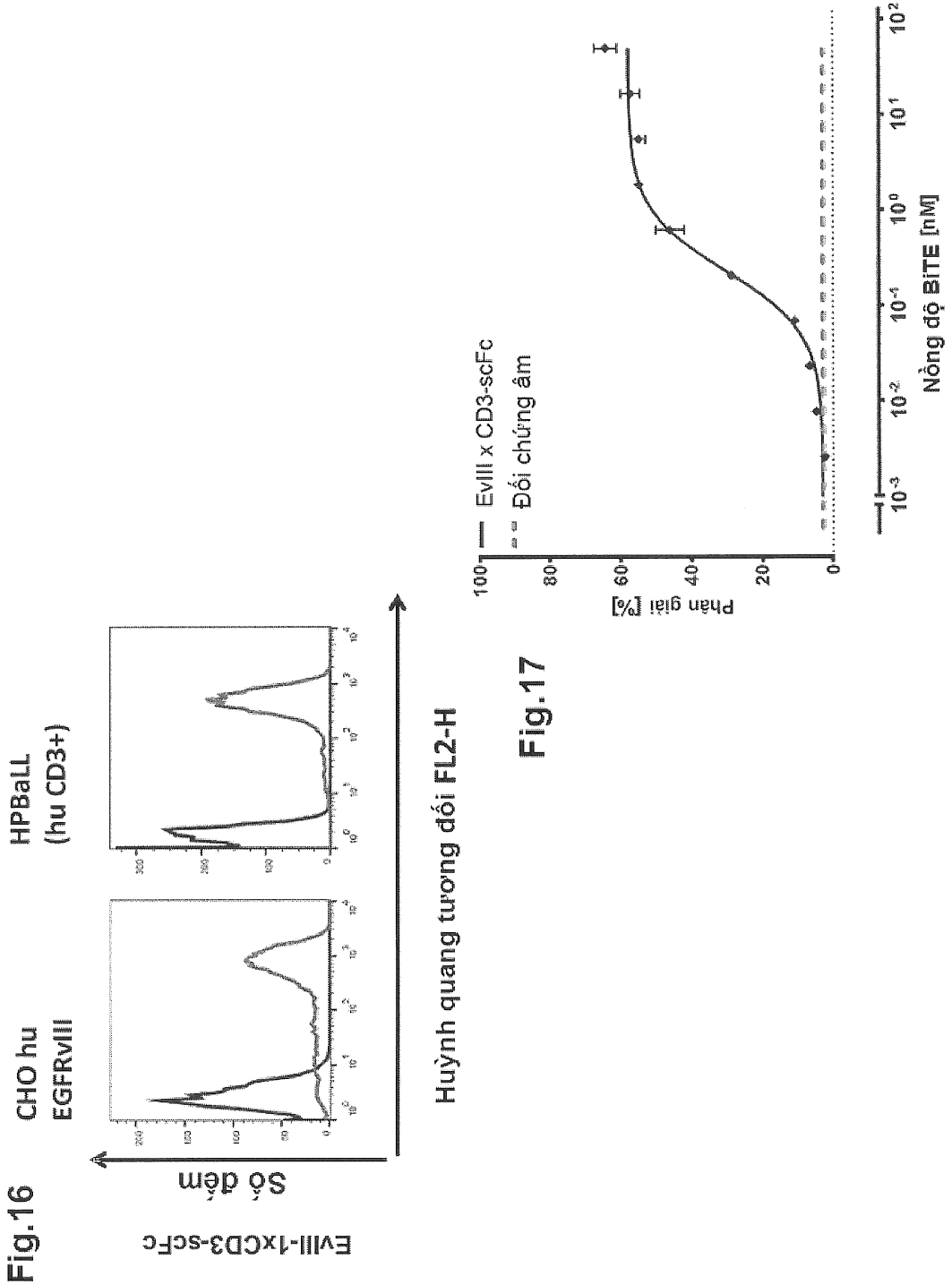


Fig.15


EGFRvIII BiTE
BiTE dime [%]
EvIII-2
2,53
EvIII-1
0,59
EvIII-2
EvIII-1
9,57
9,10
8,53
8,53
400
300
200
100
0
0,0
2,0
4,0
6,0
8,0
10,0
Đường màu hồng = OD210 nm


Fig.16
CHO hu EGFRvIII
HPBaLL (hu CD3+)
EvIII-1xCD3-scFc
Số đếm
Huỳnh quang tương đối FL2-H
Fig.17
EvIII x CD3-scFc
Đối chứng âm
Phần giải [%]
Nồng độ BiTE [nM]

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> AMGEN RESEARCH (MUNICH) GMBH

<120> Cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép liên kết với EGFRvIII và CD3, dược phẩm và quy trình sản xuất cấu trúc kháng thể này

<130> AMG15477PCTVN

<150> US 62/199,945
<151> 31-7-2015

<150> US 62/290861
<151> 03-02-2016

<160> 195

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 1

Gly Gly Gly Gly
1

<210> 2
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 2

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 3
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 3

Gly Gly Gly Gly Gln
1 5

<210> 4
<211> 6
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 4

Pro Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 5
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 5

Pro Gly Gly Asp Gly Ser
1 5

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

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 6

Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 7
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 7

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 8
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 8

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 9
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 9

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 10
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 10

His His His His His His
1 5

<210> 11
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 11

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 12
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 12

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro
1 5

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

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 13

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
1 5

<210> 14
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 14

Ile Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 15
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 15

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Ser

<210> 16
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 16

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Phe Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 17
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 17

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ile Tyr

```
            20                  25                  30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
    50                  55                  60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Phe Phe
            100                 105                 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 18
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 18

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

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

Tyr Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65                  70                  75                  80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 19
<211> 249
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 19

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ile Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
    50                  55                  60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Phe Phe
            100                 105                 110

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

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
    130                 135                 140

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145                 150                 155                 160

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn
                165                 170                 175

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
            180                 185                 190

Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
        195                 200                 205

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225                 230                 235                 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
                245
```

<210> 20
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 20

```
Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn
1               5                  10
```

<210> 21
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 21

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro
1 5

<210> 22
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 22

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
1 5

<210> 23
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 23

Lys Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 24
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 24

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 25
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp

<400> 25

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr
1 5 10

<210> 26
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 26

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 27
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 27

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

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

Tyr Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 28
<211> 249
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 28

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
100 105 110

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

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn
165 170 175

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
180 185 190

Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp

210 215 220

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 29
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 29

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 30
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 30

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro
1 5

<210> 31
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 31

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
1 5

<210> 32
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 32

Ser Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 33

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

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 33

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 34
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 34

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Leu Ser Phe Trp Ala Tyr
1 5 10

<210> 35
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 35

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Leu Ser Phe Trp
100 105 110

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

<210> 36
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 36

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

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

Tyr Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 37
<211> 249
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 37

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Leu Ser Phe Trp

```
            100                 105                 110

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

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
    130                 135                 140

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145                 150                 155                 160

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn
                165                 170                 175

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
            180                 185                 190

Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
        195                 200                 205

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225                 230                 235                 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
                245
```

<210> 38
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 38

```
Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn
1               5                   10
```

<210> 39
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 39

```
Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro
1               5
```

<210> 40
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp

<400> 40

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
1 5

<210> 41
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 41

Arg Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 42
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 42

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 43
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 43

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Leu Ser Tyr Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 44
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 44

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Leu Ser Tyr Phe
100 105 110

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

<210> 45
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 45

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

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

Tyr Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 46
<211> 249
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 46

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Leu Ser Tyr Phe
100 105 110

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

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn
165 170 175

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
180 185 190

Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
210 215 220

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 47
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 47

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn

1 5 10

<210> 48
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 48

Ala Thr Asp Met Arg Pro Ser
1 5

<210> 49
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 49

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
1 5

<210> 50
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 50

Val Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 51
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 51

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Lys

<210> 52
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 52

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Leu Ser Trp Trp Ala Tyr
1 5 10

<210> 53
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 53

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Val Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Leu Ser Trp Trp
100 105 110

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

<210> 54
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 54

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Ala Thr Asp Met Arg Pro Ser Gly Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 55
<211> 249
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 55

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Val Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Leu Ser Trp Trp
100 105 110

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

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn
165 170 175

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Ala
180 185 190

Thr Asp Met Arg Pro Ser Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
210 215 220

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 56
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 56

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 57
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 57

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro
1 5

<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 58

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
1 5

<210> 59
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 59

Lys Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 60
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 60

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Ser

<210> 61
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 61

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Thr Ser Tyr Tyr Ala Tyr
1 5 10

<210> 62
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 62

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Thr Ser Tyr Tyr
100 105 110

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

<210> 63
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 63

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

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

Tyr Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 64
<211> 249
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 64

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

```
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Thr Ser Tyr Tyr
            100                 105                 110

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

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
    130                 135                 140

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145                 150                 155                 160

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn
                165                 170                 175

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
            180                 185                 190

Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
        195                 200                 205

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225                 230                 235                 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
                245
```

<210> 65
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 65

```
Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn
1               5                   10
```

<210> 66
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 66

```
Ala Thr Asp Met Arg Pro Ser
1               5
```

<210> 67
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 67

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
1 5

<210> 68
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 68

Gly Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 69
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 69

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Glu

<210> 70
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 70

His Arg Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Leu Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 71
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 71

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Gly Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
    50                  55                  60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Val Arg His Arg Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Leu Ser Trp Phe
            100                 105                 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 72
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 72

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
            20                  25                  30

Tyr Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Ala Thr Asp Met Arg Pro Ser Gly Thr Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65                  70                  75                  80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 73
<211> 249
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp

<400> 73

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Gly Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Arg Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Leu Ser Trp Phe
100 105 110

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

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn
165 170 175

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Ala
180 185 190

Thr Asp Met Arg Pro Ser Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
210 215 220

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 74
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 74

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 75
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 75

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro
1 5

<210> 76
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 76

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
1 5

<210> 77
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 77

Val Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 78
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 78

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Lys

<210> 79
<211> 14

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 79

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Trp Trp Ala Tyr
1 5 10

<210> 80
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 80

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Val Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Trp Trp
100 105 110

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

<210> 81
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 81

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

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

Tyr Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 82
<211> 249
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 82

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Val Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Trp Trp
100 105 110

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

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Tyr Tyr Pro Asn
165 170 175

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
180 185 190

Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
210 215 220

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 83
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 83

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 84
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 84

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro
1 5

<210> 85
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 85

Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
1 5

<210> 86
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 86

Ser Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 87
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 87

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 88
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 88

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Trp Ala Tyr
1 5 10

<210> 89
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 89

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Trp

100 105 110

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

<210> 90
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 90

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

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

Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 91
<211> 249
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 91

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

```
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Trp
            100                 105                 110

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

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
    130                 135                 140

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145                 150                 155                 160

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
                165                 170                 175

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
            180                 185                 190

Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
        195                 200                 205

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
    210                 215                 220

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225                 230                 235                 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
                245
```

<210> 92
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 92

```
Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
1               5                   10
```

<210> 93
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 93

```
Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro
1               5
```

<210> 94
<211> 9

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 94

Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
1 5

<210> 95
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 95

Lys Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 96
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 96

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 97
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 97

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr
1 5 10

<210> 98
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 98

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 99
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 99

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

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

Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 100
<211> 249
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 100

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
100 105 110

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

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
165 170 175

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
180 185 190

Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
210 215 220

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 101
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 101

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Trp
100 105 110

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

<210> 102
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 102

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

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

Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 103
<211> 249
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 103

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Trp
100 105 110

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

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
165 170 175

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
180 185 190

Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
210 215 220

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 104
<211> 585
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 104

```
Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1               5                  10                  15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
            20                  25                  30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
        35                  40                  45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
    50                  55                  60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65                  70                  75                  80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320
```

```
Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
        435                 440                 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
    450                 455                 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465                 470                 475                 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
                485                 490                 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
            500                 505                 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
        515                 520                 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
    530                 535                 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545                 550                 555                 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
                565                 570                 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
            580                 585
```

<210> 105
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 105

```
Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1               5                  10                  15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
            20                  25                  30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
        35                  40                  45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
    50                  55                  60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65                  70                  75                  80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
```

325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Gly Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Ala Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 106
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 106

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu

```
1               5                  10                  15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
            20                  25                  30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
        35                  40                  45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
    50                  55                  60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65                  70                  75                  80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335
```

```
Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
        435                 440                 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
    450                 455                 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465                 470                 475                 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
                485                 490                 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
            500                 505                 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
        515                 520                 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
    530                 535                 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545                 550                 555                 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro Lys Leu Val
                565                 570                 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
            580                 585
```

<210> 107
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 107

```
Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1               5                   10                  15
```

```
Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
            20                  25                  30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
        35                  40                  45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
    50                  55                  60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65                  70                  75                  80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335
```

```
Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
        435                 440                 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
    450                 455                 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465                 470                 475                 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Asp Val Asp Glu Thr
                485                 490                 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
            500                 505                 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
        515                 520                 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
    530                 535                 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545                 550                 555                 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro His Leu Val
                565                 570                 575

Ala Ala Ser Lys Ala Ala Leu Gly Leu
            580                 585
```

<210> 108
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 108

```
Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1               5                   10                  15
```

```
Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
            20                  25                  30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
        35                  40                  45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
    50                  55                  60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65                  70                  75                  80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
```

```
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
        435                 440                 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
    450                 455                 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465                 470                 475                 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Gly Val Asp Glu Thr
                485                 490                 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
            500                 505                 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
        515                 520                 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
    530                 535                 540

Lys Ala Val Met Asp Lys Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545                 550                 555                 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro Lys Leu Val
                565                 570                 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
            580                 585

<210>  109
<211>  585
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo

<220>
<223>  Peptit tổng hợp

<400>  109

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1               5                   10                  15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
```

```
            20                  25                  30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
        35                  40                  45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
    50                  55                  60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65                  70                  75                  80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350
```

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Asp Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Lys Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 110
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 110

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

```
Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
        35                  40                  45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
    50                  55                  60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65                  70                  75                  80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350
```

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Lys Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro His Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 111
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 111

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

```
Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
        35                  40                  45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
    50                  55                  60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65                  70                  75                  80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
```

```
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
        435                 440                 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
    450                 455                 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465                 470                 475                 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
                485                 490                 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
            500                 505                 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
        515                 520                 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
    530                 535                 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545                 550                 555                 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro His Leu Val
                565                 570                 575

Ala Ala Ser Lys Ala Ala Leu Gly Leu
            580                 585
```

<210> 112
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 112

```
Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1               5                   10                  15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
            20                  25                  30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
```

```
        35                  40                  45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
    50                  55                  60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65                  70                  75                  80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365
```

```
Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
        435                 440                 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
    450                 455                 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465                 470                 475                 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
                485                 490                 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
            500                 505                 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
        515                 520                 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
    530                 535                 540

Lys Ala Val Met Asp Lys Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545                 550                 555                 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro Lys Leu Val
                565                 570                 575

Ala Ala Ser Lys Ala Ala Leu Gly Leu
            580                 585
```

<210> 113
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 113

```
Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1               5                   10                  15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
            20                  25                  30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
        35                  40                  45
```

```
Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
    50                  55                  60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65                  70                  75                  80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365
```

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Asp Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Lys Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 114
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 114

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

```
Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
    50                  55                  60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65                  70                  75                  80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
```

```
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
        435                 440                 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
    450                 455                 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465                 470                 475                 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
                485                 490                 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
            500                 505                 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
        515                 520                 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
    530                 535                 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545                 550                 555                 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
                565                 570                 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
            580                 585
```

<210> 115
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 115

```
Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1               5                   10                  15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
            20                  25                  30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
        35                  40                  45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
```

```
    50                  55                  60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65                  70                  75                  80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380
```

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Gly Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Ala Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 116
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 116

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

```
Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65                  70                  75                  80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380
```

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 117
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 117

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu

385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Asp Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro His Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Lys Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 118
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 118

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
195 200 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
210 215 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225 230 235 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
245 250 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
260 265 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
275 280 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
290 295 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305 310 315 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
325 330 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
340 345 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
355 360 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

```
Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
        435                 440                 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
    450                 455                 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465                 470                 475                 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Gly Val Asp Glu Thr
                485                 490                 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
            500                 505                 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
        515                 520                 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
    530                 535                 540

Lys Ala Val Met Asp Lys Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545                 550                 555                 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro Lys Leu Val
                565                 570                 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
            580                 585
```

<210> 119
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 119

```
Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1               5                   10                  15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
            20                  25                  30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
        35                  40                  45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
    50                  55                  60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65                  70                  75                  80
```

```
Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400
```

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Asp Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Lys Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 120
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 120

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

```
Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
```

405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Lys Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro His Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 121
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 121

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

```
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415
```

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro His Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Lys Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 122
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 122

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

```
Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415
```

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Lys Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Lys Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 123
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 123

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

```
Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
```

420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Asp Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Lys Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 124
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 124

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

```
                100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430
```

```
Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
        435                 440                 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
    450                 455                 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465                 470                 475                 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
                485                 490                 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
            500                 505                 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
        515                 520                 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
    530                 535                 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545                 550                 555                 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
                565                 570                 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
            580                 585
```

<210> 125
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 125

```
Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1               5                   10                  15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
            20                  25                  30

Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
        35                  40                  45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
    50                  55                  60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65                  70                  75                  80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110
```

```
Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430
```

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Gly Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Ala Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 126
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 126

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

```
Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
```

435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 127
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 127

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

```
        115                 120                 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
        435                 440                 445
```

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Asp Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro His Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Lys Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 128
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 128

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

```
Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
        435                 440                 445
```

```
Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
    450                 455                 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465                 470                 475                 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Gly Val Asp Glu Thr
                485                 490                 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
            500                 505                 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
        515                 520                 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
    530                 535                 540

Lys Ala Val Met Asp Lys Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545                 550                 555                 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro Lys Leu Val
                565                 570                 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
            580                 585
```

<210> 129
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 129

```
Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1               5                   10                  15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
            20                  25                  30

Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
        35                  40                  45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
    50                  55                  60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65                  70                  75                  80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
                85                  90                  95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
            100                 105                 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
        115                 120                 125
```

```
Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
        435                 440                 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
```

450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Asp Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Lys Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 130
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 130

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

```
    130                 135                 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
        435                 440                 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
    450                 455                 460
```

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Lys Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro His Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 131
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 131

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

```
Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
        435                 440                 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
    450                 455                 460
```

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro His Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Lys Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 132
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 132

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

```
Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
        435                 440                 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
    450                 455                 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
```

465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Lys Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Lys Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 133
<211> 585
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 133

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

```
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
                165                 170                 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
            180                 185                 190

Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
        195                 200                 205

Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
    210                 215                 220

Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
225                 230                 235                 240

Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
                245                 250                 255

Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
            260                 265                 270

Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
        275                 280                 285

Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
    290                 295                 300

Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
                325                 330                 335

Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
            340                 345                 350

Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
        355                 360                 365

Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
    370                 375                 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
                405                 410                 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
            420                 425                 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
        435                 440                 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
    450                 455                 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465                 470                 475                 480
```

```
Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Asp Val Asp Glu Thr
                485                 490                 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
            500                 505                 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
        515                 520                 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
    530                 535                 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545                 550                 555                 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Pro Lys Leu Val
                565                 570                 575

Ala Ala Ser Lys Ala Ala Leu Gly Leu
            580                 585
```

<210> 134
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 134

```
Arg Asp Trp Asp Phe Asp Val Phe Gly Gly Gly Thr Pro Val Gly Gly
1               5                   10                  15
```

<210> 135
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<220>
<221> đặc điểm khác
<222> (12)..(12)
<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ có trong tự nhiên

<400> 135

```
Gln Arg Phe Val Thr Gly His Phe Gly Gly Leu Xaa Pro Ala Asn Gly
1               5                   10                  15
```

<210> 136
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 136

Gln Arg Phe Val Thr Gly His Phe Gly Gly Leu Tyr Pro Ala Asn Gly
1 5 10 15

<210> 137
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 137

Gln Arg Phe Val Thr Gly His Phe Gly Gly Leu His Pro Ala Asn Gly
1 5 10 15

<210> 138
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 138

Thr Gly His Phe Gly Gly Leu His Pro
1 5

<210> 139
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 139

Gln Arg Phe Cys Thr Gly His Phe Gly Gly Leu His Pro Cys Asn Gly
1 5 10 15

<210> 140
<211> 330
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 140

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 Cys Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys 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 Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met 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 Asp Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Asp 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> 141
<211> 333
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 141

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

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

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
100 105 110

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
115 120 125

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
130 135 140

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
145 150 155 160

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
165 170 175

Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu
180 185 190

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
195 200 205

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
210 215 220

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
225 230 235 240

Arg Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
245 250 255

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
260 265 270

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Lys Ser Asp Gly
275 280 285

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
290 295 300

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
305 310 315 320

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 142
<211> 330
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 142

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala 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 Glu Glu
225 230 235 240

Met 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 Asp Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Asp 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> 143
<211> 338
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 143

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

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

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp
100 105 110

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
130 135 140

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
145 150 155 160

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
165 170 175

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
180 185 190

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
195 200 205

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
210 215 220

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
225 230 235 240

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
245 250 255

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
260 265 270

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
275 280 285

Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
290 295 300

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
305 310 315 320

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325 330 335

Gly Lys

<210> 144
<211> 227
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 144

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 145
<211> 227
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 145

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asp Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asp Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 146
<211> 232
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 146

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln
65 70 75 80

Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Met Thr
130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 147
<211> 232
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 147

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln
65 70 75 80

Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
165 170 175

Asp Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190

Ser Asp Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 148
<211> 232
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 148

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Met Thr
130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 149
<211> 232
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 149

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
165 170 175

Asp Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190

Ser Asp Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 150
<211> 217

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 150

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Thr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Asp Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Asp Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 151
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 151

Asn Tyr Gly Met His

1 5

<210> 152
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 152

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Arg
1 5 10 15

Gly

<210> 153
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 153

Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 154
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 154

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser
1 5 10 15

<210> 155
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 155

Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser
1 5

<210> 156
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 156

Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg Thr
1 5

<210> 157
<211> 124
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 157

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

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

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 158
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 158

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro
35 40 45

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Arg Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 159
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 159

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

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

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Val Met Thr
130 135 140

Gln Thr Pro Leu Ser Ser His Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile
145 150 155 160

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
165 170 175

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile
180 185 190

Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile Ser Arg Val Glu Ala
210 215 220

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg
225 230 235 240

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245 250

<210> 160
<211> 506
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 160

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

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

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Val Met Thr
130 135 140

Gln Thr Pro Leu Ser Ser His Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile
145 150 155 160

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
165 170 175

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile
180 185 190

Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile Ser Arg Val Glu Ala
210 215 220

```
Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg
225                 230                 235                 240

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly
                245                 250                 255

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
            260                 265                 270

Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys
        275                 280                 285

Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
    290                 295                 300

Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
                325                 330                 335

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
            340                 345                 350

Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
        355                 360                 365

Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
    370                 375                 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val
385                 390                 395                 400

Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr
                405                 410                 415

Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro
            420                 425                 430

Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly
        435                 440                 445

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
    450                 455                 460

Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu
465                 470                 475                 480

Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
                485                 490                 495

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            500                 505

<210>  161
<211>  5
<212>  PRT
<213>  Trình tự nhân tạo

<220>
```

<223> Peptit tổng hợp

<400> 161

Asn Tyr Gly Met His
1 5

<210> 162
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 162

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Arg
1 5 10 15

Gly

<210> 163
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 163

Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 164
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 164

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser
1 5 10 15

<210> 165
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 165

Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser
1 5

<210> 166
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 166

Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg Thr
1 5

<210> 167
<211> 124
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 167

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr
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 Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 168
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 168

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro
35 40 45

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 169
<211> 251
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 169

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr
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 Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Val Met Thr
130 135 140

Gln Thr Pro Leu Ser Ser His Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile
145 150 155 160

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
165 170 175

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile
180 185 190

Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile Ser Arg Val Glu Ala
210 215 220

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg
225 230 235 240

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245 250

<210> 170
<211> 506
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 170

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr
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 Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Val Met Thr
130 135 140

Gln Thr Pro Leu Ser Ser His Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile
145 150 155 160

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
165 170 175

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile
180 185 190

```
Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
        195                 200                 205

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile Ser Arg Val Glu Ala
    210                 215                 220

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg
225                 230                 235                 240

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly
                245                 250                 255

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
            260                 265                 270

Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys
        275                 280                 285

Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
    290                 295                 300

Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
                325                 330                 335

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
            340                 345                 350

Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
        355                 360                 365

Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
    370                 375                 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val
385                 390                 395                 400

Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr
                405                 410                 415

Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro
            420                 425                 430

Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly
        435                 440                 445

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
    450                 455                 460

Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu
465                 470                 475                 480

Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
                485                 490                 495

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            500                 505
```

<210> 171

<211> 919
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 171

Leu Glu Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Val Val Thr Asp His Gly Ser Cys
1 5 10 15

Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu Asp Gly Val
20 25 30

Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val Cys Asn Gly
35 40 45

Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn Ala Thr Asn
50 55 60

Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp Leu His Ile
65 70 75 80

Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr Pro Pro Leu
85 90 95

Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu Ile Thr Gly
100 105 110

Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp Leu His Ala
115 120 125

Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln His Gly Gln
130 135 140

Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu Gly Leu Arg
145 150 155 160

Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser Gly Asn Lys
165 170 175

Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu Phe Gly Thr
180 185 190

Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu Asn Ser Cys
195 200 205

Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro Glu Gly Cys
210 215 220

Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn Val Ser Arg
225 230 235 240

Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly Glu Pro Arg
245 250 255

Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro Glu Cys Leu
260 265 270

Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro Asp Asn Cys
275 280 285

Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val Lys Thr Cys

290 295 300

Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp Lys Tyr Ala
305 310 315 320

Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys Thr Tyr Gly
325 330 335

Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly Pro Lys Ile
340 345 350

Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly Ala Leu Leu Leu Leu Leu Val
355 360 365

Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met Arg Arg Arg His Ile Val Arg
370 375 380

Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln Glu Arg Glu Leu Val Glu Pro
385 390 395 400

Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn Gln Ala Leu Leu Arg Ile Leu
405 410 415

Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe
420 425 430

Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp Ile Pro Glu Gly Glu Lys Val Lys
435 440 445

Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Arg Glu Ala Thr Ser Pro Lys Ala
450 455 460

Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Ser Val Asp Asn
465 470 475 480

Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser Thr Val Gln
485 490 495

Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Phe Gly Cys Leu Leu Asp Tyr Val Arg
500 505 510

Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser Gln Tyr Leu Leu Asn Trp Cys Val
515 520 525

Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr Leu Glu Asp Arg Arg Leu Val His
530 535 540

Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Lys Thr Pro Gln His Val
545 550 555 560

Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu Gly Ala Glu Glu Lys
565 570 575

Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp Met Ala Leu
580 585 590

Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser
595 600 605

Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ser Lys Pro Tyr
610 615 620

```
Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile Ser Ser Ile Leu Glu Lys Gly Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr Met Ile Met
                645                 650                 655

Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Asp Ser Arg Pro Lys Phe Arg Glu
            660                 665                 670

Leu Ile Ile Glu Phe Ser Lys Met Ala Arg Asp Pro Gln Arg Tyr Leu
        675                 680                 685

Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met His Leu Pro Ser Pro Thr Asp Ser
    690                 695                 700

Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp Glu Glu Asp Met Asp Asp Val Val
705                 710                 715                 720

Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Ile Pro Gln Gln Gly Phe Phe Ser Ser Pro
                725                 730                 735

Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu Ser Ser Leu Ser Ala Thr Ser Asn
            740                 745                 750

Asn Ser Thr Val Ala Cys Ile Asp Arg Asn Gly Leu Gln Ser Cys Pro
        755                 760                 765

Ile Lys Glu Asp Ser Phe Leu Gln Arg Tyr Ser Ser Asp Pro Thr Gly
    770                 775                 780

Ala Leu Thr Glu Asp Ser Ile Asp Asp Thr Phe Leu Pro Val Pro Glu
785                 790                 795                 800

Tyr Ile Asn Gln Ser Val Pro Lys Arg Pro Ala Gly Ser Val Gln Asn
                805                 810                 815

Pro Val Tyr His Asn Gln Pro Leu Asn Pro Ala Pro Ser Arg Asp Pro
            820                 825                 830

His Tyr Gln Asp Pro His Ser Thr Ala Val Gly Asn Pro Glu Tyr Leu
        835                 840                 845

Asn Thr Val Gln Pro Thr Cys Val Asn Ser Thr Phe Asp Ser Pro Ala
    850                 855                 860

His Trp Ala Gln Lys Gly Ser His Gln Ile Ser Leu Asp Asn Pro Asp
865                 870                 875                 880

Tyr Gln Gln Asp Phe Phe Pro Lys Glu Ala Lys Pro Asn Gly Ile Phe
                885                 890                 895

Lys Gly Ser Thr Ala Glu Asn Ala Glu Tyr Leu Arg Val Ala Pro Gln
            900                 905                 910

Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala
        915

<210>  172
<211>  919
<212>  PRT
```

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Peptit tổng hợp

<400> 172

Leu Glu Glu Lys Lys Gly Asn Tyr Val Val Thr Asp His Gly Ser Cys
1 5 10 15

Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu Asp Gly Val
20 25 30

Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val Cys Asn Gly
35 40 45

Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Thr Leu Ser Ile Asn Ala Thr Asn
50 55 60

Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp Leu His Ile
65 70 75 80

Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr Pro Pro Leu
85 90 95

Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu Ile Thr Gly
100 105 110

Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp Leu His Ala
115 120 125

Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln His Gly Gln
130 135 140

Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu Gly Leu Arg
145 150 155 160

Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser Gly Asn Lys
165 170 175

Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu Phe Gly Thr
180 185 190

Ser Ser Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu Asn Ser Cys
195 200 205

Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro Glu Gly Cys
210 215 220

Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Gln Asn Val Ser Arg
225 230 235 240

Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Ile Leu Glu Gly Glu Pro Arg
245 250 255

Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro Glu Cys Leu
260 265 270

Pro Gln Val Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro Asp Asn Cys
275 280 285

Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val Lys Thr Cys
290 295 300

Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp Lys Tyr Ala
305 310 315 320

Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys Thr Tyr Gly
325 330 335

Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Ala Arg Asn Gly Pro Lys Ile
340 345 350

Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Leu Gly Ala Leu Leu Leu Leu Leu Val
355 360 365

Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met Arg Arg Arg His Ile Val Arg
370 375 380

Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln Glu Arg Glu Leu Val Glu Pro
385 390 395 400

Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn Gln Ala Leu Leu Arg Ile Leu
405 410 415

Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu Gly Ser Gly Ala Phe
420 425 430

Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp Ile Pro Glu Gly Glu Lys Val Lys
435 440 445

Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Arg Glu Ala Thr Ser Pro Lys Ala
450 455 460

Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Ser Val Asp Asn
465 470 475 480

Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser Thr Val Gln
485 490 495

Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Phe Gly Cys Leu Leu Asp Tyr Val Arg
500 505 510

Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser Gln Tyr Leu Leu Asn Trp Cys Val
515 520 525

Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr Leu Glu Asp Arg Arg Leu Val His
530 535 540

Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Lys Thr Pro Gln His Val
545 550 555 560

Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu Gly Ala Glu Glu Lys
565 570 575

Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp Met Ala Leu
580 585 590

Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser
595 600 605

Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ser Lys Pro Tyr

```
    610                 615                 620

Asp Gly Ile Pro Ala Ser Glu Ile Ser Ser Ile Leu Glu Lys Gly Glu
625                 630                 635                 640

Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr Met Ile Met
                645                 650                 655

Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Asp Ser Arg Pro Lys Phe Arg Glu
            660                 665                 670

Leu Ile Ile Glu Phe Ser Lys Met Ala Arg Asp Pro Gln Arg Tyr Leu
        675                 680                 685

Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met His Leu Pro Ser Pro Thr Asp Ser
    690                 695                 700

Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp Glu Glu Asp Met Asp Asp Val Val
705                 710                 715                 720

Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Ile Pro Gln Gln Gly Phe Phe Ser Ser Pro
                725                 730                 735

Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu Ser Ser Leu Ser Ala Thr Ser Asn
            740                 745                 750

Asn Ser Thr Val Ala Cys Ile Asp Arg Asn Gly Leu Gln Ser Cys Pro
        755                 760                 765

Ile Lys Glu Asp Ser Phe Leu Gln Arg Tyr Ser Ser Asp Pro Thr Gly
    770                 775                 780

Ala Leu Thr Glu Asp Ser Ile Asp Asp Thr Phe Leu Pro Val Pro Glu
785                 790                 795                 800

Tyr Ile Asn Gln Ser Val Pro Lys Arg Pro Ala Gly Ser Val Gln Asn
                805                 810                 815

Pro Val Tyr His Asn Gln Pro Leu Asn Pro Ala Pro Ser Arg Asp Pro
            820                 825                 830

His Tyr Gln Asp Pro His Ser Thr Ala Val Gly Asn Pro Glu Tyr Leu
        835                 840                 845

Asn Thr Val Gln Pro Thr Cys Val Asn Ser Thr Phe Asp Ser Pro Ala
    850                 855                 860

His Trp Ala Gln Lys Gly Ser His Gln Ile Ser Leu Asp Asn Pro Asp
865                 870                 875                 880

Tyr Gln Gln Asp Phe Phe Pro Lys Glu Ala Lys Pro Asn Gly Ile Phe
                885                 890                 895

Lys Gly Ser Thr Ala Glu Asn Ala Glu Tyr Leu Arg Val Ala Pro Gln
            900                 905                 910

Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala
        915

<210>  173
<211>  227
```

<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> Fc monome-1

<400> 173

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 174
<211> 225
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> Fc monome-2

<400> 174

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro
225

<210> 175
<211> 227
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> Fc monome-3

<400> 175

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 176
<211> 225
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> Fc monome-4

<400> 176

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro
225

<210> 177
<211> 227
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> Fc monome-5

<400> 177

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 178
<211> 225
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> Fc monome-6

<400> 178

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

```
        115                 120                 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    130                 135                 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145                 150                 155                 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                165                 170                 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            180                 185                 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        195                 200                 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
    210                 215                 220

Pro
225

<210>  179
<211>  227
<212>  PRT
<213>  nhân tạo

<220>
<223>  Fc monome-7

<400>  179

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1               5                   10                  15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            20                  25                  30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        35                  40                  45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    50                  55                  60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                85                  90                  95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            100                 105                 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        115                 120                 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    130                 135                 140

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

145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 180
<211> 225
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> Fc monome-8

<400> 180

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro
225

<210> 181
<211> 484
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> scFc-1

<400> 181

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

```
    210                 215                 220

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
                245                 250                 255

Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
            260                 265                 270

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
        275                 280                 285

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
    290                 295                 300

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
305                 310                 315                 320

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr
                325                 330                 335

Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
            340                 345                 350

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
        355                 360                 365

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
    370                 375                 380

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
385                 390                 395                 400

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
                405                 410                 415

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
            420                 425                 430

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
        435                 440                 445

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
    450                 455                 460

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
465                 470                 475                 480

Ser Pro Gly Lys
```

<210> 182
<211> 480
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> scFc-2

<400> 182

```
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1               5                  10                  15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            20                  25                  30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        35                  40                  45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    50                  55                  60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                85                  90                  95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            100                 105                 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        115                 120                 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    130                 135                 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145                 150                 155                 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                165                 170                 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            180                 185                 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        195                 200                 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
    210                 215                 220

Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
                245                 250                 255

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
            260                 265                 270

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
        275                 280                 285

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
    290                 295                 300

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
305                 310                 315                 320
```

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg
325 330 335

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

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
355 360 365

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
370 375 380

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
385 390 395 400

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
405 410 415

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
420 425 430

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
435 440 445

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
450 455 460

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
465 470 475 480

<210> 183
<211> 484
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> scFc-3

<400> 183

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

```
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        115                 120                 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    130                 135                 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145                 150                 155                 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                165                 170                 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            180                 185                 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        195                 200                 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
    210                 215                 220

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
                245                 250                 255

Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
            260                 265                 270

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
        275                 280                 285

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
    290                 295                 300

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
305                 310                 315                 320

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
                325                 330                 335

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
            340                 345                 350

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
        355                 360                 365

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
    370                 375                 380

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
385                 390                 395                 400

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
                405                 410                 415

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
            420                 425                 430
```

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
435 440 445

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
450 455 460

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
465 470 475 480

Ser Pro Gly Lys

<210> 184
<211> 480
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> scFc-4

<400> 184

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

```
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
    210                 215                 220

Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
                245                 250                 255

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
            260                 265                 270

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
        275                 280                 285

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
    290                 295                 300

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
305                 310                 315                 320

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
                325                 330                 335

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
            340                 345                 350

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
        355                 360                 365

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
    370                 375                 380

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
385                 390                 395                 400

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
                405                 410                 415

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
            420                 425                 430

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
        435                 440                 445

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
    450                 455                 460

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
465                 470                 475                 480

<210>  185
<211>  484
<212>  PRT
<213>  nhân tạo

<220>
<223>  scFc-5

<400>  185
```

```
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1               5                  10                  15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            20                  25                  30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        35                  40                  45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    50                  55                  60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                85                  90                  95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            100                 105                 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        115                 120                 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    130                 135                 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145                 150                 155                 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                165                 170                 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            180                 185                 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        195                 200                 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
    210                 215                 220

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
225                 230                 235                 240

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
                245                 250                 255

Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
            260                 265                 270

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
        275                 280                 285

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
    290                 295                 300

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
305                 310                 315                 320

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr
```

325 330 335

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
340 345 350

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
355 360 365

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
370 375 380

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
385 390 395 400

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
405 410 415

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
420 425 430

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
435 440 445

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
450 455 460

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
465 470 475 480

Ser Pro Gly Lys

<210> 186
<211> 480
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> scFc-6

<400> 186

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

```
          100                 105                 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        115                 120                 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    130                 135                 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145                 150                 155                 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                165                 170                 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            180                 185                 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        195                 200                 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
    210                 215                 220

Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
                245                 250                 255

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
            260                 265                 270

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
        275                 280                 285

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
    290                 295                 300

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
305                 310                 315                 320

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg
                325                 330                 335

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
            340                 345                 350

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
        355                 360                 365

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
    370                 375                 380

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
385                 390                 395                 400

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
                405                 410                 415

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
            420                 425                 430
```

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
435 440 445

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
450 455 460

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
465 470 475 480

<210> 187
<211> 484
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> scFc-7

<400> 187

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
225 230 235 240

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
245 250 255

Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
260 265 270

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
275 280 285

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
290 295 300

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
305 310 315 320

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
325 330 335

Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
340 345 350

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
355 360 365

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
370 375 380

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
385 390 395 400

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
405 410 415

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
420 425 430

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
435 440 445

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
450 455 460

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
465 470 475 480

Ser Pro Gly Lys

<210> 188
<211> 480
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> scFc-8

<400> 188

```
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1               5                  10                  15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            20                  25                  30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        35                  40                  45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    50                  55                  60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                85                  90                  95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            100                 105                 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        115                 120                 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    130                 135                 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145                 150                 155                 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                165                 170                 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            180                 185                 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        195                 200                 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
    210                 215                 220

Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
                245                 250                 255

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
            260                 265                 270

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
        275                 280                 285

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
    290                 295                 300

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
305                 310                 315                 320
```

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
325 330 335

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

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
355 360 365

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
370 375 380

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
385 390 395 400

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
405 410 415

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
420 425 430

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
435 440 445

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
450 455 460

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
465 470 475 480

<210> 189
<211> 994
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> EvIII-1xCD3-scFc

<400> 189

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

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

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp
100 105 110

```
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Val Met Thr
    130                 135                 140

Gln Thr Pro Leu Ser Ser His Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile
145                 150                 155                 160

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
                165                 170                 175

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile
            180                 185                 190

Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
        195                 200                 205

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile Ser Arg Val Glu Ala
    210                 215                 220

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg
225                 230                 235                 240

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly
                245                 250                 255

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
            260                 265                 270

Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys
        275                 280                 285

Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
    290                 295                 300

Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
                325                 330                 335

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
            340                 345                 350

Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
        355                 360                 365

Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
    370                 375                 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val
385                 390                 395                 400

Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr
                405                 410                 415

Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro
            420                 425                 430

Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly
```

```
        435                 440                 445

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
    450                 455                 460

Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu
465                 470                 475                 480

Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
                485                 490                 495

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys
            500                 505                 510

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
        515                 520                 525

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
    530                 535                 540

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
545                 550                 555                 560

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
                565                 570                 575

Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys
            580                 585                 590

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
        595                 600                 605

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
    610                 615                 620

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
625                 630                 635                 640

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
                645                 650                 655

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
            660                 665                 670

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
        675                 680                 685

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
    690                 695                 700

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
705                 710                 715                 720

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                725                 730                 735

Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
            740                 745                 750

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
        755                 760                 765
```

```
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
    770                 775                 780

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
785                 790                 795                 800

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
                805                 810                 815

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
            820                 825                 830

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg
        835                 840                 845

Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
    850                 855                 860

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
865                 870                 875                 880

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
                885                 890                 895

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
            900                 905                 910

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
        915                 920                 925

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
    930                 935                 940

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
945                 950                 955                 960

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
                965                 970                 975

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
            980                 985                 990

Gly Lys
```

<210> 190
<211> 992
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> EvIII-1xCD3-scFc_delGK

<400> 190

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ser Gly Arg
1               5                   10                  15

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

```
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp
            100                 105                 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Val Met Thr
    130                 135                 140

Gln Thr Pro Leu Ser Ser His Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile
145                 150                 155                 160

Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
                165                 170                 175

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile
            180                 185                 190

Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
        195                 200                 205

Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile Ser Arg Val Glu Ala
    210                 215                 220

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg
225                 230                 235                 240

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly
                245                 250                 255

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
            260                 265                 270

Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys
        275                 280                 285

Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
    290                 295                 300

Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala
305                 310                 315                 320

Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
                325                 330                 335

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
            340                 345                 350
```

```
Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
        355                 360                 365

Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
    370                 375                 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val
385                 390                 395                 400

Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr
                405                 410                 415

Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro
            420                 425                 430

Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly
        435                 440                 445

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
    450                 455                 460

Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu
465                 470                 475                 480

Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
                485                 490                 495

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys
            500                 505                 510

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
        515                 520                 525

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
    530                 535                 540

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
545                 550                 555                 560

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
                565                 570                 575

Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys
            580                 585                 590

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
        595                 600                 605

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
    610                 615                 620

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
625                 630                 635                 640

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
                645                 650                 655

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
            660                 665                 670

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
```

675 680 685

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
690 695 700

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
705 710 715 720

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
725 730 735

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
740 745 750

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr
755 760 765

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
770 775 780

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
785 790 795 800

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
805 810 815

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
820 825 830

Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val
835 840 845

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
850 855 860

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
865 870 875 880

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
885 890 895

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
900 905 910

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
915 920 925

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
930 935 940

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
945 950 955 960

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
965 970 975

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985 990

<210> 191
<211> 20

<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> Trình tự gắn kết (G4S)4

<400> 191

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 192
<211> 25
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> Trình tự gắn kết(G4S)5

<400> 192

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 193
<211> 30
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> Trình tự gắn kết(G4S)6

<400> 193

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30

<210> 194
<211> 35
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> Trình tự gắn kết(G4S)7

<400> 194

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser
35

<210> 195
<211> 40
<212> PRT
<213> nhân tạo

<220>
<223> Trình tự gắn kết(G4S)8

<400> 195

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
35 40