(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) **1-0032733**

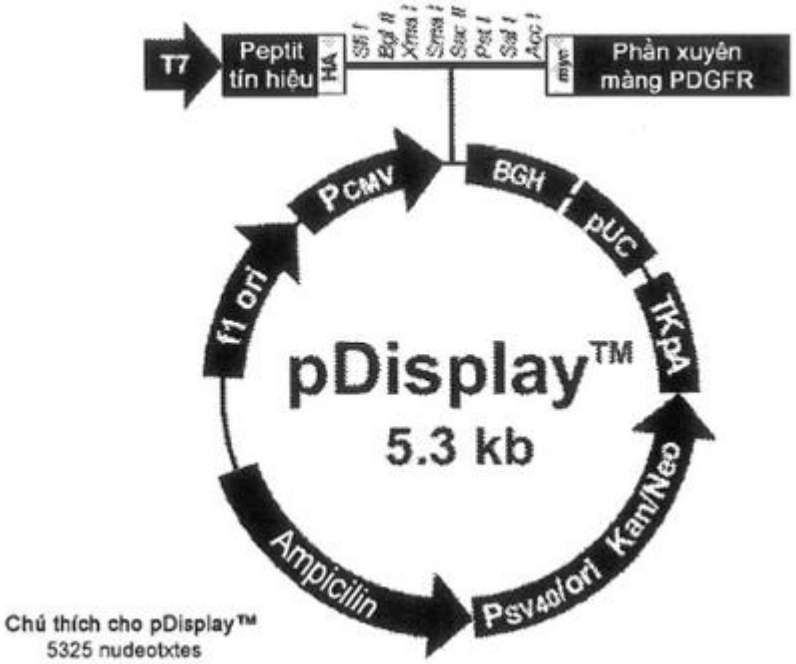
(51)[7] **C07K 16/28**; A61K 39/395; C07K 16/30; A61K 39/00; A61P 35/00

(13) **B**

(21) 1-2017-01273
(22) 03/09/2015
(86) PCT/US2015/048316 03/09/2015
(87) WO 2016/036937 A1 10/03/2016
(30) 62/046,682 05/09/2014 US
(45) 25/07/2022 412
(43) 25/10/2017 355A
(73) JANSSEN PHARMACEUTICA NV (BE)
Turnhoutseweg 30, B-2340 Beerse (BE)
(72) GAUDET, Francois (US); ATTAR, Ricardo (US); HARMAN, Benjamin C. (US); LI, Yingzhe (US); LUO, Jinquan (US); MCDAID, Ronan (US); POMERANTZ, Steven C. (US); TAM, Susan H. (US); TEPLYAKOV, Alexey (US); WHEELER, John (US); WU, Sheng-Jiun (US); NEMETH, Jennifer F. (US).
(74) Công ty Cổ phần Sở hữu công nghiệp INVESTIP (INVESTIP)

(54) KHÁNG THỂ ĐẶC HIỆU KÉP HOẶC MẢNH GẮN KẾT KHÁNG NGUYÊN CD123 (IL3-Rα) X CD3 VÀ DƯỢC PHẨM BAO GỒM KHÁNG THỂ NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến kháng thể liên kết miễn dịch đặc hiệu với CD123. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến tế bào được phân lập biểu hiện kháng thể, dược phẩm, polynucleotit và kit bao gồm kháng thể này.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến kháng thể đơn dòng liên kết miễn dịch đặc hiệu với cụm biệt hóa 123 (CD123; còn được gọi là IL-3Rα), kháng thể đa hiệu liên kết miễn dịch đặc hiệu với CD123 và cụm biệt hóa 3 (CD3), và phương pháp sản xuất kháng thể này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Cứ khoảng ba phút lại có một ca ung thư máu mới được chẩn đoán. Các bệnh ung thư máu phổ biến nhất là bệnh bạch cầu, ung thư hạch bạch huyết và u tủy, với 156.420 ca nhiễm mới được chẩn đoán tại nước Mỹ trong năm 2014. Cứ khoảng 10 phút lại có một người chết vì ung thư máu tại Mỹ. Các bệnh ung thư máu có thể tác động đến tủy xương, tế bào máu, các hạch bạch huyết và các bộ phận khác của hệ bạch huyết. Các bệnh ung thư này nhắm đến những người trẻ với một tỷ lệ bất thường, trong đó bệnh bạch cầu là bệnh ung thư phổ biến nhất ở trẻ em và thanh niên dưới 20 tuổi.

Một loại tế bào ung thư máu biểu hiện một dấu ấn tế bào được gọi là CD123 (IL-3Rα). Các ví dụ về tế bào ung thư máu biểu hiện CD123 bao gồm các nguyên bào và tế bào gốc bạch cầu. Các bệnh liên quan đến sự biểu hiện CD123 bao gồm bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), hội chứng loạn sản tủy xương (MDS; nguy cơ thấp và cao), bạch cầu lympho bào cấp tính (ALL, tất cả các phân loại), u lympho tế bào B lớn tỏa rộng (DLBCL), bạch cầu tủy bào mạn tính (CML), u tế bào tua dạng tương bào của nguyên bào (DPDCN).

Hiện nay, các thuốc điều trị cho các loại bệnh này bao gồm hơn 50 loại thuốc riêng biệt và nhiều loại khác đang được nghiên cứu và thử nghiệm lâm sàng. Liệu pháp xạ trị (RT) cũng thường được sử dụng để điều trị các bệnh ung thư máu và đôi khi được sử dụng cùng với liệu pháp điều trị bằng thuốc. Liệu pháp miễn dịch, liệu pháp gen và y học cá thể hóa cũng được sử dụng. Tuy nhiên, các liệu pháp này có các tác dụng phụ và phản ứng phụ đáng kể. Do đó, cần phải có các phương pháp điều trị mới và cải tiến cho các bệnh ung thư máu biểu hiện CD123 (IL-3Rα).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất kháng thể liên kết miễn dịch đặc hiệu với CD123 và mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng. Bản mô tả này cũng đề cập đến polynucleotit liên quan có khả năng mã hóa kháng thể đặc hiệu CD123 và mảnh gắn kết kháng nguyên, tế bào biểu hiện kháng thể được đề xuất và mảnh gắn kết kháng nguyên, vectơ liên quan, kháng thể gắn nhãn có thể phát hiện được và mảnh gắn kết kháng nguyên. Ngoài ra, phương pháp sử dụng kháng thể và mảnh gắn kết kháng nguyên cũng được mô tả. Ví dụ, kháng thể đặc hiệu CD123 và mảnh gắn kết kháng nguyên có thể được sử dụng để chẩn đoán hoặc theo dõi sự tiến triển, thoái lui hoặc ổn định của bệnh ung thư biểu hiện CD123; để xác định bệnh nhân có phải điều trị bệnh ung thư hay không; hoặc để xác định một đối tượng có bị mắc bệnh ung thư biểu hiện CD123 hay không và do đó có thể phải tuân thủ theo điều trị bằng thuốc kháng ung thư đặc hiệu CD123, như các kháng thể đa hiệu kháng CD123 và CD3 được mô tả trong bản mô tả này.

Sáng chế còn đề xuất kháng thể đa hiệu liên kết miễn dịch đặc hiệu với CD123 và CD3 và mảnh gắn kết kháng nguyên đa hiệu của chúng. Bản mô tả này cũng đề cập đến polynucleotit liên quan có khả năng mã hóa kháng thể đa hiệu CD123 x CD3, tế bào biểu hiện các kháng thể, vectơ liên quan, và kháng thể đa hiệu gắn nhãn có thể phát hiện được. Ngoài ra, phương pháp sử dụng kháng thể đa hiệu cũng được mô tả. Ví dụ, kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 có thể được sử dụng để chẩn đoán hoặc theo dõi sự tiến triển, thoái lui hoặc ổn định của bệnh ung thư biểu hiện CD123; để xác định bệnh nhân có phải điều trị bệnh ung thư hay không; hoặc để xác định một đối tượng có bị mắc bệnh ung thư biểu hiện CD123 hay không và do đó có thể phải tuân thủ theo điều trị bằng thuốc kháng ung thư đặc hiệu CD123, như các kháng thể đa hiệu CD3 x CD3 được mô tả trong bản mô tả này.

Các kháng thể đặc hiệu CD123

Bản mô tả này mô tả kháng thể được phân lập và mảnh gắn kết kháng nguyên đặc hiệu đối với CD123. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu CD123 và mảnh gắn kết kháng nguyên liên kết với CD123 SP1 người (SEQ ID NO: 1). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu CD123 và mảnh gắn kết kháng nguyên liên kết với CD123 SP2 người (SEQ ID NO: 2). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu

CD123 và mảnh gắn kết kháng nguyên liên kết với CD123 SP1 và SP2 người. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu CD123 và mảnh gắn kháng nguyên liên kết với CD123 SP1 người và CD123 khỉ đuôi dài (SEQ ID NO: 3). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu CD123 và mảnh gắn kết kháng nguyên liên kết với một epitop bao gồm một hoặc nhiều gốc từ (i) đoạn miền ngoại bào (ECD) CD123 SP2 bao gồm các gốc 195 - 202 (RARERVYE (SEQ ID NO: 234)) và/hoặc đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 156-161 (RKFRYE (SEQ ID NO:232)) và/hoặc đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 173 – 178 (TEQVRD (SEQ ID NO: 233)) hoặc (ii) đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 164-175 (IQKRMQPVITEQ (SEQ ID NO: 228)) và/hoặc đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 184-189 (LLNPGT (SEQ ID NO: 229)). Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M.

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên cạnh tranh để liên kết với CD123 với một kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên liên kết với một epitop bao gồm một hoặc nhiều gốc từ (i) đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 195 -202 (RARERVYE (SEQ ID NO: 234)) hoặc (ii) đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 164-175 (IQKRMQPVITEQ (SEQ ID NO: 228)). Các kháng thể hoặc mảnh kháng thể liên kết với ít nhất một gốc trong các epitop này cũng có thể liên kết với các gốc bổ sung trong ECD CD123 bao gồm một hoặc nhiều gốc từ (i) đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 156-161 (RKFRYE (SEQ ID NO:232)) và/hoặc đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 173 – 178 (TEQVRD (SEQ ID NO: 233)) hoặc ii) một hoặc nhiều gốc từ đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 184-189 (LLNPGT (SEQ ID NO: 229)). Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M.

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu CD123 và mảnh gắn kết kháng nguyên, như được mô tả trong hai đoạn trên, là các kháng thể trung hòa. Kháng thể đặc hiệu CD123 trung hòa hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên bao gồm các loại có

khả năng ức chế sự liên kết của IL-3 với CD123 như được xác định bằng cách đo mức giảm trong sự phosphoryl hóa STAT5 sau khi kích thích các tế bào TF-1 bằng rhIL-3.

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu CD3123 và mảnh gắn kết kháng nguyên có thể ngăn cản IL-3 liên kết với thụ thể CD123(IL3Ra)/CD131(IL3Rb). Theo các phương án khác, kháng thể đặc hiệu CD3123 và mảnh gắn kết kháng nguyên có thể ngăn cản sự kết hợp của chuỗi α và β của thụ thể IL3R, (CD123(IL3Ra)/CD131(IL3Rb)). Kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên bao gồm các loại có khả năng ức chế sự liên kết của IL3 và/hoặc có khả năng ức chế sự dị đime hóa của CD123/CD133 như được xác định bằng cách đo mức giảm trong sự kết hợp giữa CD123 và CD131 và bằng cách đo sự mất đime hóa với việc tăng hàm lượng kháng thể. Bảng 1 trình bày tổng hợp các ví dụ về một số kháng thể đặc hiệu CD123 như được mô tả trong bản mô tả này:

Bảng 1. Các trình tự CDR của các kháng thể đơn dòng được tạo ra từ sàng lọc thực khuẩn kháng CD123 người

(SEQ ID NO :)

ID	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
I3RB1	DYGMS (6)	VIRGGGSSKYYADSVKG (7)	HSGSFRFNELDY (8)	KSSQSVLYSSNNKNYLA (9)	WASTRES (10)	QQYYSTPLT (11)
I3RB2	GYWMH (12)	AIRSDGSSKYYADSVKG (13)	DGVIEDTFDY (14)	RASQSVSSYLA (15)	DASNRAT (16)	QQRSNWPLT (17)
I3RB3	SYWMS (18)	GIKYDGGSKYYADSVKG (19)	KWMSYFDY (20)	KSSQSVLYSSNNKNYLA (9)	WASTRES (10)	QQYYSTPLT (11)
I3RB4	GYGMS (21)	AISGSGGSTYYADSVKG (22)	GNWYYGLGFDY (23)	RASQSVSSSYLA (24)	GASSRAT (25)	QQYGSSPLT (26)
I3RB5	GYWMS (27)	GINYDGGSTYYADSVKG (28)	DHFLAEFDY (29)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB6	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	GLFNWSNVALDY (35)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB7	SYAIS	GIIPIFGTANYAQKFQG	GKRWLADAGDFD	RASQSISSYLN	AASSLQS	QQSYSTPLT

ID	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
	(33)	(34)	Y (36)	(30)	(31)	(32)
I3RB8	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	HGFAWNDYSLLDY (37)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB9	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	GARWFNPPENLDY (38)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB10	SYGIS (39)	WISAIFGNTNYAQKFQG (40)	GGLLYYASYLDY (41)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB11	SYGIS (39)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	DLFSWRYSNFDY (42)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB12	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	ADRVWDYYLDY (43)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB13	SYGIS (39)	GIIPIFGNTNYAQKFQG (44)	QSGFYVVRLDY (45)	RASQSVSSYLA (15)	DASNRAT (16)	QQRSNWPLT (17)
I3RB14	SYGIS (39)	WISAIFGTTNYAQKFQG (46)	GGPLRYYNHFDY (47)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB15	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	DLFSLRYSFLDY (48)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB16	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	GAVWGDQWFDY (49)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB17	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	GALSLWYSFLDY (50)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB18	SYWIS (51)	IIDPSDSDTRYSPSFQG (52)	GDGSTDLDY (53)	RASQSVSSSYLA (24)	GASSRAT (25)	QQDYGFPWT (54)
I3RB19	NYAMS (55)	GIRGNGSSTYYADSVKG (56)	GGPIGARFPDYLDY (57)	RASQSIGDFLN (58)	YASSLQS (59)	QQSYSTPLT (32)
I3RB20	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	DDQIWGSYHLDY (60)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB21	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	EGWWGQGKFDY (61)	RASQSVANFLA (62)	AASNRAT (63)	QQYFHWPYT (64)
I3RB22	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	NLFYWADSVYLDY	RASQSVNKWLA (66)	YASNRAT (67)	QQGIDWPRT

ID	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
			(65)			(68)
I3RB23	SYGIS (39)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	EGSSWKNPRYVFDY (69)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQYFDFPLT (70)
I3RB24	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	HTDAWGYRLDY (71)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB25	SYGIS (39)	GISAIFGNANYAQKFQG (72)	RFKWWESYFDY (73)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB26	SYGIS (39)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	NGFAWSVSGNLDY (74)	RASQSVDNWLA (75)	GASNRAT (76)	QQSISAPYT (77)
I3RB27	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	AGWWNLRYGLDY (78)	RASQSVAKSLA (79)	AASNRAT (63)	QQFIGWPIT (80)
I3RB28	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	APFTWDYSRLDY (81)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB29	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	DSRIWSFSLDY (82)	RASQSIGEWLN (83)	AASSLQS (31)	QQYYHFPLT (84)
I3RB30	SYAIS (33)	WIIPIFGTANYAQKFQG (85)	LVYSSDFDY (86)	RASQSVANWLA (87)	YASNRAT (67)	QQYDGWPRT (88)
I3RB31	SYAIS (33)	GISAYFGNANYAQKFQG (89)	SYFGDAYFDY (90)	RASQSVDKDLA (91)	GASNRAT (76)	QQYDRAPIT (92)
I3RB32	SYGIS (39)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	GAWWAYDTYLDY (93)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB33	SYGIS (39)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	GYWHWNYDYLDY (94)	RASQSVNDWLA (95)	GASNRAT (76)	QQYKRAPYT (96)
I3RB34	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	GWSYYRLDY (97)	RASQSVDKWLA (98)	YASNRAT (67)	QQFDRAPFT (99)
I3RB35	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	HLFWDAGPLDY (100)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQYFSPPYT (101)
I3RB36	SYGIS (39)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	DLHVWAYSNFDY (102)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB37	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	DKTDFPSRLDY (103)	RASQSIATWLN (104)	AASSLQS (31)	QQYITFPLT (105)
I3RB38	SYGIS	GIIPIFGTANYAQKFQG	DLMIWRFENFDY	RASQSISSYLN	AASSLQS	QQSYSTPLT

ID	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
	(39)	(34)	(106)	(30)	(31)	(32)
I3RB39	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	EYGSLDY (107)	RASQSVADFLA (108)	KASNRAT (109)	QQYNGWPWT (110)
I3RB40	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	GQWWADTWFDY (111)	RASQSVAKWLA (112)	GASNRAT (76)	QQYHTAPWT (113)
I3RB41	SYAMS (114)	AISGSGGSTYYADSVKG (22)	VAYWEFFVYESLDY (115)	RASQSVSSSYLA (24)	GASSRAT (25)	QQYGSSPLT (26)
I3RB42	SYAMS (114)	AISGSGGSTYYADSVKG (22)	HDWAFWIVFLDY (116)	RASQSVSSYLA (15)	DASNRAT (16)	QQRSNWPLT (17)
I3RB43	SYWMH (117)	AIRSDGSSKYYADSVKG (13)	DGIVMDTFDY (118)	RASQSVSSYLA (15)	DASNRAT (16)	QQRSNWPLT (17)
I3RB44	SYWIS (51)	IIDPSDSDTRYSPSFQG (52)	GDGSTDLDY (53)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB47	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	DLFSWRYSNFDY (42)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)

Một số phương án đề xuất kháng thể đặc hiệu CD123, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm chuỗi nặng chứa CDR1, CDR2 và CDR3 của kháng thể bất kỳ trong các kháng thể được trình bày trong Bảng 1. Một số phương án đề xuất kháng thể đặc hiệu CD123, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm chuỗi nặng chứa CDR1, CDR2 và CDR3 của kháng thể bất kỳ trong các kháng thể được trình bày trong Bảng 1, và chuỗi nhẹ chứa CDR1, CDR2 và CDR3 của kháng thể bất kỳ trong các kháng thể được trình bày trong Bảng 1. Theo một số phương án được mô tả trong bản mô tả này, kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó cạnh tranh để liên kết với CD123 với một kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên bao gồm chuỗi nặng chứa CDR1, CDR2 và CDR3 của kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể được trình bày trong Bảng 1, và chuỗi nhẹ chứa CDR1, CDR2 và CDR3 của kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể được trình bày trong Bảng 1.

Lớp IgG được phân thành bốn lớp kháng thể: IgG1, IgG2, IgG3 vả IgG4 ở người. Chúng tương đồng hơn 95% ở các trình tự axit amin của vùng Fc nhưng lại

khác biệt đáng kể trong thành phần axit amin và cấu trúc của vùng bản lề. Vùng Fc làm trung gian cho các chức năng của tế bào thực thi, như gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) và gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC). Trong cơ chế ADCC, vùng Fc của kháng thể liên kết với các thụ thể Fc (FcgR) trên bề mặt của các tế bào thực thi miễn dịch như tế bào sát thủ tự nhiên và đại thực bào, dẫn đến sự thực bào hoặc ly giải tế bào đích. Trong cơ chế CDC, các kháng thể tiêu diệt tế bào đích bằng cách hoạt hóa hệ bổ thể tại bề mặt tế bào. Các kháng thể được mô tả trong bản mô tả này bao gồm các kháng thể có các đặc điểm của các miền biến đổi kết hợp với lớp kháng thể IgG bất kỳ, bao gồm các phiên bản được điều hòa trong đó chuỗi Fc đã được điều hòa để tác dụng lên các chức năng khác nhau của tế bào thực thi.

Đối với nhiều ứng dụng của các kháng thể chữa bệnh, các chức năng của tế bào thực thi qua trung gian Fc không phải là một phần của cơ chế tác động. Các chức năng của tế bào thực thi qua trung gian Fc có thể có hại và có thể mang đến rủi ro về an toàn do gây ra tính độc từ cơ chế đóng. Có thể điều hòa các chức năng của tế bào thực thi bằng cách kiến tạo các vùng Fc để giảm liên kết của chúng đến các FcgR hoặc các yếu tố bổ thể. Sự liên kết của IgG với FcgR hoạt hóa (FcgRI, FcgRIIa, FcgRIIIa và FcgRIIIb) và ức chế (FcgRIIb) hoặc thành phần thứ nhất của bổ thể (C1q) phụ thuộc vào các gốc tại vùng bản lề và miền CH2. Các đột biến đã được đưa vào IgG1, IgG2 và IgG4 để làm giảm hoặc làm câm các chức năng của Fc. Các kháng thể được mô tả trong bản mô tả này có thể bao gồm các điều hòa này.

Trong một phương án, kháng thể bao gồm vùng Fc có một hoặc nhiều đặc tính sau: (a) các chức năng của tế bào thực thi đã bị giảm so với Fc mẹ; (b) ái lực với Fcg RI, Fcg RIIa, Fcg RIIb, Fcg RIIIb và/hoặc Fcg RIIIa giảm, (c) ái lực với FcgRI giảm (d) ái lực với FcgRIIa giảm (e) ái lực với FcgRIIb giảm, (f) ái lực với Fcg RIIIb giảm hoặc (g) ái lực với FcgRIIIa giảm.

Trong một số phương án, các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên là IgG, hoặc dẫn xuất của nó, ví dụ các lớp kháng thể IgG1, IgG2, IgG3, và IgG4. Trong một số phương án trong đó kháng thể có lớp kháng thể IgG1, kháng thể bao gồm (các) thay thế L234A, L235A, và/hoặc K409R tại vùng Fc của nó. Trong một số phương án trong đó kháng thể có lớp kháng thể IgG4, kháng thể bao gồm các thay thế S228P,

L234A, và L235A tại vùng Fc của nó. Các kháng thể được mô tả trong bản mô tả này có thể bao gồm các điều hòa này.

Trong một số phương án, các kháng thể được mô tả có khả năng liên kết với CD123 bằng hằng số phân ly nhỏ hơn hoặc bằng 5 nM như được đo bằng phương pháp cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR). Trong một số phương án, các kháng thể bao gồm các CDR của các kháng thể được trình bày trong Bảng 1 trên đây. Các xét nghiệm đo ái lực bằng SPR bao gồm các xét nghiệm sử dụng thiết bị BIAcore 3000 hay Biacore T200, trong đó xét nghiệm được thực hiện ở nhiệt độ phòng (ví dụ ở nhiệt độ bằng hoặc gần bằng 25°C), trong đó thu được kháng thể có khả năng liên kết với CD123 trên chip cảm biến BIAcore bằng một kháng thể kháng Fc (ví dụ kháng thể đặc hiệu Fc kháng IgG người từ dê, Jackson ImmunoResearch laboratories Prod # 109-005-098) đến khi đạt mức bằng khoảng 75RU, sau đó thu thập các dữ liệu phân ly và kết hợp với lưu lượng bằng 40 µl/phút.

Ngoài các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên đã được mô tả, bản mô tả này cũng cung cấp các trình tự polynucleotit có khả năng mã hóa các kháng thể và mảnh gắn kháng nguyên này. Bản mô tả còn cung cấp các vectơ chứa các polynucleotit được mô tả, các tế bào biểu hiện các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc các mảnh gắn kháng nguyên đã nêu. Đồng thời bản mô tả cũng đề cập đến các tế bào có khả năng biểu hiện các vectơ được bộc lộ. Các tế bào này có thể là tế bào động vật có vú (như các tế bào 293F, các tế bào CHO), tế bào côn trùng (như tế bào Sf7), tế bào nấm men, tế bào thực vật, hoặc tế bào vi khuẩn (như E. coli). Các kháng thể được mô tả có thể được sản xuất bằng các tế bào lai.

Các phương pháp sử dụng kháng thể đặc hiệu CD123

Bản mô tả cũng bộc lộ các phương pháp sử dụng các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên đã nêu. Các kháng thể cụ thể để sử dụng trong các phương pháp trình bày trong phần này bao gồm các kháng thể có tập hợp các CDR được mô tả cho các kháng thể trong Bảng 1 trên đây hoặc các kháng thể cạnh tranh để liên kết với CD123 với một trong các kháng thể trong Bảng 1. Ví dụ, các kháng thể này hoặc đoạn gắn kháng nguyên có thể hữu ích trong điều trị bệnh ung thư, bằng cách ức chế tác dụng sinh học của IL-3 với việc ngăn IL-3 liên kết với IL-3R hoặc với vị trí kháng thể được tiếp hợp với độc tố, từ đó hướng độc tố đến tế bàoung thư biểu hiện CD123. Ngoài ra, các

kháng thể này hoặc các đoạn gắn kháng nguyên có thể hữu ích trong việc phát hiện sự có mặt của CD123 trong mẫu sinh học, như mẫu máu hoặc huyết thanh; trong việc định lượng CD123 trong mẫu sinh học, như mẫu máu hoặc huyết thanh; trong việc chẩn đoán bệnh ung thư biểu hiện CD123; xác định phương pháp điều trị đối tượng bị mắc bệnh ung thư; hoặc theo dõi sự tiến triển của bệnh ung thư biểu hiện CD123 ở đối tượng. Trong một số phương án, bệnh ung thư biểu hiện CD123 có thể là một loại bệnh ung thư huyết học, như bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), hội chứng loạn sản tủy xương (MDS, nguy cơ cao hay thấp), bạch cầu lympho bào cấp tính (ALL, tất cả các phân loại), u lympho tế bào B lớn tỏa rộng (DLBCL), bạch cầu tủy bào mạn tính (CML), hoặc u tế bào tua dạng tương bào của nguyên bào (DPDCN). Có thể thực hiện các phương pháp này trước khi đối tượng được điều trị ung thư biểu hiện CD123, như điều trị bằng kháng thể đa hiệu kháng CD123 và CD3. Ngoài ra, có thể thực hiện các phương pháp này sau khi đối tượng được điều trị ung thư biểu hiện CD123, như điều trị bằng kháng thể đa hiệu kháng CD123 và CD3 được mô tả trong bản mô tả này.

Các phương pháp phát hiện CD123 trong mẫu sinh học này bao gồm bước cho mẫu sinh học tiếp xúc với một hoặc nhiều kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên được mô tả trong bản mô tả này.

Các phương pháp chẩn đoán bệnh ung thư biểu hiện CD123 trong đối tượng cũng liên quan đến bước cho mẫu sinh học tiếp xúc với một hoặc nhiều kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên được mô tả trong bản mô tả này; tuy nhiên, các phương pháp cũng bao gồm bước định lượng CD123 có mặt trong mẫu; bước so sánh lượng CD123 có trong mẫu với một tiêu chuẩn đã biết hoặc mẫu tham chiếu; và bước xác định liệu mức CD123 của đối tượng có rơi vào trong phạm vi các mức CD123 liên quan đến bệnh ung thư hay không.

Đồng thời bản mô tả này cũng trình bày các phương pháp theo dõi bệnh ung thư biểu hiện CD123 ở đối tượng. Các phương pháp được mô tả bao gồm bước cho mẫu sinh học tiếp xúc với một hoặc nhiều kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên được mô tả trong bản mô tả này; bước định lượng CD123 có trong mẫu liên kết với kháng thể, hoặc mảnh gắn kháng nguyên của kháng thể; bước so sánh lượng CD123 có trong mẫu với một tiêu chuẩn đã biết hoặc mẫu tham chiếu hoặc lượng CD123 trong mẫu tương tự lấy từ đối tượng từ trước; và bước xác định liệu mức CD123 của đối

tượng có biểu thị sự tiến triển, thoái lui hoặc ổn định của bệnh ung thư dựa trên sự khác nhau trong lượng CD123 trong các mẫu so sánh.

Các mẫu thu được, hoặc có nguồn gốc từ, các đối tượng là các mẫu sinh học như nước tiểu, máu, huyết thanh, huyết tương, nước bọt, dịch cổ trướng, tế bào tuần hoàn, tế bào khối u tuần hoàn, tế bào không kết hợp với mô, các mô, các mô khối u cắt bỏ bằng phẫu thuật, mô sinh thiết, mẫu tế bào chọc hút bằng kim nhỏ, hay các tiêu bản mô.

Các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể được gắn nhãn để sử dụng với các phương pháp được trình bày trong bản mô tả, hoặc các phương pháp khác mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật đã biết. Ví dụ, các kháng thể được mô tả trong bản mô tả này, hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng, có thể được đánh dấu bằng chất đồng vị phóng xạ, nhãn huỳnh quang, nhãn epitope, bioti, nhãn nhóm mang màu, nhãn ECL, enzym, ruteni, ^{111}In-DOTA, ^{111}In- axit diethylenetriaminepentaacetic (DTPA), peroxyđaza ở cây cải ngựa, phosphataza kiềm và beta-galactosiđaza, hoặc poly-histiđin hoặc các nhãn tương tự đã biết trong ngành.

Kit kháng thể đặc hiệu CD123

Bản mô tả cũng mô tả các kit bao gồm các kháng thể đặc hiệu CD123 được bộc lộ hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng. Có thể sử dụng các kit này để thực hiện các phương pháp sử dụng các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc các mảnh gắn kháng nguyên được đề xuất trong bản mô tả này, hoặc các phương pháp khác mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật đã biết. Trong một số phương án, các kit được mô tả có thể bao gồm các kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên được mô tả trong bản mô tả này và các thuốc thử để sử dụng để phát hiện sự có mặt của CD123 trong mẫu sinh học. Theo đó, các kit được mô tả có thể bao gồm một hoặc nhiều kháng thể hoặc (các) mảnh gắn kháng nguyên của chúng, được mô tả trong bản mô tả này, và một bình để chứa kháng thể hoặc mảnh kháng thể khi không dùng, hướng dẫn sử dụng kháng thể hoặc mảnh kháng thể, kháng thể hoặc mảnh kháng thể được để trên một giá đỡ cứng, và/hoặc các dạng kháng thể hoặc mảnh kháng thể được gắn nhãn để có thể phát hiện, như được mô tả trong bản mô tả này.

Các kháng thể đa hiệu CD123 x CD3

Bản mô tả này còn trình bày các kháng thể đa hiệu phân lập liên kết với CD123 và CD3 ("các kháng thể đa hiệu CD123 x CD3") và các mảnh gắn kháng nguyên đa hiệu của chúng. Trong một số phương án, Kháng thể được phân lập, hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, liên kết miễn dịch đặc hiệu với CD123 SP2 (IL3-Rα) và CD123 SP1 (IL3-Rα).

Trong một số phương án, nhánh đặc hiệu CD123 của kháng thể đa hiệu liên kết với CD123 người và/hoặc CD123 khỉ đuôi dài (khỉ). Trong một số phương án, nhánh đặc hiệu CD123 của các kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 hoặc các mảnh gắn kháng nguyên liên kết với mảnh SP1 và/hoặc SP2 của CD123 người. Trong các phương án ưu tiên, kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 hoặc mảnh gắn kháng nguyên là kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên đặc hiệu đôi. Một số phương án đề xuất kháng thể đặc hiệu đôi CD123 (IL3-Rα) x CD3 phân lập bao gồm: a) chuỗi nặng thứ nhất (HC1); b) chuỗi nặng thứ hai (HC2); c) chuỗi nhẹ thứ nhất (LC1); và d) chuỗi nhẹ thứ hai (LC2), trong đó HC1 và LC1 bắt cặp để tạo điểm gắn kháng nguyên thứ nhất liên kết miễn dịch đặc hiệu với CD123 (IL3-Rα), và HC2 và LC2 bắt cặp để tạo điểm gắn kháng nguyên thứ hai liên kết miễn dịch đặc hiệu với CD3, hoặc mảnh gắn đặc hiệu đôi CD123 (IL3-Rα) x CD3 của nó. Trong phương án khác, một tế bào phân lập biểu hiện kháng thể hoặc mảnh gắn đặc hiệu đôi được đề xuất. Trong một số phương án, nhánh liên kết CD123 (hay "nhánh đặc hiệu CD123") của kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 được dẫn xuất từ kháng thể CD123 được mô tả trong bản mô tả này (ví dụ, từ kháng thể có các trình tự CDR được liệt kê trong Bảng 1).

Trong một số phương án, nhánh đặc hiệu CD123 của các kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 hoặc các mảnh gắn kháng nguyên là IgG, hoặc các dẫn xuất của nó. Trong một số phương án, các kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 được mô tả có khả năng liên kết với CD123 bằng hằng số phân ly nhỏ hơn hoặc bằng 5 nM như được đo bằng phương pháp cộng hưởng plasmon bề mặt, hoặc phương pháp MSD-CAT.

Trong một số phương án, nhánh liên kết CD3 (hay "nhánh đặc hiệu CD3") của kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 được dẫn xuất từ kháng thể đơn dòng SP34 của chuột, lớp kháng thể IgG3/lambda của chuột. (Pessano, S., etal, 1995. EMBO J. 4, 337-344). Trong một số phương án, nhánh liên kết CD3 của kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 bao gồm một miền VH và một miền VL được chọn từ Bảng 2. Bảng 2 trình

bày tổng hợp các ví dụ về một số chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của các kháng thể đặc hiệu CD3 và các mảnh gắn kháng nguyên của chúng.

Bảng 2. Chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của các kháng thể đặc hiệu CD3 và các mảnh gắn kháng nguyên.

VH	VL
CD3H141 (SEQ ID NO:184): IGHV3-72*01 với CDR chuột + Gly49Ala EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARI RSKYNNYATYYAASVKGRFTISRDDS KNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARHG NFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	CD3L63 (SEQ ID NO:188): IGLV7-46*01 với CDR chuột + F38V,A48G,Y51G,W59G QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTG AVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGT NKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSG AQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGT KLTVL
CD3H142 (SEQ ID NO:185): IGHV3-23*01 với CDR chuột + Ser49Ala EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF TFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKHGN FGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	CD3L64 (SEQ ID NO:189): IGLV1-51*01 với CDR chuột + Y38V, L48G, Y51G QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCRSSTG AVTTSNYANWVQQLPGTAPKGLIGGT NKRAPGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQ TGDEADYYCALWYSNLWVFGGGTKL TVL
CD3H143 (SEQ ID NO:186): IGHV3-23*01 với CDR chuột + Ser49Ala, Ala99Val EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF TFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKHGN FGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	CD3L66 (SEQ ID NO:190): IGLV7-43*01 với CDR chuột + F38V,A48G,Y51G,W59G QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTG AVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGT NKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSG VQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGT KLTVL

CD3H144 (SEQ ID NO:187): IGHV3-73*01 với CDR chuột + Asn57Gly EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASG FTFNTYAMNWVRQASGKGLEWVGRI RSKYNGYATYYAASVKGRFTISRDDS KNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHG NFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD3 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm một chuỗi nặng từ Bảng 3 và một chuỗi nhẹ từ Bảng 3. Bảng 3 trình bày tổng hợp về ma trận của các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của các kháng thể đặc hiệu CD3 và các mảnh gắn kháng nguyên.

Bảng 3. Các kháng thể được tạo bằng cách kết hợp các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ.

Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ		
	CD3L63	CD3L64	CD3L66
CD3H141	CD3B143	CD3B144	CD3B146
CD3H142	CD3B147	CD3B148	CDB150
CD3H143	CD3B151	CD3B152	CD3B154
CD3H144	CD3B155	CD3B156	CD3B158

Lớp IgG được phân thành bốn lớp kháng thể: IgG1, IgG2, IgG3 vả IgG4 ở người. Chúng tương đồng hơn 95% ở các trình tự axit amin của vùng Fc nhưng lại khác biệt đáng kể trong thành phần axit amin và cấu trúc của vùng bản lề. Vùng Fc làm trung gian cho các chức năng của tế bào thực thi, như gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) và gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC). Trong cơ chế ADCC, vùng Fc của kháng thể liên kết với các thụ thể Fc (FcgR) trên bề mặt của các tế bào thực thi miễn dịch như tế bào sát thủ tự nhiên và đại thực bào, dẫn đến sự thực bào

hoặc ly giải tế bào đích. Trong cơ chế CDC, các kháng thể tiêu diệt tế bào đích bằng cách hoạt hóa hệ bổ thể tại bề mặt tế bào.

Đối với nhiều ứng dụng của các kháng thể chữa bệnh, các chức năng của tế bào thực thi qua trung gian Fc không phải là một phần của cơ chế tác động. Các chức năng của tế bào thực thi qua trung gian Fc có thể có hại và có thể mang đến rủi ro về an toàn do gây ra tính độc từ cơ chế đóng. Có thể điều hòa các chức năng của tế bào thực thi bằng cách kiến tạo các vùng Fc để giảm liên kết của chúng đến các FcgR hoặc các yếu tố bổ thể. Sự liên kết của IgG với FcgR hoạt hóa (FcgRI, FcgRIIa, FcgRIIIa và FcgRIIIb) và ức chế (FcgRIIb) hoặc thành phần thứ nhất của bổ thể (C1q) phụ thuộc vào các gốc tại vùng bản lề và miền CH2. Các đột biến đã được đưa vào IgG1, IgG2 và IgG4 để làm giảm hoặc làm câm các chức năng của Fc. Có thể bao gồm các đột biến làm câm, nhưng không bị giới hạn trong IgG1 AA (F234A, L235A), hoặc IgG4 PAA (S228P, F234A, L235A), hoặc IgG2 AA (V234A, G237A), hoặc IgG1 FEA (L234F, L235E, D265A), hoặc IgG1 FES (L234F/L235E/P331S).

Trong một phương án, kháng thể bao gồm vùng Fc có một hoặc nhiều đặc tính sau: (a) các chức năng của tế bào thực thi đã bị giảm so với Fc mẹ; (b) ái lực với Fcg RI, Fcg RIIa, Fcg RIIb, Fcg RIIIb và/hoặc Fcg RIIIa giảm, (c) ái lực với FcgRI giảm (d) ái lực với FcgRIIa giảm (e) ái lực với FcgRIIb giảm, (f) ái lực với Fcg RIIIb giảm hoặc (g) ái lực với FcgRIIIa giảm.

Trong một số phương án, kháng thể đặc hiệu CD3 hoặc mảnh gắn kháng nguyên mà từ đó nhánh đặc hiệu CD3 của kháng thể đa hiệu được dẫn xuất là IgG, hoặc dẫn xuất của nó. Trong một số phương án, kháng thể đặc hiệu CD3 hoặc mảnh gắn kháng nguyên mà từ đó nhánh đặc hiệu CD3 của kháng thể đa hiệu được dẫn xuất là IgG1, hoặc dẫn xuất của nó. Trong một số phương án, ví dụ, vùng Fc của kháng thể IgG1 đặc hiệu CD3 mà từ đó nhánh liên kết với CD3 được dẫn xuất bao gồm các thay thế L234A, L235A, và F405L trong vùng Fc của nó. Trong một số phương án, kháng thể đặc hiệu CD3 hoặc mảnh gắn kháng nguyên mà từ đó nhánh đặc hiệu CD3 của kháng thể đa hiệu được dẫn xuất là IgG4, hoặc dẫn xuất của nó. Trong một số phương án, ví dụ, vùng Fc của kháng thể IgG4 đặc hiệu CD3 mà từ đó nhánh liên kết với CD3 được dẫn xuất bao gồm các thay thế S228P, L234A, L235A, F405L, và R409K trong vùng Fc của nó. Trong một số phương án, kháng thể đặc

hiệu CD3 hoặc mảnh gắn kháng nguyên mà từ đó nhánh đặc hiệu CD3 của kháng thể đa hiệu được dẫn xuất là IgG-AA Fc. Trong một số phương án, kháng thể đặc hiệu CD3 hoặc mảnh gắn kháng nguyên mà từ đó nhánh đặc hiệu CD3 của kháng thể đa hiệu được dẫn xuất là IgG-AA Fc-L234A, L235A, và F405L (trong đó L234A, L235A, và F405L là các đột biến). Trong một số phương án, kháng thể đặc hiệu CD3 hoặc mảnh gắn kháng nguyên mà từ đó nhánh đặc hiệu CD3 của kháng thể đa hiệu được dẫn xuất liên kết với Cd3ε tại các tế bào T sơ cấp của người và/hoặc tế bào T sơ cấp của khỉ. Trong một số phương án, kháng thể đặc hiệu CD3 hoặc mảnh gắn kháng nguyên mà từ đó nhánh đặc hiệu CD3 của kháng thể đa hiệu được dẫn xuất hoạt hóa tế bào T CD4+ sơ cấp của người và/hoặc tế bào T CD4+ sơ cấp của khỉ. Trong một số phương án, các kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 được mô tả có khả năng liên kết với CD3 tại các tế bào T người hoặc khỉ bằng hằng số phân ly nhỏ hơn 500, hoặc nhỏ hơn 100 hoặc nhỏ hơn 20 nM như được xác định bằng liên kết cạnh tranh với kháng thể kháng CD3 được gắn nhãn bằng ái lực đã biết

Ngoài các kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 được mô tả, sáng chế cũng đề xuất các trình tự polynucleotit có khả năng mã hóa các kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 này. Trong một số phương án, polynucleotit tổng hợp được phân lập mã hóa HC1, HC2, LC1 hoặc LC2 của kháng thể đặc hiệu đôi CD123 (IL3-Rα) x CD3 hoặc mảnh gắn đặc hiệu đôi. Bản mô tả còn cung cấp các vectơ chứa các polynucleotit đã nêu, các tế bào biểu hiện các kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 được mô tả trong bản mô tả này. Đồng thời bản mô tả cũng đề cập đến các tế bào có khả năng biểu hiện các vectơ được bộc lộ này. Các tế bào này có thể là tế bào động vật có vú (như các tế bào 293F, các tế bào CHO), tế bào côn trùng (như tế bào Sf7), tế bào nấm men, tế bào thực vật, hoặc tế bào vi khuẩn (như E. coli). Các kháng thể được mô tả có thể được sản xuất bằng các tế bào lai. Một số phương án đề xuất các phương pháp tạo kháng thể đặc hiệu đôi CD123 (IL3-Rα) x CD3 hoặc mảnh gắn đặc hiệu đôi bằng cách nuôi cấy tế bào.

Ngoài ra sáng chế cũng đề xuất các chế phẩm dược chứa các kháng thể đa hiệu CD123 (IL3-Rα) x CD3 hoặc các mảnh gắn kháng nguyên và chất mang dược dụng.

Các phương pháp sử dụng kháng thể đa hiệu CD123 x CD3

Bản mô tả cũng bộc lộ các phương pháp sử dụng các kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 đã nêu và các mảnh gắn kháng nguyên đa hiệu của chúng. Ví dụ, các kháng thể đa

hiệu CD123 x CD3 và các mảnh gắn kháng nguyên đa hiệu của chúng có thể hữu ích trong điều trị bệnh ung thư biểu hiện CD123 ở đối tượng cần điều trị. Trong một số phương án, bệnh ung thư biểu hiện CD123 là một loại bệnh ung thư huyết học, như bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), hội chứng loạn sản tủy xương (MDS, nguy cơ cao hay thấp), bạch cầu lympho bào cấp tính (ALL, tất cả các phân loại), u lympho tế bào B lớn tỏa rộng (DLBCL), bạch cầu tủy bào mạn tính (CML), hoặc u tế bào tua dạng tương bào của nguyên bào (DPDCN).

Các phương pháp điều trị bệnh ung thư biểu hiện CD123 ở đối tượng cần điều trị bao gồm bước cho đối tượng sử dụng một lượng điều trị hữu hiệu kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 đã nêu hoặc mảnh gắn kháng nguyên đa hiệu của nó. Trong một số phương án, đối tượng là động vật có vú, tốt nhất là con người. Các phương án ưu tiên đề xuất các phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh ung thư bằng cách cho bệnh nhân sử dụng một lượng điều trị hữu hiệu kháng thể đặc hiệu đôi CD123 (IL3-Rα) x CD3 hoặc mảnh gắn kháng nguyên đặc hiệu đôi trong một thời gian đủ để điều trị bệnh ung thư.

Ngoài ra, bản mô tả này còn cung cấp các phương pháp ức chế sự phát triển hoặc tăng sinh các tế bào ung thư bằng cách cho sử dụng một lượng điều trị hữu hiệu kháng thể đặc hiệu đôi CD123 (IL3-Rα) x CD3 hoặc mảnh gắn đặc hiệu đôi để ức chế sự phát triển hoặc tăng sinh các tế bào ung thư.

Bản mô tả này còn cung cấp các phương pháp chuyển hướng tế bào T đến tế bào ung thư biểu hiện CD123 bằng cách cho sử dụng một lượng điều trị hữu hiệu kháng thể đặc hiệu đôi CD123 (IL3-Rα) x CD3 hoặc mảnh gắn đặc hiệu đôiđể chuyển hướng tế bào T đến tế bào ung thư.

Kit kháng thể đặc hiệu CD123 x CD3

Bản mô tả này trình bày các kit bao gồm các kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 đã được bộc lộ. Có thể sử dụng các kit này để thực hiện các phương pháp sử dụng các kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 được đề xuất trong bản mô tả này, hoặc các phương pháp khác mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật đã biết. Trong một số phương án, các kit được mô tả có thể bao gồm các kháng thể được mô tả trong bản mô tả này và các thuốc thử để sử dụng để điều trị bệnh ung thư biểu hiện CD123. Theo đó, các kit được mô tả có thể bao gồm một hoặc nhiều kháng thể

đa hiệu hoặc (các) mảnh gắn kháng nguyên đa hiệu của chúng, được mô tả trong bản mô tả này, và một bình để chứa kháng thể hoặc mảnh kháng thể khi không dùng, và/hoặc hướng dẫn sử dụng kháng thể hoặc mảnh kháng thể, kháng thể hoặc mảnh kháng thể được để trên một giá đỡ cứng, và/hoặc các dạng kháng thể hoặc mảnh kháng thể được gắn nhãn để có thể phát hiện, như được mô tả trong bản mô tả này.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 minh họa vectơ pDisplay được sử dụng để tách dòng các miền ngoại bào CD123.

Hình 2 (Hình 2A, Hình 2B và Hình 2C) minh họa một xét nghiệm liên kết tế bào cho thấy khả năng liên kết với các tế bào biểu hiện CD123 của chất liên kết dương tính với bộ thực khuẩn.

Hình 3 minh họa xét nghiệm ELISA về cạnh tranh liên kết giữa bộ kháng thể và kháng thể 7G3 kháng CD123.

Hình 4 (Hình 4A và Hình 4B) minh họa xét nghiệm chức năng STAT5 trên cơ sở tế bào CD123. Hình 4C minh họa xét nghiệm chức năng STAT5 trên cơ sở tế bào CD123 phụ thuộc liều cho kháng thể I3RB18 và 7G3.

Hình 5 (Hình 5A, Hình 5B và Hình 5C) minh họa sự liên kết của các kháng thể đơn dòng I3RB2, I3RB18, và 7G3 với CD123 nội sinh được biểu hiện trên dòng tế bào AML, OCI-AML5.

Hình 6 (Hình 6A và Hình 6B) minh họa xét nghiệm liên kết cạnh tranh giữa các kháng thể đơn dòng I3RB2 và I3RB18 được gắn nhãn và các kháng thể kháng CD123 khác được nhận dạng trên hình.

Hình 7 (Hình 7A (SEQ ID NO: 232) và Hình 7B (SEQ ID NO:232)) minh họa các kết quả của nghiên cứu ánh xạ epitope bằng khối phổ trao đổi hyđro/đetơri (HDX-MS) cho thấy sự chênh lệch trong mức đetơri của CD123 SP2 khi có hay không có Fab.

Hình 8 minh họa các gốc kháng thể liên quan đến việc liên kết với CD123 sp2 quan sát được trong cấu trúc đồng tinh thể của scFv (kháng thể đơn chuỗi) dẫn xuất từ I3RB18 và ECD (miền ngoại bào) của CD123 SP2. Đánh số: CD123 sp2 trong các hình bầu dục; CDR của I3RB18 trong các hình vuông.

Hình 9. Hình 9A minh họa cấu trúc đồng tinh thể của CD123 sp2:I3RB18 (gắn nhãn B18) và Hình 9B minh họa cấu trúc đồng tinh thể của CD123 sp1:CSL362 Fab, dạng nhân hóa của kháng thể đơn dòng 7G3 từ mục nhập PDB (ngân hàng dữ liệu protein) 4JZJ.

Hình 10 minh họa trình tự axit amin của SP34 có đánh số tuần tự. Các CDR trong định nghĩa AbM (K.R. Abhinandan và A. C. Martin, 2008. Mol. Immunol. (Miễn dịch học phân tử) 45, 3832-3839) được gạch chân. Ser230 là gốc HC cuối cùng có mặt trong Fab được tách từ papain. Các gốc 231-455 là từ IGHG3_MOUSE (IgG3 chuột, thể đồng dạng 2).

Hình 11 minh họa miền biến đổi SP34 với các gốc chính tại giao diện VL/VH được hiển thị. Các gốc 38, 48, và 51 trong VL (được gắn nhãn) tiếp xúc với CDR-H3.

Hình 12 minh họa các biến thể Thích ứng với khung của người (Human Framework Adaptation, "HFA") đối với V_H (SỐ ID TRÌNH TỰ lần lượt là 5 và 184-187, theo thứ tự xuất hiện) và V_L (SỐ ID TRÌNH TỰ lần lượt là 4 và 188-190, theo thứ tự xuất hiện). Đánh số theo tuần tự; các CDR trong định nghĩa AbM được gạch chân; các gốc khác với SP34 được in đậm; các đột biến ngược trong biến thể HFA được in đậm và gạch chân.

Hình 13 minh họa liên kết của các biến thể HFA SP34 với các tế bào T sơ cấp của người.

Hình 14 minh họa liên kết của các biến thể HFA SP34 với các tế bào T sơ cấp của khỉ.

Hình 15 minh họa các biến thể HFA SP34 hoạt hóa các tế bào T sơ cấp của người *trong ống nghiệm*. Các đối chứng âm được thể hiện bằng màu trắng và các đối chứng dương được thể hiện bằng màu đen.

Hình 16 minh họa các biến thể HFA SP34 hoạt hóa các tế bào T sơ cấp của khỉ *trong ống nghiệm*. Các đối chứng âm được thể hiện bằng màu trắng và các đối chứng dương được thể hiện bằng màu đen.

Hình 17 thể hiện mối tương quan giữa sự liên kết và sự hoạt hoá của các biến HFA SP34. Các giá trị liên kết trung bình và giá trị Cường độ huỳnh quang trung bình (Mean Fluorescence Intensity, "MFI") đối với người (Hình 17A) và khỉ (Hình 17B) được đánh dấu bằng các dấu chấm.

Hình 18 minh họa xét nghiệm về cơ chế gây độc tế bào qua trung gian tế bào T của người hiến tặng M6587 (Hình 18A) và người hiến tặng M7020 (Hình 18B) đối với dòng tế bào MV4-11.

Hình 19 minh họa xét nghiệm về cơ chế gây độc tế bào qua trung gian tế bào T của người hiến tặng M6587 (Hình 19A) và người hiến tặng M7020 (Hình 19B) đối với dòng tế bào OCI-M2.

Hình 20 minh họa xét nghiệm về cơ chế gây độc tế bào qua trung gian tế bào T của người hiến tặng M6587 (Hình 20A) và người hiến tặng M7020 (Hình 20B) đối với dòng tế bào OCI-AML.

Hình 21 minh họa hiệu lực của I3RB186 trong mẫu ghép ngoại lai mang khối u KG-1.

Hình 22 minh họa hiệu lực của I3RB186 trong mẫu ghép ngoại lai mang khối u KG-1 theo phân tích phân loại tế bào hoạt hóa huỳnh quang (fluorescence-activated cell sorting, FACS) đối với máu ngoại vi vào ngày 30 tại CD45+ (Hình 22A) và CD8+/CD4+ (Hình 22B).

Hình 23 minh họa hiệu lực của I3RB186 trong mẫu ghép ngoại lai mang khối u KG-1 theo phân tích FACS đối với máu ngoại vi vào ngày 53 sau khi cấy ghép khối u tại CD45+ (Hình 23A) và CD8+/CD4+ (Hình 23B).

Hình 24 minh họa hiệu lực của I3RB186 trong mẫu ghép ngoại lai mang khối u KG-1 thể hiện qua sự thay đổi trọng lượng cơ thể khi được điều trị.

Hình 25 minh họa hiệu lực của kháng thể I3RB186 đặc hiệu đôi CD123 x CD3 đối với các kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng I3RB191 và I3RB192 có nhánh bất hoạt trong mẫu ghép ngoại lai mang khối u KG-1.

Hình 26 minh họa hiệu lực của kháng thể I3RB186 đặc hiệu đôi CD123 x CD3 đối với các kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng I3RB191 và I3RB192 có nhánh bất hoạt trong mẫu ghép ngoại lai mang khối u KG-1 theo phân tích FACS vào ngày 36 sau khi cấy ghép khối u tại CD45+ (Hình 26A) và CD8+/CD4+ (Hình 26B).

Hình 27 minh họa hiệu lực của kháng thể I3RB186 đặc hiệu đôi CD123 x CD3 đối với các kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng I3RB191 và I3RB192 có nhánh bất hoạt trong mẫu ghép ngoại lai mang khối u KG-1 theo phân tích FACS vào ngày 63 sau khi cấy ghép khối u tại CD45+ (Hình 27A) và CD8+/CD4+ (Hình 27B).

Hình 28 minh họa hiệu lực của kháng thể I3RB186 đặc hiệu đôi CD123 x CD3 đối với các kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng I3RB191 và I3RB192 có nhánh bất hoạt trong mẫu ghép ngoại lai mang khối u KG-1 thể hiện qua sự thay đổi trọng lượng cơ thể khi được điều trị.

Hình 29 minh họa các đường cong liên kết bão hòa được sử dụng để xác định ái lực liên kết của tế bào (Kd) cho SP34-2 trên tế bào T sơ cấp của người (Hình 29A) và tế bào T khỉ (Hình 29B).

Hình 30 minh họa các thí nghiệm về sự cạnh tranh liên kết trên tế bào T sơ cấp của người (Hình 30A) và tế bào T khỉ (Hình 30B), sử dụng kháng thể được gắn nhãn. Alexa Fluor^{R} 488B146, và tăng hàm lượng của các kháng thể CD123 x CD3 không được gắn nhãn.

Hình 31 minh họa xét nghiệm về cơ chế gây độc tế bào qua trung gian tế bào T của người hiến tặng M6948 (Hình 31A) và người hiến tặng M6521 (Hình 31B) đối với dòng tế bào OCI-AML.

Hình 32 minh họa xét nghiệm về cơ chế gây độc tế bào qua trung gian tế bào T của người hiến tặng M6948 (Hình 32A) và người hiến tặng M6521 (Hình 32B) đối với dòng tế bào KG-1.

Hình 33 minh họa xét nghiệm về cơ chế gây độc tế bào qua trung gian tế bào T của người hiến tặng M6948 (Hình 33A) và người hiến tặng M6521 (Hình 33B) đối với dòng tế bào JIM3.

Hình 34. Hình 34 A, B, C và D minh họa hiệu lực của kháng thể CD123 x CD3 đối với sự dị đime hóa cảm ứng IL-3 của CD123 và CD131 cho I3RB218 (Hình 34A), 8747 (Hình 34B), I3RB217 (Hình 34C) và 7959 (Hình 34D)

Hình 35 minh họa hiệu lực của kháng thể CD123 x CD3 là 7959 và 9958 trong mẫu ghép ngoại lai mang khối u KG-1 bằng cách so sánh thể tích khối u trung bình.

Hình 36 minh họa hiệu lực của kháng thể CD123 x CD3 là 3978 trong mẫu ghép ngoại lai mang khối u KG-1 bằng cách so sánh thể tích khối u trung bình.

Hình 37 minh họa hiệu lực của kháng thể CD123 x CD3 là 8747 trong mẫu ghép ngoại lai mang khối u KG-1 bằng cách so sánh thể tích khối u trung bình.

Hình 38 minh họa hiệu lực của kháng thể CD123 x CD3 là 8876 trong mẫu ghép ngoại lai mang khối u KG-1 bằng cách so sánh thể tích khối u trung bình.

Hình 39 minh họa hiệu lực của kháng thể CD123 x CD3 là 7959, và 9958 trong mẫu ghép ngoại lai mang khối u KG-1 bằng cách so sánh sự thay đổi trọng lượng cơ thể khi được điều trị.

Hình 40 minh họa hiệu lực của kháng thể CD123 x CD3 là 3978 trong mẫu ghép ngoại lai mang khối u KG-1 bằng cách so sánh sự thay đổi trọng lượng cơ thể khi được điều trị.

Hình 41 minh họa hiệu lực của kháng thể CD123 x CD3 là 8747 trong mẫu ghép ngoại lai mang khối u KG-1 bằng cách so sánh sự thay đổi trọng lượng cơ thể khi được điều trị.

Hình 42 minh họa hiệu lực của kháng thể CD123 x CD3 là 8876 trong mẫu ghép ngoại lai mang khối u KG-1 bằng cách so sánh sự thay đổi trọng lượng cơ thể khi được điều trị.

Hình 43 minh họa PK (dược động học) của chuột trong cơ thể sống của các kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 là 3978, 7955, 7959, 9958

Mô tả chi tiết các phương án thực hiện sáng chế

Các định nghĩa

Các thuật ngữ khác nhau liên quan đến các phương diện khác nhau được sử dụng trong toàn bộ bản mô tả và các điểm yêu cầu bảo hộ. Các thuật ngữ này được hiểu theo nghĩa thông thường trong ngành trừ khi được quy định khác. Các thuật ngữ được định nghĩa cụ thể khác được hiểu theo ngữ cảnh nhất quán với các định nghĩa được đưa ra trong bản mô tả này.

Trong bản mô tả này và các yêu cầu bảo hộ đính kèm, dạng số ít "một" đề cập đến cả các số nhiều trừ khi có sự mô tả nội dung khác một cách rõ ràng. Do đó, ví dụ, "một tế bào" có thể hiểu là bao gồm cả sự kết hợp của hai hoặc nhiều tế bào, v.v.

Thuật ngữ "khoảng" sử dụng trong bản mô tả này để chỉ một giá trị có thể đo được như một số lượng, một khoảng thời gian v.v., có nghĩa bao hàm các giá trị biến đổi lên đến ±10% so với giá trị xác định, sao cho các giá trị biến đổi này phù hợp để thực hiện các phương pháp được bộc lộ. Trừ khi được quy định khác, tất cả các chữ số chỉ số lượng của các thành phần, đặc tính như khối lượng phân tử, điều kiện phản

ứng, v.v sử dụng trong bản mô tả này và các yêu cầu bảo hộ được hiểu là sẽ được điều chỉnh trong tất cả các trường hợp theo thuật ngữ "khoảng". Theo đó, trừ khi quy định khác đi, các thông số bằng số đưa ra trong mô tả và các điểm yêu cầu bảo hộ sau đây là các con số xấp xỉ và có thể khác nhau tùy theo đặc tính mà bằng sáng chế này mong muốn đạt được. Cuối cùng, và không có ý giới hạn ứng dụng của học thuyết tương đương trong phạm vi các yêu cầu bảo hộ, mỗi thông số bằng số ít nhất phải được hiểu theo chữ số được tạo thành từ các số có nghĩa được công bố và áp dụng nguyên tắc làm tròn thông thường.

Bất kể các khoảng số và thông số bằng số đưa ra trong phạm vi rộng của sáng chế là các số xấp xỉ, các giá trị bằng số đưa ra trong các ví dụ cụ thể được đưa ra một cách chính xác nhất có thể. Tuy nhiên, giá trị bằng số bất kỳ thực ra cũng chứa một số lỗi nhất định có nguyên nhân tất yếu từ độ lệch chuẩn trong các phép đo thử nghiệm tương ứng của chúng.

Được "phân lập" có nghĩa là một thành phần sinh học (như axit nucleic, peptit hay protein) về cơ bản đã được tách ra, được tạo thành riêng ra từ, hoặc tinh lọc ra khỏi các thành phần sinh học khác của sinh vật mà tại đó thành phần xuất hiện một cách tự nhiên, tức là các ARN và ADN thuộc nhiễm sắc thể và nằm ngoài nhiễm sắc thể, và các protein khác. Do đó, axit nucleic, peptit hay protein đã được "phân lập" bao gồm cả các axit nucleic và protein được tinh chế bằng các phương pháp tinh chế tiêu chuẩn. Axit nucleic, peptit hay protein đã được "phân lập" có thể là một phần trong thành phần và tiếp tục được phân lập nếu thành phần đó không phải là một phần của môi trường tự nhiên của axit nucleic, peptit hay protein đó. Thuật ngữ bao hàm cả các axit nucleic, peptit và protein được điều chế bằng cách biểu hiện tái tổ hợp trong tế bào chủ và các axit nucleic được tổng hợp hóa học. Trong bản mô tả này, một kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên được "phân lập" nhằm chỉ một kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên về cơ bản được tách ra khỏi các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên khác có các tính đặc hiệu kháng nguyên khác (ví dụ, kháng thể phân lập liên kết đặc hiệu với CD123 về căn bản được tách khỏi các kháng thể liên kết đặc hiệu với các kháng nguyên khác ngoài CD123). Tuy nhiên, Kháng thể được phân lập liên kết đặc hiệu với một epitope, thể đồng dạng hoặc biến thể của CD123 có thể

có phản ứng chéo với các kháng nguyên liên quan khác, ví dụ từ các loài khác (như đồng đẳng loài của CD123).

"Polynucleotit", đồng nghĩa với "phân tử axit nucleic" "nucleotit" hay "axit nucleic", chỉ polyribonucleotit hay polydeoxyribonucleotit bất kỳ, có thể là ARN hay ADN chưa điều hòa hoặc ARN hay ADN đã điều hòa. "Polynucleotit" bao gồm, không giới hạn, ADN sợi đơn và sợi kép, ADN là hỗn hợp của các vùng sợi đơn và sợi kép, các ARN sợi đơn và sợi kép, và ARN là hỗn hợp của các vùng sợi đơn và sợi kép, các phân tử lai chứa ADN và ARN có thể là sợi đơn hoặc, điển hình hơn, là sợi kép hoặc là hỗn hợp của các vùng sợi đơn và sợi kép. Ngoài ra, "polynucleotit" chỉ các vùng có cấu trúc ba mạch bao gồm ARN hoặc ADN hoặc cả ARN và ADN. Thuật ngữ polynucleotit còn bao gồm các ADN hoặc ARN chứa một hoặc nhiều base (gốc) đã điều hòa và ADN hoặc ARN với các khung được điều hòa cho mục đích ổn định hoặc cho các lý do khác. Các base "điều hòa" bao gồm, ví dụ, các base đã bổ sung nhóm bảo vệ trityl và các base không thông thường khác như inosin. Có thể thực hiện nhiều kiểu điều hòa khác nhau đối với ADN và ARN; do đó, "polynucleotit" bao gồm các dạng được điều hòa hóa học, điều hòa bằng enzym hoặc bằng cách chuyển hóa của polynucleotit như thường thấy trong tự nhiên, cũng như trong các dạng hóa học đặc trưng của ADN và ARN của các vi rút và tế bào. "Polynucleotit" đồng thời bao gồm cả những mạch axit nucleic tương đối ngắn, thường được gọi là oligonucleotit.

Ý nghĩa của thuật ngữ "về căn bản là đồng dạng" có thể khác nhau tùy vào ngữ cảnh sử dụng thuật ngữ. Bởi sự biến đổi trình tự tự nhiên có khả năng tồn tại trong các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ và các gen mã hóa chúng, người ta cho rằng sẽ tìm thấy sự biến đổi ở một mức độ nào đó bên trong các trình tự axit amin hoặc các gen mã hóa các kháng thể và các mảnh gắn kháng nguyên được mô tả trong bản mô tả này, với tác động rất ít hoặc không có tác động đến các đặc tính liên kết duy nhất của chúng (ví dụ, tính đặc hiệu và ái lực). Sự mong đợi này một phần là do sự suy biến của mã di truyền, và do thành tựu tiến hóa của các biến thể của trình tự axit amin bảo thủ, các nguyên nhân này không làm thay đổi đáng kể bản chất của protein được mã hóa. Do đó, trong ngữ cảnh các trình tự axit amin, "về căn bản là đồng dạng" có nghĩa là có sự đồng nhất ở mức ít nhất 65% giữa hai hoặc nhiều trình tự. Tốt hơn là thuật ngữ này chỉ sự đồng nhất ở mức ít nhất 70% giữa hai hoặc nhiều trình tự, tốt hơn là đồng nhất

ở mức ít nhất 75%, tốt hơn là đồng nhất ở mức ít nhất 80%, tốt hơn là đồng nhất ở mức ít nhất 85 %, tốt hơn là đồng nhất ở mức ít nhất 90 %, tốt hơn là đồng nhất ở mức ít nhất 91%, tốt hơn là đồng nhất ở mức ít nhất 92%, tốt hơn là đồng nhất ở mức ít nhất 93%, tốt hơn là đồng nhất ở mức ít nhất 94%, tốt hơn là đồng nhất ở mức ít nhất 95%, tốt hơn là đồng nhất ở mức ít nhất 96%, tốt hơn là đồng nhất ở mức ít nhất 97%, tốt hơn là đồng nhất ở mức ít nhất 98%, và tốt hơn là đồng nhất ở mức ít nhất 99% hoặc đồng nhất hơn nữa. Phần trăm đồng nhất giữa hai trình tự là hàm của số lượng vị trí đồng nhất của các trình tự (tức là % tương đồng = số lượng vị trí đồng nhất/tổng số các vị trí x 100), có tính đến số khoảng trống và chiều dài của mỗi khoảng trống, các khoảngtrống cần được đưa vào để có sự bắt cặp tối ưu giữa hai trình tự. Phần trăm đồng nhất giữa hai nucleotit hoặc trình tự axit amin có thể, ví dụ, được xác định bằng cách sử dụng thuật toán của E. Meyers và W. Miller, Comput. Appl. Biosci (Ứng dụng điện toán vào khoa học sinh học) 4, 11-17 (1988), được hợp nhất vào chương trình ALIGN (phiên bản 2.0), sử dụng bảng trọng số gốc PAM120, điểm phạt chiều dài khoảng trống bằng 12 và điểm phạt khoảng trống bằng 4. Ngoài ra, phần trăm đồng nhất giữa hai trình tự axit amin có thể được xác định bằng cách sử dụng thuật toán Needleman và Wunsch, J. Mol. Biol. (Tạp chí sinh học phân tử) 48, 444-453 (1970).

Mức biến đổi này, diễn ra bên trong trình tự axit amin của protein mà không có tác động đáng kể lên chức năng của protein, thấp hơn nhiều so với mức của trình tự axit nucleic, do nguyên lý suy biến này không áp dụng cho các trình tự axit amin. Theo đó, trong ngữ cảnh kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên, "về căn bản là đồng dạng" có nghĩa là các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên đồng nhất ở mức 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hay 99% với các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên được mô tả. Các phương án khác bao gồm các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc các mảnh gắn kháng nguyên có khung, giàn giáo hoặc các vùng không liên kết khác không đồng nhất đáng kể với các kháng thể và mảnh gắn kháng nguyên trong bản mô tả này, nhưng có hợp nhất một hoặc nhiều CDR hoặc các trình tự cần thiết khác để tạo nên liên kết đồng nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hay 99% với các trình tự này trong bản mô tả. "Vectơ" là một đơn vị sao chép, như plasmit, thực khuẩn,

cosmid hoặc vi rút trong đó một đoạn axit nucleic khác có thể sẽ được chèn vào để có thể tạo nên sự sao chép hoặc biểu hiện đoạn đó.

Một "dòng tế bào vô tính" là một tập hợp các tế bào được dẫn xuất từ một tế bào hoặc tế bào sơ khai chung bằng quá trình nguyên phân. Một "dòng tế bào" là một dòng vô tính các tế bào sơ cấp có khả năng tăng trưởng ổn định trong ống nghiệm trong nhiều thế hệ. Trong một số ví dụ được cung cấp trong bản mô tả này, các tế bào được biến nạp bằng cách chuyển nhiễm các tế bào với ADN.

Các thuật ngữ "biểu hiện" và "tạo" được sử dụng đồng nghĩa trong bản mô tả này, và chỉ sự sinh tổng hợp một sản phẩm gen. Các thuật ngữ này có nghĩa sự phiên mã một gen tạo thành ARN. Các thuật ngữ này cũng có nghĩa là sự dịch mã ARN thành một hoặc nhiều polypeptit, và còn bao hàm tất cả các điều hòa diễn ra tự nhiên sau phiên mã và sau dịch mã. Sự biểu hiện hoặc tạo thành kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của chúng có thể nằm trong tế bào chất của tế bào, hoặc môi trường ngoại bào như môi trường sinh trưởng của môi trường nuôi cấy tế bào.

Các thuật ngữ "trị" hoặc "điều trị" chỉ sự thành công hoặc dấu hiệu thành công trong việc làm suy giảm hoặc cải thiện một thương tổn, bệnh lý hoặc tình trạng, bao gồm thông số chủ quan và khách quan bất kỳ như làm giảm bớt, thoái lui, thu nhỏ các triệu chứng hoặc làm cho tình trạng trở nên dễ chịu hơn đối với người bệnh, làm chậm tốc độ thoái hóa hoặc đi xuống, khiến cho điểm cuối của thoái hóa bớt suy yếu hơn, cải thiện tình trạng thể chất và tinh thần của đối tượng, hoặc kéo dài thời gian sống sót. Có thể đánh giá điều trị bằng các thông số chủ quan hoặc khách quan; bao gồm các kết quả thăm khám lâm sàng, thăm khám thần kinh hoặc các đánh giá tâm thần.

"Lượng hữu hiệu" hay "lượng điều trị hữu hiệu" chỉ lượng có hiệu quả, với các liều lượng và trong các khoảng thời gian cần thiết, để đạt được hiệu quả điều trị mong muốn. Lượng điều trị hữu hiệu kháng thể CD123 x CD3 có thể khác nhau tùy theo các yếu tố như tình trạng bệnh, giới tính, độ tuổi và cân nặng của cá thể bệnh nhân, và khả năng của kháng thể trong việc mang lại đáp ứng mong muốn ở cá thể bệnh nhân. Lượng điều trị hữu hiệu đồng thời là một lượng mà trong đó các hiệu quả lợi ích điều trị của kháng thể hoặc một phần của kháng thể nhiều hơn so với các tác dụng có hại hoặc độc hại.

"Kháng thể" chỉ tất cả các lớp kháng thể globulin miễn dịch (IgG, IgA, IgE, IgM, IgD, và IgY), bao gồm các dạng monome, polyme và tổng hợp, trừ khi được quy định khác. Thuật ngữ "kháng thể" cụ thể bao gồm các kháng thể đa dòng, các kháng thể đơn dòng (mAb), và các polypeptit giống kháng thể, như kháng thể tổng hợp và kháng thể nhân hóa.

Các mảnh gắn kháng nguyên là các cấu trúc protein bất kỳ có thể biểu hiện ái lực liên kết đối với một kháng nguyên cụ thể. Các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm các loại được cung cấp bằng kỹ thuật đã biết bất kỳ, như các kỹ thuật phân cắt bằng enzym, tổng hợp peptit và tái tổ hợp. Một số mảnh gắn kháng nguyên được cấu tạo từ các phần kháng thể nguyên vẹn, vẫn giữ được tính đặc hiệu gắn kháng nguyên của phân tử kháng thể mẹ. Ví dụ, các mảnh gắn kháng nguyên có thể bao gồm ít nhất một vùng biến đổi (vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ) hoặc một hoặc nhiều CDR của kháng thể đã biết để liên kết với một kháng nguyên cụ thể. Các ví dụ về các mảnh gắn kháng nguyên phù hợp bao gồm, nhưng không giới hạn, các diabody (kháng thể đặc hiệu đôi tái tổ hợp) và phân tử đơn chuỗi và các phân tử Fab (mảnh gắn kháng nguyên), F(ab')2, Fc, Fabc, và Fv, các kháng thể đơn chuỗi (Sc), các chuỗi nhẹ kháng thể riêng lẻ, các chuỗi nặng kháng thể riêng lẻ, thể dung hợp tổng hợp giữa các chuỗi kháng thể hoặc CDR và các protein khác, giàn giáo protein, monome hoặc đime chuỗi nặng, monome hoặc đime chuỗi nhẹ, đime chứa một chuỗi nặng và một chuỗi nhẹ, một mảnh đơn trị chứa các miền VL, VH, CL và CH1, hoặc kháng thể đơn trị như được mô tả trong WO2007059782, các mảnh lưỡng trị bao gồm hai mảnh Fab liên kết với nhau bằng cầu đisulfua tại vùng bản lề, mảnh Fd chứa chủ yếu các miền V.sub.H và C.sub.H1; mảnh Fv chứa chủ yếu các miền VL và VH của một nhánh của kháng thể, mảnh dAb (Ward và cộng sự, Nature (Tự nhiên) 341, 544-546 (1989)), bao gồm chủ yếu miền VH và đồng thời được gọi là các kháng thể miền (Holt và cộng sự; Trends Biotechnol. (Các xu hướng trong công nghệ sinh học) 11/2003; 21(11):484-90); họ lạc đà hoặc nanobody (kháng thể đơn miền)(Revets và cộng sự; Expert Opin Biol Ther. (Quan điểm chuyên gia về học thuyết sinh học) 01/2005; 5(1):111-24); vùng xác định bổ sung (CDR) phân lập, v.v. Có thể sử dụng tất cả các lớp kháng thể để sản xuất các mảnh gắn kháng nguyên. Ngoài ra, các mảnh gắn kháng nguyên có thể bao gồm các khung protein không phải kháng thể có thể tích hợp thành công các đoạn polypeptit theo hướng tạo ra ái lực

đối với kháng nguyên quan tâm đã cho, như các giàn giáo protein. Các mảnh gắn kháng nguyên có thể được tạo ra bằng cách tái tổ hợp hoặc bằng cách phân cắt bằng enzym hay bằng hóa chất đối với các kháng thể nguyên vẹn. Cụm từ "kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó" có thể được sử dụng để miêu tả một mảnh gắn kháng nguyên đã cho hợp nhất một hoặc nhiều đoạn axit amin của kháng thể nêu trong cụm từ. Khi được sử dụng trong bản mô tả này trong ngữ cảnh hai hoặc nhiều kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên, thuật ngữ "cạnh tranh với" hoặc "cạnh tranh chéo với" biểu thị rằng hai hoặc nhiều kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên cạnh tranh để liên kết với CD123, ví dụ, cạnh tranh để liên kết với CD123 trong thí nghiệm được mô tả trong ví dụ 9. Đối với các cặp kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên, chỉ quan sát được sự cạnh tranh hoặc ngăn chặn trong thí nghiệm trong các ví dụ khi một kháng thể được phủ trên đĩa và kháng thể khác được sử dụng để cạnh tranh, chiều ngược lại không đúng. Trừ khi được định nghĩa khác hoặc không áp dụng theo ngữ cảnh, trong bản mô tả này, thuật ngữ "cạnh tranh với" hoặc "cạnh tranh chéo với" cũng nhằm để mô tả các cặp kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên này.

Thuật ngữ "epitope" có nghĩa là yếu tố quyết định của protein có khả năng liên kết đặc hiệu với một kháng thể. Các epitope thường bao gồm các nhóm phân tử bề mặt như các axit amin hoặc các mạch bên đường và thường có các đặc trưng cấu trúc ba chiều đặc hiệu, cũng như các đặc trưng điện tích đặc hiệu. Các epitope cấu hình và không cấu hình khác biệt ở chỗ liên kết với epitope cấu hình bị mất khi có mặt dung môi làm biến chất, còn liên kết với epitope không cấu hình thì không bị mất. Epitope có thể bao gồm các gốc axit amin liên quan trực tiếp đến liên kết và các gốc axit amin khác không liên quan trực tiếp đến liên kết, như các gốc axit amin được ngăn chặn hiệu quả hoặc được bao phủ bởi peptit liên kết kháng nguyên đặc hiệu (nói cách khác, gốc axit amin nằm trong tầm ảnh hưởng của peptit liên kết kháng nguyên đặc hiệu).

"Liên kết đặc hiệu" hay "liên kết miễn dịch đặc hiệu" hoặc các dẫn xuất của chúng khi được sử dụng trong ngữ cảnh về các kháng thể, hay mảnh kháng thể, thể hiện sự liên kết với một hoặc nhiều epitope của protein quan tâm qua các miền được mã hóa bởi các gen globulin miễn dịch hoặc các mảnh của các gen globulin miễn dịch, mà không liên kết ưu tiên các phân tử khác trong mẫu chứa tập hợp hỗn hợp

các phân tử. Thông thường, một kháng thể liên kết với một kháng nguyên cùng nguồn gốc bằng K_d nhỏ hơn khoảng $1x10^{-8}$ M, như được đo bằng xét nghiệm cộng hưởng plasmon bề mặt hoặc xét nghiệm liên kết tế bào. Các cụm từ như kháng thể "đặc hiệu [kháng nguyên]" (ví dụ, kháng thể đặc hiệu CD123) có nghĩa là kháng thể đã nêu liên kết đặc hiệu với kháng nguyên đã nêu.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "k_d" (sec^{-1}), chỉ hằng số về tốc độ phân ly của tương tác kháng thể-kháng nguyên cụ thể. Giá trị này cũng được gọi là chỉ số k_{off}.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "k_a" (M^{-1} sec^{-1}), chỉ hằng số về tốc độ kết hợp của tương tác kháng thể-kháng nguyên cụ thể.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "K_D" (M), chỉ hằng số cân bằng phân ly của tương tác kháng thể-kháng nguyên cụ thể.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "K_A" (M^{-1}), chỉ hằng số cân bằng kết hợp của tương tác kháng thể-kháng nguyên cụ thể và tính được bằng cách chia k_a cho k_d.

Thuật ngữ "đối tượng" chỉ các động vật là con người và không phải là con người, bao gồm tất cả các loài động vật có xương sống, ví dụ, động vật có vú và không có vú, như các loài linh trưởng không phải là con người, chuột, thỏ, cừu, chó, mèo, ngựa, bò, gà, lưỡng cư, và bò sát. Trong nhiều phương án về các phương pháp được trình bày, đối tượng là con người.

Thuật ngữ "mẫu" trong bản mô tả này chỉ tập hợp các chất lỏng, tế bào hoặc mô đồng dạng (ví dụ, mô khối u cắt bỏ bằng phẫu thuật, mô sinh thiết, bao gồm tế bào chọc hút bằng kim nhỏ), được phân lập từ đối tượng, cũng như các chất lỏng, tế bào hoặc mô trong cơ thể đối tượng. Trong một số phương án, mẫu là chất lỏng sinh học. Chất lỏng sinh học thông thường là chất lỏng ở nhiệt độ sinh lý và có thể bao gồm các chất lỏng tự nhiên có trong, được hút ra từ, được ép hoặc được chiết từ đối tượng hoặc nguồn sinh học. Một số chất lỏng sinh học được dẫn xuất từ các mô, cơ quan hay vùng cục bộ cụ thể và một số chất lỏng sinh học khác có thể được lấy từ nhiều chỗ hơn hay toàn thân ở đối tượng hoặc nguồn sinh học. Các ví dụ về chất lỏng sinh học bao gồm máu, huyết thanh và dịch huyết thanh, huyết tương, bạch huyết, nước tiểu, nước bọt, dịch nang, giọt nước mắt, phân, đờm, dịch tiết của niêm mạc của các mô tiết và các cơ quan, dịch tiết âm đạo, dịch cổ trướng như các loại dịch liên quan đến các khối u không rắn, dịch màng phổi, màng tim, màng bụng, bụng và các khoang cơ thể khác, chất lỏng được thu thập từ việc rửa phế

quản và v.v. Các chất lỏng sinh học cũng có thể bao gồm các dung dịch lỏng tiếp xúc với đối tượng hoặc nguồn sinh học, ví dụ, môi trường nuôi cấy tế bào và cơ quan bao gồm môi trường điều hòa tế bào hoặc cơ quan, chất lỏng thụt rửa và v.v. Trong bản mô tả này, thuật ngữ "mẫu" bao gồm các chất được lấy từ đối tượng hoặc các chất có trong đối tượng.

Một "tiêu chuẩn đã biết" có thể là một dung dịch có lượng hoặc hàm lượng CD123 đã biết, trong đó dung dịch có thể là dung dịch xuất hiện tự nhiên, như mẫu từ bệnh nhân mắc ung thư giai đoạn sớm, trung, muộn, tiến triển, hoặc tĩnh, hoặc dung dịch có thể là dung dịch tổng hợp như nước có chất đệm có một lượng đã biết CD123 được pha loãng trong đó. Tiêu chuẩn đã biết trong bản mô tả này có thể bao gồm CD123 được phân lập từ đối tượng, protein CD123 được tinh chế hoặc tái tổ hợp hoặc một giá trị hàm lượng CD123 liên quan đến tình trạng bệnh.

Thuật ngữ "CD3" chỉ phức hợp đa tiểu phần protein CD3 người. Phức hợp đa tiểu phần protein CD3 được tạo thành từ 6 chuỗi polypeptit khác nhau. Các chuỗi này bao gồm chuỗi Cd3γ (SwissProt P09693), chuỗi Cd3δ (SwissProt P04234), hai chuỗi Cd3ε (SwissProt P07766), và một đồng đime chuỗi CD3 ζ (SwissProt 20963), và kết hợp với chuỗi α và β của thụ thể tế bào T. Thuật ngữ "CD3" bao gồm biến thể, thể đồng dạng và đồng đẳng loài CD3 bất kỳ được biểu hiện tự nhiên bởi các tế bào (bao gồm các tế bào T) hoặc có thể được biểu hiện trên các tế bào chuyển nhiễm với các gen hoặc ADN bổ sung mã hóa các polypeptit này, trừ khi có quy định khác.

Trong bản mô tả này, các thuật ngữ "tiểu phần alpha của thụ thể IL-3", "IL3Rα," "CD123," "chuỗi IL3Rα" và "tiểu phần IL3Rα" được sử dụng thay thế cho nhau, chỉ yếu tố quyết định kháng nguyên có thể được phát hiện trên tế bào tiền thân bạch cầu, liên kết miễn dịch với interleukin-3 (IL3). Trong một phương án cụ thể, CD123 là CD123 người. Trong một phương án cụ thể, CD123 là CD123 khỉ. Trong một phương án cụ thể, CD123 là CD123 SP1. Trong một phương án cụ thể, CD123 là CD123 SP2. Thuật ngữ "CD123" bao gồm biến thể, thể đồng dạng và đồng đẳng loài CD123 bất kỳ, trừ khi có quy định khác.

"Kháng thể CD123 x CD3" là kháng thể đa hiệu, tùy chọn là kháng thể đặc hiệu đôi, bao gồm hai vùng gắn kháng nguyên khác nhau, một vùng liên kết đặc hiệu với kháng nguyên CD123 và vùng kia liên kết đặc hiệu với CD3. Kháng thể đa hiệu

có thể là kháng thể đặc hiệu đôi, diabody, hoặc phân tử tương tự (ví dụ, xem mô tả các diabody trong *PNAS USA* 90(14), 6444-8 (1993)). Trong bản mô tả này, các kháng thể đặc hiệu đôi, diabody, hoặc phân tử tương tự có thể liên kết với đích phù hợp bất kỳ ngoài phần của CD123. Thuật ngữ "kháng thể đặc hiệu đôi" được hiểu là một kháng thể có hai vùng gắn kháng nguyên khác nhau được xác định bằng các trình tự kháng thể khác nhau. Có thể hiểu là chúng liên kết các đích khác nhau nhưng cũng liên kết với các epitope khác nhau trong cùng một đích.

"Mẫu tham chiếu" là mẫu có thể được so sánh với mẫu khác, như mẫu thử nghiệm, để đặc trưng hóa mẫu được so sánh. Mẫu tham chiếu sẽ có một số đặc tính được đặc trưng hóa, là cơ sở để so sánh với mẫu thử. Ví dụ, có thể sử dụng mẫu tham chiếu làm chuẩn về mức CD123 chỉ báo đối tượng mắc ung thư. Mẫu tham chiếu không cần phải được phân tích song song với mẫu thử nghiệm, do đó trong một số trường hợp mẫu tham chiếu có thể là một giá trị hoặc phạm vi bằng số đã được xác định trước đó để đặc trưng hóa một tình trạng đã cho, như các mức CD123 chỉ báo ung thư ở đối tượng. Thuật ngữ cũng bao gồm các mẫu được sử dụng cho mục đích so sánh, có liên quan đến trạng thái sinh lý hoặc tình trạng bệnh, như bệnh ung thư biểu hiện CD123, nhưng có mức CD123 chưa xác định.

Thuật ngữ "tiến triển", được sử dụng trong ngữ cảnh bệnh ung thư biểu hiện CD123 có sự tiến triển, bao gồm sự thay đổi bệnh ung thư từ trạng thái ít nghiêm trọng sang trạng thái nghiêm trọng hơn. Trạng thái này có thể bao gồm mức gia tăng trong số lượng hoặc trong tính nghiêm trọng của các khối u, mức độ di căn, tốc độ phát triển hay lan rộng của bệnh ung thư, v.v. Ví dụ, "sự tiến triển của bệnh ung thư ruột kết" bao gồm sự tiến triển của bệnh ung thư này từ trạng thái ít nghiêm trọng sang trạng thái nghiêm trọng hơn, như sự tiến triển từ giai đoạn I sang giai đoạn II, từ giai đoạn II sang giai đoạn III, v.v.

Thuật ngữ "thoái lui", được sử dụng trong ngữ cảnh bệnh ung thư biểu hiện CD123 có sự thoái lui, bao gồm sự thay đổi bệnh ung thư từ trạng thái nghiêm trọng hơn sang trạng thái không nghiêm trọng bằng. Trạng thái này có thể bao gồm mức giảm trong số lượng hoặc trong tính nghiêm trọng của các khối u, mức độ di căn, tốc độ phát triển hay lan rộng của bệnh ung thư, v.v. Ví dụ, "sự thoái lui của bệnh ung thư ruột kết" bao gồm sự thoái lui của bệnh ung thư này từ trạng thái nghiêm trọng

sang trạng thái ít nghiêm trọng hơn, như sự thoái lui từ giai đoạn III sang giai đoạn II, từ giai đoạn II sang giai đoạn I, v.v.

Thuật ngữ "ổn định", được sử dụng trong ngữ cảnh bệnh ung thư biểu hiện CD123 có tình trạng ổn định, nhằm để mô tả một tình trạng bệnh không hoặc đã không thay đổi đủ nhiều trong một giai đoạn lâm sàng phù hợp để có thể được coi là tiến triển hoặc thoái lui.

Các phương án được mô tả trong bản mô tả này không bị giới hạn trong các phương pháp, thuốc thử, hợp chất, chế phẩm hay hệ sinh học cụ thể, và các yếu tố này dĩ nhiên là có thể thay đổi.

Các kháng thể đặc hiệu CD123 và mảnh gắn kháng nguyên

Bản mô tả này mô tả các kháng thể đơn dòng phân lập hoặc các mảnh gắn kháng nguyên liên kết đặc hiệu với CD123. Cấu trúc chung của một phân tử kháng thể bao gồm một miền gắn kháng nguyên, bao gồm các chuỗi nặng và nhẹ, và miền Fc có các chức năng khác nhau, bao gồm chức năng cố định bổ thể và liên kết các thụ thể kháng thể.

Các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên trong bản mô tả bao gồm tất cả các lớp kháng thể IgA, IgD, IgE, IgG và IgM, và các multime tổng hợp của cấu trúc globulin miễn dịch bốn chuỗi. Các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên trong bản mô tả còn bao gồm lớp kháng thể IgY thường thấy trong huyết thanh hoặc lòng đỏ trứng của gà mái hoặc gà tây.

Các kháng thể đặc hiệu CD123 và mảnh gắn kháng nguyên có thể được dẫn xuất từ loài bất kỳ bằng các phương tiện tái tổ hợp. Ví dụ, các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể có nguồn gốc từ chuột nhắt, chuột, dê, ngựa, lợn, trâu, bò, gà, thỏ, họ lạc đà, lừa, con người, hoặc thể tổng hợp của chúng. Để cho con người sử dụng, các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên có nguồn gốc không phải là người có thể được thay đổi về cấu trúc hoặc gen để ít tính kháng nguyên hơn khi đưa vào cho bệnh nhân là con người sử dụng.

Trong một số phương án, các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên là thể tổng hợp. Trong bản mô tả này, thuật ngữ "tổng hợp" chỉ một kháng thể, hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, có ít nhất một số phần của ít nhất một miền biến đổi được

dẫn xuất từ trình tự axit amin của kháng thể của một động vật có vú không phải là con người, động vật gặm nhấm, hoặc bò sát, trong khi các phần còn lại của kháng thể, hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, được dẫn xuất từ con người.

Trong một số phương án, các kháng thể là kháng thể nhân hóa. Các kháng thể nhân hóa có thể là globulin miễn dịch tổng hợp, chuỗi globulin miễn dịch hoặc các mảnh của nó (như Fv, Fab, Fab', F(ab')2 hoặc các trình tự con gắn kháng nguyên khác của các kháng thể) chứa trình tự tối thiểu được dẫn xuất từ globulin miễn dịch không phải của con người. Phần lớn các kháng thể nhân hóa là các globulin miễn dịch người (kháng thể người nhận) trong đó các gốc từ vùng xác định bổ sung (CDR) của người nhận được thay thế bằng các gốc từ CDR của các loài không phải là người (kháng thể của đối tượng hiến tặng) như chuột nhắt, chuột hoặc thỏ có tính đặc hiệu, ái lực và khả năng mong muốn. Nhìn chung, kháng thể được nhân hóa sẽ bao gồm gần như tất cả trong ít nhất một, và thông thường là hai, miền biến đổi, trong đó tất cả hoặc gần như tất cả các vùng CDR tương ứng với các vùng của globulin miễn dịch không phải của người và tất cả hoặc gần như tất cả vùng khung là vùng khung của trình tự globulin miễn dịch của người. Kháng thể nhân hóa có thể bao gồm ít nhất một phần của vùng hằng định globulin miễn dịch (Fc), thông thường là globulin miễn dịch của người.

Trong bản mô tả này, các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể xuất hiện dưới nhiều dạng khác nhau, nhưng sẽ bao gồm một hoặc nhiều CDR kháng thể có mặt trong Bảng 1.

Bản mô tả này mô tả các Kháng thể được phân lập và các mảnh gắn kháng nguyên liên kết miễn dịch đặc hiệu với CD123. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc các mảnh gắn kháng nguyên là IgG người hoặc các dẫn xuất của nó. Mặc dù các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc các mảnh gắn kháng nguyên được đưa ra làm ví dụ trong bản mô tả này là của người, các kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên ví dụ có thể là thể được tổng hợp.

Một số phương án đề xuất kháng thể đặc hiệu CD123, hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, bao gồm chuỗi nặng chứa CDR1, CDR2 và CDR3 của kháng thể bất kỳ trong các kháng thể được trình bày trong Bảng 1. Một số phương án đề xuất kháng thể đặc hiệu CD123, hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, bao gồm chuỗi nặng chứa CDR1, CDR2 và CDR3 của kháng thể bất kỳ trong các kháng thể được trình bày trong Bảng 1,

và chuỗi nhẹ chứa CDR1, CDR2 và CDR3 của kháng thể bất kỳ trong các kháng thể được trình bày trong Bảng 1.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 006, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 007, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 008. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 006, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 007, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 008, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 009, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 010, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 011. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 119. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 119 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 164. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 012, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 013, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 014. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 012, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 013, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 014, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 015, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 016, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 017. Kháng thể đặc

hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 120. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 120 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 165. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 018, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 019, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 020. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 018, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 019, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 020, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 009, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 010, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 011. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 121. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 121 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 164. Miền biến

đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 021, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 022, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 023. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 021, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 022, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 023, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 024, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 025, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 026. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 122. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 122 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 166. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 027, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 028, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 029. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 027, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 028, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 029, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID

TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 123. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 123 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 035. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 035, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 124. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 124 và miền

biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 036. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 036, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 125. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 125 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 037. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 037,

CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 126. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 126 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 038. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 038, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 127. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của

chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 127 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 040, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 041. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 040, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 041, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 128. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 128 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 042. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi

nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 042, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 129. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 129 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 043. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 043, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 130. Trong một số phương án, các

kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 130 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 044, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 045. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 044, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 045, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 015, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 016, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 017. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 131. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 131 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 165. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 046, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 047. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng

nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 046, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 047, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 132. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 132 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 048. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 048, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như

đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 133. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 133 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 049. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 049, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 134. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 134 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 050.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 050, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 135. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 135 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 051, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 052, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 053. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 051, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 052, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 053, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 024, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 025, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 054. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu

CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 136. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 136 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 168. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 055, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 056, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 057. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 055, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 056, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 057, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 058, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 059, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 137. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 137 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 169. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi

nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 060. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 060, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 138. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 138 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 061. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 061, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 062, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 063, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 064. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M,

hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 139. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 139 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 170. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 065. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 065, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 066, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 067, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 068. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 140. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 140 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 171. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 069. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 069, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 070. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 141. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 141 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 172. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 071. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 071, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với

CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 142. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 142 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 072, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 073. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 072, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 073, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 143. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 143 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này

phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 074. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 074, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 075, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 076, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 077. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 144. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 144 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 173. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 078. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 078, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 079, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 063, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 080. Kháng thể đặc

hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 145. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 145 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 174. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 081. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 081, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 146. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 146 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến

đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 082. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 082, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 083, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 084. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 147. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 147 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 175. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 085, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 086. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 085, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 086, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 087, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID

TRÌNH TỰ: 067, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 088. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 148. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 148 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 176. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 089, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 090. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 089, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 090, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 091, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 076, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 092. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 149. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 149 và miền

biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 177. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 093. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 093, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 150. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 150 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 094. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 094,

CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 095, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 076, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 096. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 151. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 151 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 178. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 097. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 097, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 098, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 067, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 099. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 152. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của

chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 152 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 179. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 100. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 100, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 101. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 153. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 153 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 180. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 102. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi

nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 102, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 154. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 154 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 103. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 103, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 104, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 105. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 155. Trong một số phương án, các

kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 155 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 181. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 106. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 039, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 106, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 156. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 156 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 107. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng

nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 107, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 108, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 109, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 110. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 157. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 157 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 182.. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 111. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 111, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 112, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 076, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 113. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như

đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 158. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 158 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 183. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 114, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 022, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 115. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 114, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 022, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 115, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 024, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 025, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 026. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 159. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 159 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 166. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 114, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 022, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 116.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 114, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 022, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 116, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 015, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 016, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 017. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 160. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 160 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 165. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 117, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 013, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 118. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 117, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 013, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 118, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 015, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 016, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 017. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu

CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 161. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 161 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 165. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 051, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 052, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 053. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 051, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 052, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 053, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 162. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 162 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi

nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, và CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 042. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm CDR1 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 033, CDR2 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 034, CDR3 của chuỗi nặng có SỐ ID TRÌNH TỰ: 042, CDR1 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 030, CDR2 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 031, và CDR3 của chuỗi nhẹ có SỐ ID TRÌNH TỰ: 032. Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể bao gồm các trình tự khung của người. Kháng thể đặc hiệu CD123 này hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể liên kết với CD123 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 163. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm miền biến đổi của chuỗi nặng gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SỐ ID TRÌNH TỰ: 163 và miền biến đổi chuỗi nhẹ gần như đồng dạng, hoặc đồng nhất với SEQ ID NO: 167. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể trình bày trong đoạn này phù hợp để bao gồm các cấu trúc đặc hiệu đôi trong đó một nhánh là nhánh kháng CD123.

Các kháng thể kháng CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên của sáng chế cũng bao gồm các kháng thể cạnh tranh để liên kết với các kháng thể được mô tả ở phần trên. Có thể xác định sự cạnh tranh liên kết bằng cách sử dụng xét nghiệm ELISA về liên kết cạnh tranh, theo kỹ thuật được mô tả dưới đây trong Ví dụ 5. Có thể xác định liên kết cạnh tranh khi phát hiện sự ức chế của kháng thể thứ hai đối với sự liên kết của kháng thể thứ nhất ở mức ít nhất 20%, bất kể thứ tự các kháng thể liên kết với CD123 (tức là, nếu kháng thể A liên kết với CD123 trước kháng thể B, chỉ quan sát được ức chế ở mức 10%, nhưng khi kháng thể B được liên kết với CD123 trước kháng thể A, sẽ quan sát được ức chế ở mức 30%, cho nên nếu quan sát được mức ức chế lớn hơn 20% trong một trong các thí nghiệm, có thể kết luận được là có sự liên kết cạnh tranh).

Trong một số phương án, các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên là IgG, hoặc dẫn xuất của nó, ví dụ các lớp kháng thể IgG1, IgG2, IgG3, và IgG4. Trong một số phương án trong đó kháng thể có lớp kháng thể IgG1, kháng thể bao gồm (các) thay thế L234A, L235A, và K409R tại vùng Fc của nó. Trong một số phương án trong đó kháng thể có lớp kháng thể IgG4, kháng thể bao gồm các thay thế S228P, L234A, và L235A tại vùng Fc của nó. Các kháng thể đặc hiệu được xác định bởi CDR và/hoặc trình tự miền biến đổi được trình bày ở các đoạn trên có thể bao gồm các điều hòa này.

Bản mô tả này cũng mô tả các polynucleotit phân lập mã hóa các kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên liên kết miễn dịch đặc hiệu với CD123. Có thể bao gồm polynucleotit phân lập có khả năng mã hóa các đoạn của miền biến đổi trong bản mô tả này trong cùng vectơ, hoặc trong các vectơ khác nhau để tạo các kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên.

Các polynucleotit mã hóa protein gắn kháng nguyên tái tổ hợp cũng nằm trong phạm vi của bản công bố sáng chế này. Trong một số phương án, các polynucleotit được mô tả (và các peptit mà chúng mã hóa) bao gồm một trình tự dẫn đầu. Có thể sử dụng trình tự dẫn đầu bất kỳ được biết tới trong ngành. Trình tự dẫn đầu có thể bao gồm, nhưng không bị hạn chế trong vị trí cắt giới hạn hoặc vị trí khởi đầu dịch mã.

Các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên được mô tả trong bản mô tả này bao gồm các biến thể có một hoặc nhiều axit amin được thay thế, bị làm mất hoặc được bổ sung giữ lại các đặc tính sinh học (ví dụ, ái lực liên kết hoặc hoạt tính tế bào thực thi miễn dịch) của các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên. Trong ngữ cảnh của sáng chế, các quy tắc ký hiệu sau được sử dụng, trừ khi được quy định khác, để mô tả một đột biến; i) sự thay thế axit amin tại một vị trí đã cho được ghi là, ví dụ, K409R có nghĩa là Lysin ở vị trí 409 được thay thế bằng Arginin; và ii) đối với các biến thể đặc hiệu, sử dụng mã ba hoặc một chữ cái cụ thể, bao gồm các mã Xaa và X để biểu thị gốc axit amin bất kỳ. Do đó, Arginin thay thế cho Lysin ở vị trí 409 được ký hiệu là: K409R, hay gốc axit amin bất kỳ thay thế cho Lysin ở vị trí 409 được ký hiệu là K409X. Trường hợp Lysin ở vị trí 409 bị làm mất được biểu thị bằng ký hiệu K409*. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ

thuật có thể tạo ra các biến thể có một hoặc nhiều axit amin được thay thế, bị làm mất hoặc được bổ sung.

Các biến thể này có thể bao gồm: (a) các biến thể trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin được thay thế bằng các axit amin bảo thủ hoặc không bảo thủ, (b) các biến thể trong đó một hoặc nhiều axit amin được bổ sung cho hoặc bị làm mất từ polypeptit, (c) các biến thể trong đó một hoặc nhiều axit amin bao gồm một nhóm thay thế, và (d) các biến thể trong đó polypeptit được dung hợp với peptit hoặc polypeptit khác là đối tác dung hợp, nhãn protein hoặc gốc hóa học khác, chúng có thể mang lại các đặc tính có lợi cho polypeptit như, ví dụ, epitope cho kháng thể, trình tự polyhistiđin, gốc biotin, v.v. Trong bản mô tả này, các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể bao gồm các biến thể trong đó các gốc axit amin từ một loài được thay thế cho gốc tương ứng ở loài khác, ở các vị trí bảo thủ hoặc không được bảo thủ. Trong các phương án khác, các gốc axit amin tại các vị trí không bảo thủ được thay thế bằng các gốc bảo thủ hoặc không bảo thủ. Các kỹ thuật nhằm thu được các biến thể này, bao gồm các kỹ thuật di truyền (làm mất, đột biến, v.v.), kỹ thuật hóa học và kỹ thuật enzym, đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật biết đến.

Các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên trong bản mô tả này có thể bao gồm một số lớp kháng thể, như IgM, IgD, IgG, IgA và IgE. Trong một số phương án, lớp kháng thể là IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4, tốt nhất là IgG1 hoặc IgG4. Tính đặc hiệu của kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của chúng chủ yếu được quyết định bởi cấu trúc và trình tự axit amin của các CDR. Do đó, các CDR của một lớp kháng thể có thể được truyền tới lớp kháng thể khác mà không làm thay đổi tính đặc hiệu của kháng nguyên. Hoặc, các kỹ thuật đã được thiết lập để khiến các tế bào lai chuyển từ sản xuất một lớp kháng thể sang lớp khác (chuyển đổi lớp kháng thể) mà không làm thay đổi tính đặc hiệu của kháng nguyên. Theo đó, các lớp kháng thể này nằm trong phạm vi các kháng thể hoặc đoạn gắn kháng nguyên được mô tả trong bản mô tả này.

Trong bản mô tả này, các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên có các ái lực liên kết đối với CD123 SP1 bao gồm hằng số phân ly (K_D) nhỏ hơn khoảng $5x10^{-7}$ M, tốt hơn là nhỏ hơn khoảng $5x10^{-8}$ M. Trong một số phương án,

các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên được mô tả có các ái lực liên kết đối với CD123 SP2 bao gồm hằng số phân ly (K_D) nhỏ hơn khoảng $5x10^{-7}$ M, tốt hơn là nhỏ hơn khoảng $5x10^{-8}$ M. Ái lực của các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên trong bản mô tả này có thể được xác định bằng nhiều phương pháp khác nhau trong ngành, như các phương pháp cộng hưởng Plasmon bề mặt hoặc phương pháp dựa trên xét nghiệm ELISA. Các xét nghiệm đo ái lực bằng SPR bao gồm các xét nghiệm sử dụng thiết bị BIAcore 3000, trong đó xét nghiệm được thực hiện ở nhiệt độ phòng (ví dụ ở nhiệt độ bằng hoặc gần bằng 25°C), trong đó thu được kháng thể có khả năng liên kết với CD123 trên chip cảm biến BIAcore bằng kháng thể kháng Fc (ví dụ kháng thể đặc hiệu Fc kháng IgG người từ dê, Jackson ImmunoResearch laboratories Prod # 109-005-098) đến khi đạt mức bằng khoảng 75RU, sau đó thu thập các dữ liệu phân ly và kết hợp với lưu lượng bằng 40 µl/phút.

Bản mô tả cũng cung cấp các vectơ chứa các polynucleotit được mô tả tại đây. Các vectơ có thể là vectơ biểu hiện. Do đó, các vectơ biểu hiện tái tổ hợp chứa một trình tự mã hóa popypeptit quan tâm được dự kiến thuộc phạm vi của bản bộc lộ sáng chế này. Vectơ biểu hiện có thể bao gồm một hoặc nhiều trình tự bổ sung như, nhưng không giới hạn trong, các trình tự điều hòa (ví dụ, vùng khởi động, vùng tăng cường), dấu ấn chọn lọc, và tín hiệu polyadenyl hóa. Các vectơ để biến nạp một phạm vi rộng lớn các tế bào chủ đã được biết rộng rãi và bao gồm, nhưng không giới hạn trong, các plasmit, phagemid, cosmid, vi rút Baculo, bacmid, và các nhiễm sắc thể vi khuẩn nhân tạo (BAC), các nhiễm sắc thể nấm men nhân tạo (YAC), và các vectơ vi khuẩn, nấm men và vi rút khác.

Các vectơ biểu hiện tái tổ hợp trong phạm vi bản mô tả bao gồm các mảnh axit nucleic tổng hợp, các mảnh axit nucleic thuộc bộ gen hoặc các mảnh axit nucleic dẫn xuất từ ADN bổ sung mã hóa ít nhất một protein tái tổ hợp có thể liên kết được với các yếu tố điều hòa phù hợp. Các yếu tố điều hòa này có thể bao gồm vùng khởi động phiên mã, các trình tự mã hóa các điểm bám ribô thể của ARN thông tin phù hợp, và các trình tự điều khiển kết thúc dịch mã và phiên mã. Các vectơ biểu hiện, cụ thể là các vectơ biểu hiện của động vật có vú, cũng có thể bao gồm một hoặc nhiều các yếu tố không phiên mã, như gốc sao chép, vùng khởi động hoặc vùng tăng cường phù hợp liên kết với gen được biểu hiện, các trình tự không phiên mã hai bên đầu 5' hoặc 3' khác, các

trình tự không dịch mã đầu 5' hoặc 3' (như các điểm bám ribô thể cần thiết), điểm polyadenyl hóa, vị trí cho và nhận cắt nối, hoặc các trình tự kết thúc phiên mã. Gốc sao chép tạo khả năng sao chép trong vật chủ cũng có thể được bao gồm.

Các trình tự điều khiển phiên mã và dịch mã trong các vectơ biểu hiện sẽ được sử dụng trong các tế bào biến nạp của động vật có xương sống có thể được cung cấp từ các nguồn vi rút. Các vectơ ví dụ có thể được cấu tạo như Okayama và Berg mô tả trong 3 *Mol. Cell. Biol.* (*Sinh học phân tử và tế bào*). 280 (1983).

Trong một số phương án, trình tự mã hóa mảnh gắn kháng nguyên hoặc kháng thể được đặt dưới sự điều khiển của một vùng khởi động cơ định có hiệu lực như các vùng khởi động cho các gen sau: transferaza phosphoribosyl hypoxantin (HPRT), adenosin deaminaza, pyruvat kinaza, beta-actin, myosin người, hemoglobin người, creatin cơ người, và các gen khác. Ngoài ra, có nhiều vùng khởi động của vi rút hoạt động một cách cơ định trong các tế bào nhân thực và phù hợp để sử dụng với các phương án được mô tả. Các vùng khởi động của vi rút bao gồm, nhưng không giới hạn trong, vùng khởi động sớm tức thì của vi rút cytomegalo (CMV), vùng khởi động sớm và muộn của SV40, vùng khởi động của vi rút gây ung thư vú chuột nhắt (MMTV), các đoạn lặp lại đầu dài (LTR) của vi rút bạch cầu Maloney, vi rút gây ra hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải ở người (HIV), vi rút Epstein Barr (EBV), vi rút sarcôm Rous (RSV), và các retrovirus khác, và các vùng khởi động thymiđin kinaza của vi rút herpes đơn dạng. Trong một phương án, trình tự mã hóa kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó được đặt dưới sự điều khiển của một vùng khởi động cảm ứng như vùng khởi động metallothionein, vùng khởi động cảm ứng tetraxyclin, vùng khởi động cảm ứng doxycycline, các vùng khởi động chứa một hoặc nhiều yếu tố đáp ứng kích thích interferon (ISRE) như 2',5-oligoadenylate synthetaza của kinaza protein R, các gen Mx, ADAR1, v.v.

Trong bản mô tả này, các vectơ có thể chứa một hoặc nhiều vị trí tiếp nhận ribô thể bên trong (Internal Ribosome Entry Site, IRES). Việc các vectơ dung hợp chứa một trình tự IRES có thể có lợi trong việc tăng cường biểu hiện của một số protein. Trong một số phương án, hệ vectơ sẽ bao gồm một hoặc nhiều điểm polyadenyl hóa (ví dụ, SV40), các điểm này đứng trước hoặc đứng sau các trình tự axit nucleic đã đề cập ở phần trên. Các thành phần vectơ có thể liên kết tiếp giáp với nhau, hoặc được sắp xếp

sao cho có thể tạo khoảng cách tối ưu để biểu hiện các sản phẩm gen (tức là, bằng cách đưa các nucleotit "đoạn đệm" vào giữa các ORF) hoặc có thể được định vị theo cách khác. Các yếu tố điều hòa, như mô-tip IRES cũng có thể được sắp xếp để tạo khoảng cách tối ưu dành cho biểu hiện.

Các vectơ có thể bao gồm các dấu ấn chọn lọc, điều này đã được biết đến rộng rãi trong ngành. Các dấu ấn chọn lọc bao gồm các dấu ấn chọn lọc dương và các dấu ấn chọn lọc âm, ví dụ, các gen kháng kháng sinh (ví dụ gen kháng neomyxin, gen kháng hygromyxin, gen kháng kanamyxin, gen kháng tetraxyclin, gen kháng penixilin), gen glutamat synthase, các chất dẫn xuất HSV-TK, HSV-TK để chọn lọc ganciclovir, hoặc gen phosphorylaza purin nucleosit của vi khuẩn để chọn 6-methylpurine (Gadi và cộng sự, 7 *Gene Ther*. (*Liệu pháp gen*) 1738-1743 (2000)). Trình tự axit nucleic mã hóa dấu ấn chọn lọc hoặc điểm tách dòng có thể đứng trước hoặc đứng sau trình tự axit nucleic mã hóa polypeptit quan tâm hoặc điểm tách dòng.

Trong bản mô tả này, các vectơ có thể được sử dụng để biến nạp các tế bào khác nhau với các gen mã hóa các kháng thể hay mảnh gắn kháng nguyên đã nêu. Ví dụ, có thể sử dụng các vectơ để tạo các tế bào sản xuất kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên. Do đó, phương án khác mô tả các tế bào chủ biến nạp với các vectơ chứa trình tự axit nucleic mã hóa một kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD123, như các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên đã được mô tả và nêu ví dụ trong bản mô tả này.

Chúng ta đã biết rất nhiều kỹ thuật đưa các gen ngoại lai vào các tế bào, có thể dùng các kỹ thuật này để tạo kết cấu các tế bào tái tổ hợp để thực hiện các phương pháp đã mô tả, theo các phương án khác nhau đã được mô tả và nêu ví dụ trong bản mô tả này. Các kỹ thuật sử dụng phải giúp truyền ổn định trình tự gen không tương đồng đến tế bào chủ, sao cho thế hệ con của tế bào có thể di truyền và biểu hiện trình tự gen không tương đồng này, đồng thời các chức năng sinh lý và phát triển cần thiết của các tế bào nhận không bị gián đoạn. Các kỹ thuật có thể sử dụng bao gồm nhưng không giới hạn trong kỹ thuật vận chuyển nhiễm sắc thể (ví dụ, dung hợp tế bào, vận chuyển gen qua trung gian nhiễm sắc thể, vận chuyển gen qua trung gian vi bào), các phương pháp vật lý (chuyển nhiễm, dung hợp tế bào bị mất vách (spheroplast), vi tiêm, xung điện, chất mang hạt mỡ), vận chuyển vectơ vi rút (ví dụ, các vi rút ADN tái

tổ hợp, các vi rút ARN tái tổ hợp) và phương pháp tương tự (được mô tả trong Cline, 29 *Pharmac.Ther*. (Dược lý học và Điều trị) 69-92 (1985)). Cũng có thể sử dụng kỹ thuật kết tủa canxi phosphat và dung hợp cảm ứng polyetylen glycol (PEG) tế bào vi khuẩn bị mất vách với các tế bào của động vật có vú để biến nạp tế bào.

Các tế bào phù hợp để biểu hiện các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên trong bản mô tả này tốt hơn là các tế bào nhân thực, tốt hơn là các tế bào có nguồn gốc thực vật, động vật gặm nhấm, hay nguồn gốc con người, ví dụ, nhưng không giới hạn trong các tế bào NSO, CHO, CHOK1, perC.6, Tk-ts13, BHK, HEK293, các tế bào COS-7, T98G, CV-1/EBNA, L, các tế bào u tủy C127, 3T3, HeLa, NS1, Sp2/0, và các dòng tế bào BHK, và các loại tế bào khác. Ngoài ra, có thể đạt được biểu hiện của kháng thể bằng cách sử dụng các tế bào lai. Các phương pháp tạo tế bào lai đã được thiết lập trong ngành.

Trong bản mô tả này, các tế bào được biến nạp bằng các vectơ biểu hiện có thể được chọn hoặc sàng lọc để biểu hiện tái tổ hợp các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên đã mô tả. Các tế bào dương tính tái tổ hợp được mở rộng và sàng lọc để tìm kiếm các dòng phụ biểu hiện kiểu hình mong muốn, như các đặc điểm tăng trưởng được tăng cao, các đặc điểm được biểu hiện ở mức cao, hoặc khả năng tạo ra các protein có các đặc trưng hóa sinh mong muốn, ví dụ, bằng cách điều hòa protein hay điều hòa sau dịch mã biến đổi. Có thể đạt được các kiểu hình này dựa vào các đặc tính vốn có của dòng tế bào phụ đã cho hoặc bằng cách đột biến. Các đột biến có thể được tạo bằng cách sử dụng hóa chất, ánh sáng có bước sóng-tia UV, bức xạ, vi rút, tác nhân gây đột biến được chèn vào, ức chế cơ chế sửa chữa lỗi ADN bắt cặp sai, hoặc kết hợp các phương pháp này.

Các phương pháp sử dụng kháng thể đặc hiệu CD123 để điều trị bệnh

Bản mô tả này cung cấp các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên của chúng để sử dụng trong liệu pháp điều trị. Cụ thể, các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên này có thể hữu ích trong điều trị bệnh ung thư, như bệnh ung thư biểu hiện CD123. Theo đó, sáng chế cung cấp phương pháp điều trị bệnh ung thư bao gồm bước cho bệnh nhân sử dụng kháng thể như được mô tả trong bản mô tả này, như các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của nó. Ví dụ, có thể sử dụng kháng thểđể ức chế tác dụng sinh học của IL-3 bằng cách ngăn IL-3 liên kết với

IL-3R hoặc với vị trí mà kháng thể được tiếp hợp với độc tố, từ đó hướng độc tố đến tế bàoung thư biểu hiện CD123. Trong một số phương án, bệnh ung thư biểu hiện CD123 bao gồm bệnh ung thư huyết học, như bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), hội chứng loạn sản tủy xương (MDS, nguy cơ cao hay thấp), bạch cầu lympho bào cấp tính (ALL, tất cả các phân loại), u lympho tế bào B lớn tỏa rộng (DLBCL), bạch cầu tủy bào mạn tính (CML), hoặc u tế bào tua dạng tương bào của nguyên bào (DPDCN). Các kháng thể sử dụng trong các phương pháp này bao gồm các kháng thể được mô tả ở phần trên, ví dụ, kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên liên kết với một epitope bao gồm một hoặc nhiều gốc từ đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 195 - 202 (RARERVYE (SỐ ID TRÌNH TỰ: 234)) và/hoặc đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 156-161 (RKFRYE (SỐ ID TRÌNH TỰ:232)) và/hoặc đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 173 – 178 (TEQVRD (SỐ ID TRÌNH TỰ: 233)). Cũng hữu ích để sử dụng trong các phương pháp này là các kháng thể có các đặc điểm trình bày trong Bảng 1, ví dụ, các CDR hoặc các trình tự miền biến đổi, cũng như trong các phần trình bày khác về chúng.

Trong một số phương án trong bản mô tả này, các đặc tính của tế bào thực thi miễn dịch của kháng thể đặc hiệu CD123 có thể được tăng cường hoặc làm câm bằng cách điều hòa Fc bằng các kỹ thuật được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật biết. Ví dụ, các chức năng của tế bào thực thi Fc như liên kết C1q, gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC), gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC), thực bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCP), giảm biểu hiện thụ thể trên bề mặt tế bào (ví dụ, thụ thể tế bào B; BCR), v.v.. có thể được cung cấp và/hoặc được điều khiển bằng cách điều hòa các gốc trong Fc chịu trách nhiệm cho các hoạt tính này.

"Gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể" hay "ADCC" chỉ sự phản ứng qua trung gian tế bào trong đó các tế bào gây độc tế bào không đặc hiệu biểu hiện thụ thể Fc (FcR) (ví dụ, tế bào sát thủ tự nhiên (NK), bạch cầu trung tính, và đại thực bào) nhận biết được kháng thể được gắn trên tế bào đích và sau đó khiến cho tế bào đích bị ly giải.

Khả năng của các kháng thể đơn dòng gây ra cơ chế ADCC có thể được tăng cường bằng cách kiến tạo thành phần oligosacarit của chúng. IgG1 hoặc IgG3 người

có dạng glycosyl hóa tại vị trí N tại Asn297 với phần lớn polysacarit có dạng hai râu phổ biến G0, G0F, G1, G1F, G2 hoặc G2F. Các kháng thể được tạo ra bằng các tế bào CHO không được kiến tạo thường có hàm lượng đường fucoza trong polysacarit ít nhất bằng khoảng 85%. Việc loại bỏ fucoza lõi từ oligosacarit dạng phức hai râu gắn với vùng Fc sẽ làm tăng cường cơ chế ADCC của kháng thể bằng liên kết Fc.gamma.RIIIa được cải thiện mà không làm thay đổi liên kết kháng nguyên hoặc hoạt tính của CDC. Có thể thu được các kháng thể đơn dòng (mAb) này bằng các phương pháp khác nhau được báo cáo là dẫn tới biểu hiện thành công các kháng thể được khử fucoza hóa tương đối cao mang oligosacarit Fc dạng phức hai râu như đối chứng có hàm lượng molan đồng thẩm áp của môi trường nuôi cấy (Konno và cộng sự, Cytotechnology (Công nghệ tế bào) 64:249-65, 2012), ứng dụng dòng CHO biến thể Lec13 làm dòng tế bào chủ (Shields và cộng sự, J Biol Chem (Tạp chí Sinh hóa học) 277:26733-26740, 2002), ứng dụng dòng CHO biến thể EB66 làm dòng tế bào chủ (Olivier và cộng sự, MAbs (Các kháng thể đơn dòng); 2(4), 2010; Chế bản điện tử trước khi in bản giấy; PMID:20562582), ứng dụng dòng tế bào của tế bào lai của chuột YB2/0 làm dòng tế bào chủ (Shinkawa và cộng sự, J Biol Chem (Tạp chí Sinh hóa học) 278:3466-3473, 2003), đưa ARN can thiệp nhỏ đặc hiệu khánggen.alpha.1,6-fucosyltrasferase (FUT8) (Mori và cộng sự, Biotechnol Bioeng (Công nghệ sinh học và Kỹ thuật sinh học) 88:901-908, 2004), hoặc đồng biểu hiện.beta.-1,4-N-acetylglucosaminyltransferase III và Golgi.alpha.-mannosidase II hoặc chất ức chế alpha-mannosidase I hiệu lực cao, kifunensine (Ferrara và cộng sự, J Biol Chem (Tạp chí Sinh hóa học) 281:5032-5036, 2006, Ferrara và cộng sự, Biotechnol Bioeng (Công nghệ sinh học và Kỹ thuật sinh học) 93:851-861, 2006; Xhou *và cộng sự*, Biotechnol Bioeng (Công nghệ sinh học và Kỹ thuật sinh học) 99:652-65, 2008).

Trong một số phương án trong bản mô tả này, cơ chế ADCC gây ra bởi kháng thể kháng CD123 cũng có thể được tăng cường bởi một số thay thế nhất định trong Fc kháng thể. Các thay thế ví dụ là, ví dụ, các thay thế tại các vị trí axit amin 256, 290, 298, 312, 356, 330, 333, 334, 360, 378 hoặc 430 (việc đánh số gốc theo chỉ mục EU) như được mô tả trong Bằng sáng chế Hoa Kỳ Số 6,737,056.

Các phương pháp phát hiện CD123

Bản mô tả cung cấp các phương pháp phát hiện CD123 trong mẫu sinh học bằng cách cho mẫu tiếp xúc với kháng thể, hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó. Trong bản mô tả này, các mẫu được dẫn xuất từ nước tiểu, máu, huyết thanh, huyết tương, nước bọt, dịch cổ trướng, tế bào tuần hoàn, tế bào khối u tuần hoàn, tế bào không kết hợp với mô (*tức là* tế bào tự do), các mô (ví dụ, các mô khối u cắt bỏ bằng phẫu thuật, mô sinh thiết, bao gồm tế bào chọc hút bằng kim nhỏ), các tiêu bản mô v.v. Trong một số phương án, các phương pháp trong bản mô tả bao gồm phương pháp phát hiện CD123 trong mẫu sinh học bằng cách cho mẫu tiếp xúc với các kháng thể đặc hiệu CD123, hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của nó.

Trong một số phương án, mẫu có thể được tiếp xúc với một hoặc nhiều kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của nó như được mô tả trong bản mô tả này. Ví dụ, mẫu có thể được tiếp xúc với kháng thể đặc hiệu CD123 thứ nhất hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, sau đó tiếp xúc với kháng thể đặc hiệu CD123 thứ hai hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, trong đó kháng thể thứ nhất hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó và kháng thể thứ hai hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó không phải cùng một loại kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên. Trong một số phương án, kháng thể thứ nhất hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó có thể được để trên một bề mặt, như đĩa nhiều lỗ, chip, hay cơ chất tương đương trước khi tiếp xúc với mẫu. Trong một số phương án, kháng thể thứ nhất hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó có thể không được để trên, hay đi kèm với bất kỳ vật gì trước khi tiếp xúc với mẫu.

Các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên được mô tả trong bản mô tả này có thể được gắn nhãn để dễ phát hiện. Trong một số phương án, các kháng thể được gắn nhãn và các mảnh gắn kháng nguyên có thể hỗ trợ phát hiện CD123 bằng các phương pháp đã nêu trong bản mô tả. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật đã biết nhiều loại nhãn như thế này. Ví dụ, các nhãn phù hợp bao gồm, nhưng không giới hạn trong chất đồng vị phóng xạ, nhãn huỳnh quang, nhãn epitope, bioti, nhãn nhóm mang màu, nhãn ECL, hay enzym. Cụ thể hơn, các nhãn trong bản mô tả bao gồm ruteni, ^{111}In-DOTA, ^{111}In- axit diethylenetriaminepentaacetic (DTPA), peroxyđaza ở cây cải ngựa, phosphataza kiềm và beta-galactosiđaza, poly-histiđin (nhãn HIS tag), thuốc

nhuộm acriđin, thuốc nhuộm xyanin, thuốc nhuộm flo, thuốc nhuộm oxazin, thuốc nhuộm phenanthridine, thuốc nhuộm rođamin, thuốc nhuộm Alexa Fluor®, v.v.

Các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên trong bản mô tả có thể được sử dụng trong nhiều loại xét nghiệm khác nhau để phát hiện CD123 trong mẫu sinh học. Một số xét nghiệm phù hợp bao gồm, nhưng không giới hạn trong phân tích lai thấm protein (western blot analysis), xét nghiệm miễn dịchdùng đồng vịphóng xạ, cộng hưởng Plasmon bề mặt, xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang, kết tủa miễn dịch, thẩm tách cân bằng, khuếch tán miễn dịch, xét nghiệm miễn dịch điện hóa phát quang (ECL), hóa mô miễn dịch, phân loại tế bào hoạt hóa huỳnh quang (FACS) hoặc xét nghiệm ELISA.

Trong một số phương án trong bản mô tả này, việc phát hiện các tế bào ung thư biểu hiện CD123 ở đối tượng có thể được sử dụng để xác định đối tượng có thể được điều trị bằng một loại thuốc điều trị định hướng kháng CD123.

CD123 có mặt ở mức có thể phát hiện trong các mẫu máu và huyết thanh. Do đó, bản mô tả cung cấp các phương pháp phát hiện CD123 trong mẫu sinh học dẫn xuất từ máu, như mẫu huyết thanh, bằng cách cho mẫu tiếp xúc với kháng thể liên kết đặc hiệu với CD123, hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó. Mẫu máu, hoặc dẫn xuất của nó, có thể được pha loãng, cất phân đoạn, hoặc được xử lý thêm để tạo ra một mẫu để có thể thực hiện phương pháp được mô tả trên đây. Trong một số phương án, có thể phát hiện CD123 trong mẫu máu, hoặc dẫn xuất của nó bằng các xét nghiệm bất kỳ đã biết trong ngành, nhưng không giới hạn trong các xét nghiệm sau: phân tích lai thấm protein (western blot analysis), xét nghiệm miễn dịchdùng đồng vịphóng xạ, cộng hưởng Plasmon bề mặt, xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang, kết tủa miễn dịch, thẩm tách cân bằng, khuếch tán miễn dịch, xét nghiệm miễn dịch điện hóa phát quang (ECL), hóa mô miễn dịch, phân loại tế bào hoạt hóa huỳnh quang (FACS) hoặc xét nghiệm ELISA.

Các phương pháp chẩn đoán bệnh ung thư

Bản mô tả này cũng trình bày các phương pháp chẩn đoán bệnh ung thư biểu hiện CD123 ở đối tượng. Trong một số phương án, bệnh ung thư biểu hiện CD123 bao gồm các bệnh ung thư huyết học, như bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), hội chứng loạn sản tủy xương (MDS, nguy cơ cao hay thấp), bạch cầu lympho bào

cấp tính (ALL, tất cả các phân loại), u lympho tế bào B lớn tỏa rộng (DLBCL), bạch cầu tủy bào mạn tính (CML), hoặc u tế bào tua dạng tương bào của nguyên bào (DPDCN). Trong một số phương án, như được mô tả ở phần trên, việc phát hiện CD123 trong mẫu sinh học như mẫu máu hay mẫu huyết thanh, đã mang lại khả năng chẩn đoán bệnh ung thư ở đối tượng cho mẫu. Hoặc, trong một số phương án, các mẫu khác như mẫu mô học, mẫu tế bào chọc hút bằng kim nhỏ, mô khối u cắt bỏ, tế bào tuần hoàn, tế bào khối u tuần hoàn, v.v., có thể được sử dụng để đánh giá liệu đối tượng cho mẫu có mắc ung thư hay không. Trong một số phương án, có thể đã biết đối tượng cho mẫu mắc bệnh ung thư, nhưng loại ung thư có thể chưa được chẩn đoán hoặc chẩn đoán ban đầu có thể chưa rõ ràng, thì việc phát hiện CD123 trong mẫu sinh học lấy từ đối tượng có thể cho phép, hoặc giải thích, việc chẩn đoán ung thư. Ví dụ, có thể đã biết đối tượng mắc bệnh ung thư, nhưng có thể chưa biết hoặc chưa biết rõ bệnh ung thư đó có phải là ung thư biểu hiện CD123 hay không.

Trong một số phương án, các phương pháp được mô tả có liên quan đến bước đánh giá liệu đối tượng có đang mắc ung thư biểu hiện CD123 hay không bằng cách xác định lượng CD123 có trong mẫu sinh học lấy từ đối tượng; và bước so sánh lượng CD123 quan sát được với lượng CD123 trong mẫu đối chứng, hoặc mẫu tham chiếu, trong đó sự chênh lệch giữa lượng CD123 trong mẫu lấy từ đối tượng và lượng CD123 trong mẫu đối chứng, hoặc mẫu tham chiếu là chỉ báo cho biết đối tượng có đang mắc ung thư biểu hiện CD123 hay không. Trong phương án khác, có thể so sánh lượng CD123 quan sát được trong mẫu sinh học lấy từ đối tượng với các mức CD123 có liên quan đến một số dạng hoặc giai đoạn ung thư nhất định, để xác định dạng hoặc giai đoạn của bệnh ung thư của đối tượng. Trong một số phương án, lượng CD123 trong mẫu lấy từ đối tượng được đánh giá bằng cách cho mẫu tiếp xúc với kháng thể liên kết miễn dịch đặc hiệu với CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, như các kháng thể đặc hiệu CD123 được mô tả trong bản mô tả này. Mẫu được đánh giá về sự có mặt của CD123 có thể được dẫn xuất từ nước tiểu, máu, huyết thanh, huyết tương, nước bọt, dịch cổ trướng, tế bào tuần hoàn, tế bào khối u tuần hoàn, tế bào không kết hợp với mô (*tức là* tế bào tự do), các mô (ví dụ, các mô khối u cắt bỏ bằng phẫu thuật, mô sinh thiết, bao gồm tế bào chọc hút bằng kim nhỏ), các tiêu bản mô v.v. Trong một số phương án, bệnh ung thư biểu hiện CD123 bao gồm bệnh ung thư huyết học, như bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), hội chứng

loạn sản tủy xương (MDS, nguy cơ cao hay thấp), bạch cầu lympho bào cấp tính (ALL, tất cả các phân loại), u lympho tế bào B lớn tỏa rộng (DLBCL), bạch cầu tủy bào mạn tính (CML), hoặc u tế bào tua dạng tương bào của nguyên bào (DPDCN). Trong một số phương án, đối tượng là con người.

Trong một số phương án, phương pháp chẩn đoán bệnh ung thư biểu hiện CD123 sẽ bao gồm: bước cho mẫu sinh học của đối tượng tiếp xúc với kháng thể đặc hiệu CD123, hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó (như các loại dẫn xuất từ các kháng thể và mảnh kháng thể trong Bảng 1), bước định lượng CD123 có trong mẫu liên kết với kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, bước so sánh lượng CD123 có trong mẫu với một tiêu chuẩn đã biết hoặc mẫu tham chiếu; và bước xác định liệu mức CD123 của đối tượng có rơi vào trong phạm vi các mức CD123 liên quan đến bệnh ung thư hay không. Trong một phương án bổ sung, phương pháp chẩn đoán có thể có thêm bước cho sử dụng hoặc kê đơn một loại thuốc điều trị ung thư đặc hiệu. Trong phương án khác, phương pháp chẩn đoán có thể có thêm bước chuyển kết quả xác định để hỗ trợ việc điều trị bệnh ung thư. Trong một số phương án, thuốc điều trị ung thư đặc hiệu có thể được định hướng kháng các bệnh ung thư biểu hiện CD123, như các kháng thể đa đặc hiệu CD123 x CD3 như được mô tả trong bản mô tả này.

Trong một số phương án, các phương pháp được mô tả có liên quan đến bước đánh giá liệu đối tượng có đang mắc ung thư biểu hiện CD123 hay không bằng cách xác định lượng CD123 có trong mẫu máu hoặc huyết thanh lấy từ đối tượng; và bước so sánh lượng CD123 quan sát được với lượng CD123 trong mẫu đối chứng, hoặc mẫu tham chiếu, trong đó sự chênh lệch giữa lượng CD123 trong mẫu lấy từ đối tượng và lượng CD123 trong mẫu đối chứng, hoặc mẫu tham chiếu là chỉ báo cho biết đối tượng có đang mắc ung thư biểu hiện CD123 hay không.

Trong một số phương án, mẫu đối chứng, hoặc mẫu tham chiếu có thể được lấy từ đối tượng không mắc bệnh ung thư biểu hiện CD123. Trong một số phương án, mẫu đối chứng, hoặc mẫu tham chiếu có thể được lấy từ đối tượng mắc bệnh ung thư biểu hiện CD123. Trong một số phương án, trong đó mẫu đối chứng, hoặc mẫu tham chiếu được lấy từ đối tượng không mắc bệnh ung thư biểu hiện CD123, khi lượng CD123 quan sát được trong mẫu thử tăng so với mức quan sát được trong mẫu đối chứng, hoặc mẫu tham chiếu, thì mức tăng này sẽ là chỉ báo rằng đối tượng đang

được đánh giá đã bị mắc bệnh ung thư biểu hiện CD123. Trong một số phương án, trong đó mẫu đối chứng được lấy từ đối tượng không mắc bệnh ung thư biểu hiện CD123, khi lượng CD123 quan sát được trong mẫu thử giảm hoặc bằng so với mức quan sát được trong mẫu đối chứng, hoặc mẫu tham chiếu, thì mức giảm hoặc bằng này sẽ là chỉ báo rằng đối tượng đang được đánh giá không bị mắc bệnh ung thư biểu hiện CD123. Trong một số phương án, trong đó mẫu đối chứng, hoặc mẫu tham chiếu được lấy từ đối tượng mắc bệnh ung thư biểu hiện CD123, khi lượng CD123 quan sát được trong mẫu thử tương tự so với mức quan sát được trong mẫu đối chứng, hoặc mẫu tham chiếu, thì mức tương tự này sẽ là chỉ báo rằng đối tượng đang được đánh giá đã bị mắc bệnh ung thư biểu hiện CD123. Trong một số phương án, trong đó mẫu đối chứng, hoặc mẫu tham chiếu được lấy từ đối tượng mắc bệnh ung thư biểu hiện CD123, khi lượng CD123 quan sát được trong mẫu thử giảm so với mức quan sát được trong mẫu đối chứng, hoặc mẫu tham chiếu, thì mức giảm này sẽ là chỉ báo rằng đối tượng đang được đánh giá không bị mắc bệnh ung thư biểu hiện CD123.

Trong một số phương án, lượng CD123 trong mẫu sinh học lấy từ đối tượng được đánh giá bằng cách cho mẫu tiếp xúc với kháng thể liên kết đặc hiệu với CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, như các kháng thể được mô tả trong bản mô tả này. Mẫu được đánh giá về sự có mặt của CD123 có thể được dẫn xuất từ mẫu máu, mẫu huyết thanh, tế bào tuần hoàn, tế bào khối u tuần hoàn, tế bào không kết hợp với mô (*tức là* tế bào tự do), các mô (ví dụ, các mô khối u cắt bỏ bằng phẫu thuật, mô sinh thiết, bao gồm tế bào chọc hút bằng kim nhỏ), các tiêu bản mô v.v.

Trong các phương án khác nhau, lượng CD123 được xác định bằng cách cho mẫu tiếp xúc với kháng thể liên kết đặc hiệu với CD123, hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó. Trong một số phương án, mẫu có thể được tiếp xúc với một hoặc nhiều loại kháng thể liên kết đặc hiệu với CD123, hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó. Trong một số phương án, mẫu có thể được tiếp xúc với kháng thể liên kết đặc hiệu CD123 thứ nhất hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, sau đó tiếp xúc với kháng thể liên kết đặc hiệu CD123 thứ hai hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó. Các kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc các mảnh gắn kháng nguyên như được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng trong khả năng này.

Có thể sử dụng các kết hợp khác nhau của các kháng thể đặc hiệu CD123 và các mảnh gắn kháng nguyên để cung cấp kháng thể "thứ nhất" và "thứ hai" hoặc các mảnh gắn kháng nguyên để thực hiện các phương pháp chẩn đoán đã nêu. Trong một số phương án, bệnh ung thư biểu hiện CD123 bao gồm bệnh ung thư huyết học, như bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), hội chứng loạn sản tủy xương (MDS, nguy cơ cao hay thấp), bạch cầu lympho bào cấp tính (ALL, tất cả các phân loại), u lympho tế bào B lớn tỏa rộng (DLBCL), bạch cầu tủy bào mạn tính (CML), hoặc u tế bào tua dạng tương bào của nguyên bào (DPDCN).

Trong một số phương án, lượng CD123 được xác định bằng phương pháp phân tích lai thấm protein (western blot analysis), xét nghiệm miễn dịchdùng đồng viphóng xạ, xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang, kết tủa miễn dịch, thẩm tách cân bằng, khuếch tán miễn dịch, xét nghiệm miễn dịch điện hóa phát quang (ECL), hóa mô miễn dịch, phân loại tế bào hoạt hóa huỳnh quang (FACS) hoặc xét nghiệm ELISA.

Trong các phương án khác nhau về các phương pháp chẩn đoán đã mô tả, mẫu đối chứng hoặc mẫu tham chiếu được sử dụng. Mẫu này có thể là mẫu đối chứng xét nghiệm dương tính hoặc âm tính đảm bảo xét nghiệm sử dụng được thực hiện đúng; ví dụ, đối chứng xét nghiệm như vậy có thể được sử dụng chung cho các xét nghiệm hóa mô miễn dịch. Hoặc, mẫu có thể là một tham chiếu chuẩn hóa cho lượng CD123 trong mẫu sinh học lấy từ một đối tượng khỏe mạnh. Trong một số phương án, có thể so sánh mức CD123 quan sát được của đối tượng thử nghiệm với mức CD123 quan sát được trong các mẫu lấy từ các đối tượng đã biết là mắc bệnh ung thư biểu hiện CD123. Trong một số phương án, đối tượng đối chứng có thể bị mắc một bệnh ung thư cụ thể. Trong một số phương án, đối tượng đối chứng được biết là đã bị mắc bệnh ung thư giai đoạn sớm, bệnh ung thư này có thể không phải hoặc có thể là bệnh ung thư biểu hiện CD123. Trong một số phương án, đối tượng đối chứng được biết là đã bị mắc bệnh ung thư giai đoạn giữa, bệnh ung thư này có thể không phải hoặc có thể là bệnh ung thư biểu hiện CD123. Trong một số phương án, đối tượng đối chứng được biết là đã bị mắc bệnh ung thư giai đoạn cuối, bệnh ung thư này có thể không phải hoặc có thể là bệnh ung thư biểu hiện CD123.

Các phương pháp theo dõi bệnh ung thư

Bản mô tả này cũng trình bày các phương pháp theo dõi bệnh ung thư biểu hiện CD123 ở đối tượng. Trong một số phương án, bệnh ung thư biểu hiện CD123 bao gồm bệnh ung thư huyết học, như bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), hội chứng loạn sản tủy xương (MDS, nguy cơ cao hay thấp), bạch cầu lympho bào cấp tính (ALL, tất cả các phân loại), u lympho tế bào B lớn tỏa rộng (DLBCL), bạch cầu tủy bào mạn tính (CML), hoặc u tế bào tua dạng tương bào của nguyên bào (DPDCN). Trong một số phương án, các phương pháp được mô tả có liên quan đến bước đánh giá liệu bệnh ung thư biểu hiện CD123 đang tiến triển, đang thoái lui hay trong tình trạng ổn định bằng cách xác định lượng CD123 có trong mẫu thử lấy từ đối tượng; và bước so sánh lượng CD123 quan sát được với lượng CD123 trong mẫu sinh học lấy được bằng cách tương tự từ đối tượng ở một thời điểm trước đó, trong đó sự chênh lệch giữa lượng CD123 trong mẫu thử và trong mẫu lấy trước đó là chỉ báo cho biết bệnh ung thư đang tiến triển, đang thoái lui hay đang trong tình trạng ổn định. Về vấn đề này, mẫu thử có lượng CD123 tăng so với lượng quan sát được ở mẫu lấy từ trước có thể chỉ báo sự tiến triển của bệnh ung thư biểu hiện CD123. Ngược lại, mẫu thử có lượng CD123 giảm so với lượng quan sát được ở mẫu lấy từ trước có thể chỉ báo sự thoái lui của bệnh ung thư biểu hiện CD123.

Theo đó, mẫu thử có lượng CD123 chênh lệch không đáng kể so với lượng quan sát được ở mẫu lấy từ trước có thể chỉ báo tình trạng ổn định của bệnh ung thư biểu hiện CD123. Trong một số phương án, lượng CD123 trong mẫu sinh học lấy từ đối tượng được đánh giá bằng cách cho mẫu tiếp xúc với kháng thể liên kết đặc hiệu với CD123 hoặc mảnh kháng thể của nó, như các kháng thể được mô tả trong bản mô tả này. Mẫu được đánh giá về sự có mặt của CD123 có thể được dẫn xuất từ nước tiểu, máu, huyết thanh, huyết tương, nước bọt, dịch cổ trướng, tế bào tuần hoàn, tế bào khối u tuần hoàn, tế bào không kết hợp với mô (tức là tế bào tự do), các mô (ví dụ, các mô khối u cắt bỏ bằng phẫu thuật, mô sinh thiết, bao gồm tế bào chọc hút bằng kim nhỏ), các tiêu bản mô v.v. Trong một số phương án, đối tượng là con người.

Trong một số phương án, phương pháp theo dõi bệnh ung thư biểu hiện CD123 sẽ bao gồm: bước cho mẫu sinh học của đối tượng tiếp xúc với kháng thể đặc hiệu CD123, hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó (như các loại dẫn xuất từ các kháng thể và mảnh kháng thể trong Bảng 1), bước định lượng CD123 có trong mẫu, bước so sánh lượng CD123 có trong mẫu với lượng CD123 xác định được trong mẫu sinh học lấy được bằng

cách tương tự từ cùng một đối tượng ở thời điểm sớm hơn; và bước xác định mức CD123 của đối tượng có thay đổi theo thời gian hay không. Mẫu thử có lượng CD123 tăng so với lượng quan sát được ở mẫu lấy từ trước có thể chỉ báo sự tiến triển của bệnh ung thư. Ngược lại, mẫu thử có lượng CD123 giảm so với lượng quan sát được ở mẫu lấy từ trước có thể chỉ báo sự thoái lui của bệnh ung thư biểu hiện CD123. Theo đó, mẫu thử có lượng CD123 chênh lệch không đáng kể so với lượng quan sát được ở mẫu lấy từ trước có thể chỉ báo tình trạng ổn định của bệnh ung thư biểu hiện CD123. Trong một số phương án, chỉ cần so sánh các mức CD123 của mẫu với chuẩn đã biết hoặc mẫu tham chiếu, hoặc có thể so sánh thêm với các mức CD123 quan sát được của mẫu được đánh giá ở thời điểm sớm hơn. Trong một phương án bổ sung, phương pháp chẩn đoán có thể có thêm bước cho sử dụng một loại thuốc điều trị ung thư đặc hiệu. Trong một số phương án, thuốc điều trị ung thư đặc hiệu có thể được định hướng kháng các bệnh ung thư biểu hiện CD123, như các kháng thể đa đặc hiệu CD123 x CD3 như được mô tả trong bản mô tả này.

Trong các phương án khác nhau, lượng CD123 được xác định bằng cách cho mẫu tiếp xúc với kháng thể liên kết đặc hiệu với CD123, hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó. Trong một số phương án, mẫu có thể được tiếp xúc với một hoặc nhiều loại kháng thể liên kết đặc hiệu với CD123, hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó. Trong một số phương án, mẫu có thể được tiếp xúc với kháng thể liên kết đặc hiệu CD123 thứ nhất hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, sau đó tiếp xúc với kháng thể liên kết đặc hiệu CD123 thứ hai hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó. Các kháng thể như được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng trong khả năng này.

Có thể sử dụng các kết hợp khác nhau của các kháng thể và các mảnh gắn kháng nguyên như trong Bảng 1 để cung cấp kháng thể "thứ nhất" và "thứ hai" hoặc các mảnh gắn kháng nguyên để thực hiện các phương pháp theo dõi đã nêu. Trong một số phương án, bệnh ung thư biểu hiện CD123 bao gồm bệnh ung thư huyết học, như bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), hội chứng loạn sản tủy xương (MDS, nguy cơ cao hay thấp), bạch cầu lympho bào cấp tính (ALL, tất cả các phân loại), u lympho tế bào B lớn tỏa rộng (DLBCL), bạch cầu tủy bào mạn tính (CML), hoặc u tế bào tua dạng tương bào của nguyên bào (DPDCN).

Trong một số phương án, lượng CD123 được xác định bằng phương pháp phân tích lai thấm protein (western blot analysis), xét nghiệm miễn dịchdùng đồng

viphóng xạ, xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang, kết tủa miễn dịch, thẩm tách cân bằng, khuếch tán miễn dịch, xét nghiệm miễn dịch điện hóa phát quang (ECL), hóa mô miễn dịch, phân loại tế bào hoạt hóa huỳnh quang (FACS) hoặc xét nghiệm ELISA.

Kit phát hiện CD123

Bản mô tả còn cung cấp các kit phát hiện CD123 trong mẫu sinh học. Các kit này bao gồm một hoặc nhiều các kháng thể đặc hiệu CD123 đã mô tả, hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng, và các hướng dẫn sử dụng kit.

Kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên được mô tả có thể có dạng dung dịch; dạng đông khô; được để trên cơ chất, chất mang hoặc đĩa; hoặc được gắn nhãn để dễ phát hiện.

Các kit được mô tả cũng có thể bao gồm các thành phần bổ sung hữu ích cho việc thực hiện các phương pháp đã nêu. Ví dụ, các kit có thể bao gồm các phương tiện lấy mẫu từ đối tượng, mẫu đối chứng hay mẫu tham chiếu, ví dụ, mẫu từ đối tượng mắc bệnh ung thư tiến triển chậm và/hoặc đối tượng không mắc ung thư, một hoặc nhiều ngăn chứa mẫu, và/hoặc tài liệu hướng dẫn mô tả cách thực hiện phương pháp của sáng chế và các đối chứng hoặc tiêu chuẩn đặc hiệu mô.

Các phương tiện xác định mức CD123 còn bao gồm, ví dụ, các dung dịch đệm hoặc các thuốc thử khác để sử dụng trong xét nghiệm xác định mức CD123. Các hướng dẫn có thể là, ví dụ, các tài liệu in hướng dẫn thực hiện xét nghiệm và/hoặc hướng dẫn đánh giá mức biểu hiện CD123.

Các kit đã nêu còn có thể bao gồm các phương tiện sử dụng để phân lập mẫu từ đối tượng. Các phương tiện này có thể bao gồm một hoặc nhiều dụng cụ hoặc thuốc thử được sử dụng để lấy chất lỏng hoặc mô từ đối tượng. Các phương tiện lấy mẫu từ đối tượng cũng có thể bao gồm các phương tiện phân lập các thành phần máu, như huyết thanh, từ mẫu máu. Tốt nhất là, kit được thiết kế để sử dụng cho đối tượng là con người.

Các kháng thể đa hiệu

Các miền liên kết của các kháng thể kháng CD123 được mô tả trong bản mô tả này nhận biết được các tế bào biểu hiện CD123 trên bề mặt của chúng. Như đã lưu ý ở phần trên, biểu hiện CD123 có thể là chỉ báo của tế bào ung thư. Có thể nhằm đích đặc

hiệu hơn đến các tập hợp con của các tế bào bằng cách tạo các phân tử đặc hiệu đôi, như các kháng thể hoặc mảnh kháng thể liên kết với CD123 và với đích khác. Các ví dụ về các đích khác này bao gồm CD3 và CD33. Thực hiện điều này bằng cách tạo một phân tử bao gồm vùng thứ nhất liên kết với CD123 và vùng liên kết thứ hai liên kết với kháng nguyên khác. Các vùng liên kết với kháng nguyên có thể có định dạng bất kỳ cho phép nhận dạng đặc hiệu đích, ví dụ, vùng liên kết có thể là hoặc có thể bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng hoặc Fv (kết hợp vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ). Theo đó, bản mô tả cung cấp các phân tử đặc hiệu đôi bao gồm hai vùng liên kết kháng nguyên khác nhau lần lượt liên kết với CD123 và kháng nguyên khác.

Một số trong các kháng thể đa hiệu được mô tả trong bản mô tả này bao gồm hai vùng liên kết kháng nguyên khác nhau lần lượt liên kết với CD123 và CD3. Trong các phương án ưu tiên, các kháng thể đa hiệu liên kết với CD123 và CD3 ("các kháng thể đa hiệu CD123 x CD3") và các mảnh gắn kháng nguyên đa hiệu của chúng được cung cấp. Trong một số phương án, các kháng thể đa hiệu CD123 và CD3 bao gồm chuỗi nặng thứ nhất (HC1) và chuỗi nhẹ thứ nhất (LC1) bắt cặp để tạo điểm gắn kháng nguyên thứ nhất liên kết miễn dịch đặc hiệu với CD123, và chuỗi nặng thứ hai (HC2) và chuỗi nhẹ thứ hai (LC2) bắt cặp để tạo điểm gắn kháng nguyên thứ hai liên kết miễn dịch đặc hiệu với CD3. Trong một số phương án ưu tiên, các kháng thể đa hiệu CD123 và CD3 là kháng thể đặc hiệu đôi bao gồm nhánh đặc hiệu CD123 chứa chuỗi nặng thứ nhất (HC1) và chuỗi nhẹ thứ nhất (LC1) bắt cặp để tạo điểm gắn kháng nguyên thứ nhất liên kết miễn dịch đặc hiệu với CD123, và nhánh đặc hiệu CD3 chứa chuỗi nặng thứ hai (HC2) và chuỗi nhẹ thứ hai (LC2) bắt cặp để tạo điểm gắn kháng nguyên thứ hai liên kết miễn dịch đặc hiệu với CD3. Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu đôi của sáng chế bao gồm các kháng thể có cấu trúc kháng thể đầy đủ chiều dài. Trong bản mô tả này, "kháng thể đầy đủ chiều dài" chỉ một kháng thể có hai chuỗi nặng kháng thể đầy đủ chiều dài và hai chuỗi nhẹ kháng thể đầy đủ chiều dài. Một chuỗi nặng (HC) kháng thể đầy đủ chiều dài bao gồm các miền biến đổi và miền hằng định chuỗi nặng là VH, CHI, CH2, và CH3. Một chuỗi nhẹ (LC) kháng thể đầy đủ chiều dài bao gồm các miền biến đổi và miền hằng định chuỗi nhẹ là VL và CL. Kháng thể đầy đủ chiều dài có thể thiếu lysin đầu C (K) trong một hoặc cả hai chuỗi nặng. Thuật ngữ "nhánh Fab" hay

"nửa phân tử" chỉ một cặp chuỗi nặng-chuỗi nhẹ liên kết đặc hiệu với một kháng nguyên.

Nhánh liên kết CD123 của các kháng thể đa hiệu cung cấp trong bản mô tả này có thể được dẫn xuất từ các kháng thể đặc hiệu CD123 bất kỳ đã nêu ở phần trên. Trong một số phương án, nhánh liên kết CD123 liên kết với một epitope bao gồm một hoặc nhiều gốc từ (i) đoạn miền ngoại bào ECD của CD123 SP2 bao gồm các gốc 195 - 202 (RARERVYE (SỐ ID TRÌNH TỰ: 234)) và/hoặc đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 156-161 (RKFRYE (SỐ ID TRÌNH TỰ:232)) và/hoặc đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 173 – 178 (TEQVRDR (SỐ ID TRÌNH TỰ: 233) hoặc (ii) đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 164 - 175 (IQKRMQPVITEQ (SỐ ID TRÌNH TỰ: 228)) và/hoặc đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 184-189 (LLNPGT (SỐ ID TRÌNH TỰ: 229)). Trong một số phương án, nhánh liên kết CD123 cạnh tranh để liên kết với CD123 với một kháng thể đặc hiệu CD123 hoặc mảnh gắn kháng nguyên liên kết với một epitope bao gồm một hoặc nhiều gốc từ (i) đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 195 - 202 (RARERVYE (SỐ ID TRÌNH TỰ: 234)) và/hoặc đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 156-161 (RKFRYE (SỐ ID TRÌNH TỰ:232 và/hoặc đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 173 – 178 (TEQVRDR (SỐ ID TRÌNH TỰ: 233)) hoặc (ii) đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 164 - 175 (IQKRMQPVITEQ (SỐ ID TRÌNH TỰ: 228)) và/hoặc đoạn ECD CD123 SP2 bao gồm các gốc 184-189 (LLNPGT (SỐ ID TRÌNH TỰ: 229)). Nhánh liên kết CD123 liên kết với ít nhất một gốc trong các epitope này cũng có thể liên kết với các gốc khác trong ECD CD123. Trong một số phương án, nhánh liên kết CD123 có tính trung hòa. Nhánh liên kết CD123 trung hòa bao gồm các loại có khả năng ức chế sự liên kết của IL-3 với CD123 như được xác định bằng cách đo mức giảm trong sự phosphoryl hóa STAT5 sau khi kích thích các tế bào TF-1 bằng rhIL-3. Trong một số phương án về kháng thể đặc hiệu đôi, nhánh liên kết CD123 liên kết với CD123 SP1 người, tốt nhất là với miền ngoại bào của nó.

Trong một số phương án mẫu về các nhánh liên kết CD123 SP1 này, vùng gắn kháng nguyên thứ nhất liên kết với CD123 bao gồm chuỗi nặng CDR1, CDR2, và CDR3 dẫn xuất từ dòng kháng thể như được mô tả trong Bảng 1. Trong một số phương án mẫu về các nhánh liên kết CD123 SP1 này, vùng gắn kháng nguyên thứ nhất liên kết với

CD123 bao gồm chuỗi nặng CDR1, CDR2, và CDR3 và chuỗi nhẹ CDR1, CDR2, và CDR3 dẫn xuất từ dòng kháng thể như được mô tả trong Bảng 1. Trong một số phương án mẫu về các nhánh liên kết CD123 SP1 này, vùng gắn kháng nguyên thứ nhất liên kết với CD123 bao gồm chuỗi nặng CDR1, CDR2, và CDR3 của dòng I3RB1, I3RB2, I3RB5, I3RB6, I3RB7, I3RB8, I3RB9, I3RB11, I3RB12, I3RB16, I3RB17, I3RB18, I3RB19, I3RB20, I3RB21, I3RB22, I3RB24, I3RB28, I3RB29, I3RB30, I3RB32, I3RB33, I3RB34, I3RB35, I3RB36, I3RB37, I3RB38, I3RB40, hoặc I3RB47. Trong một số phương án mẫu về các nhánh liên kết CD123 SP1 này, vùng gắn kháng nguyên thứ nhất liên kết với CD123 bao gồm chuỗi nặng CDR1, CDR2, và CDR3 và chuỗi nhẹ CDR1, CDR2, và CDR3 của dòng I3RB1, I3RB2, I3RB5, I3RB6, I3RB7, I3RB8, I3RB9, I3RB11, I3RB12, I3RB16, I3RB17, I3RB18, I3RB19, I3RB20, I3RB21, I3RB22, I3RB24, I3RB28, I3RB29, I3RB30, I3RB32, I3RB33, I3RB34, I3RB35, I3RB36, I3RB37, I3RB38, I3RB40, hoặc I3RB47. Trong một số phương án mẫu về các nhánh liên kết CD123 SP1 này, vùng gắn kháng nguyên thứ nhất liên kết với CD123 bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng dẫn xuất từ dòng kháng thể như được mô tả trong Bảng 1. Trong một số phương án mẫu về các nhánh liên kết CD123 SP1 này, vùng gắn kháng nguyên thứ nhất liên kết với CD123 bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ dẫn xuất từ dòng kháng thể như được mô tả trong Bảng 1. Trong một số phương án mẫu về các nhánh liên kết CD123 SP1 này, vùng gắn kháng nguyên thứ nhất liên kết với CD123 bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng của dòng I3RB1, I3RB2, I3RB5, I3RB6, I3RB7, I3RB8, I3RB9, I3RB11, I3RB12, I3RB16, I3RB17, I3RB18, I3RB19, I3RB20, I3RB21, I3RB22, I3RB24, I3RB28, I3RB29, I3RB30, I3RB32, I3RB33, I3RB34, I3RB35, I3RB36, I3RB37, I3RB38, I3RB40, hoặc I3RB47. Trong một số phương án mẫu về các nhánh liên kết CD123 SP1 này, vùng gắn kháng nguyên thứ nhất liên kết với CD123 bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của dòng I3RB1, I3RB2, I3RB5, I3RB6, I3RB7, I3RB8, I3RB9, I3RB11, I3RB12, I3RB16, I3RB17, I3RB18, I3RB19, I3RB20, I3RB21, I3RB22, I3RB24, I3RB28, I3RB29, I3RB30, I3RB32, I3RB33, I3RB34, I3RB35, I3RB36, I3RB37, I3RB38, I3RB40, hoặc I3RB47.

Trong một số phương án về kháng thể đặc hiệu đôi, nhánh liên kết CD123 liên kết với CD123 SP2 người, tốt nhất là với miền ngoại bào của nó. Trong một số phương án ưu tiên về các kháng thể đặc hiệu đôi, nhánh liên kết CD123 liên kết với

CD123 SP1 người và CD123 SP2 người, và tốt nhất là với các miền ngoại bào của nó. Trong một số phương án mẫu về các nhánh liên kết CD123 SP2 này, vùng gắn kháng nguyên thứ nhất liên kết với CD123 bao gồm chuỗi nặng CDR1, CDR2, và CDR3 của dòng I3RB1, I3RB2, I3RB5, I3RB18, I3RB19, hoặc I3RB30. Trong một số phương án mẫu về các nhánh liên kết CD123 SP2 này, vùng gắn kháng nguyên thứ nhất liên kết với CD123 bao gồm chuỗi nặng CDR1, CDR2, và CDR3 và chuỗi nhẹ CDR1, CDR2, và CDR3 của dòng I3RB1, I3RB2, I3RB5, I3RB18, I3RB19, hoặc I3RB30. Trong một số phương án mẫu về các nhánh liên kết CD123 SP2 này, vùng gắn kháng nguyên thứ nhất liên kết với CD123 bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng của dòng I3RB1, I3RB2, I3RB5, I3RB18, I3RB19, hoặc I3RB30. Trong một số phương án mẫu về các nhánh liên kết CD123 SP2 này, vùng gắn kháng nguyên thứ nhất liên kết với CD123 bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ của dòng I3RB1, I3RB2, I3RB5, I3RB18, I3RB19, hoặc I3RB30.

Trong một số phương án về kháng thể đặc hiệu đôi, nhánh liên kết CD123 còn liên kết với CD123 khỉ, tốt nhất là với miền ngoại bào của nó.

Trong một số phương án về kháng thể đặc hiệu đôi, nhánh liên kết CD123 được dẫn xuất từ kháng thể đặc hiệu CD123 cạnh tranh để liên kết với CD123 với dòng kháng thể I3RB2, I3RB60, I3RB70, I3RB79, hoặc I3RB118. Trong một số phương án về kháng thể đặc hiệu đôi, nhánh liên kết CD123 được dẫn xuất từ kháng thể đặc hiệu CD123 cạnh tranh để liên kết với CD123 với dòng kháng thể I3RB18, I3RB49, hoặc I3RB55. Có thể xác định sự cạnh tranh liên kết bằng cách sử dụng xét nghiệm ELISA về liên kết cạnh tranh, theo kỹ thuật được mô tả dưới đây trong Ví dụ 5. Có thể xác định liên kết cạnh tranh khi phát hiện sự ức chế của kháng thể thứ hai đối với sự liên kết của kháng thể thứ nhất ở mức ít nhất bằng 20%, bất kể thứ tự các kháng thể liên kết với CD123 (*tức là*, nếu kháng thể A liên kết với CD123 trước kháng thể B, chỉ quan sát được ức chế ở mức 10%, nhưng khi kháng thể B được liên kết với CD123 trước kháng thể A, sẽ quan sát được ức chế ở mức 30%, cho nên nếu quan sát được mức ức chế lớn hơn 20% trong một trong các thí nghiệm, có thể kết luận được là có sự liên kết cạnh tranh).

Trong một số phương án, nhánh liên kết CD123 của kháng thể đa hiệu là IgG, hoặc dẫn xuất của nó, ví dụ các lớp kháng thể IgG1, IgG2, IgG3, và IgG4. Trong một số phương án trong đó nhánh liên kết CD123 có lớp kháng thể IgG1, nó bao gồm (các) thay

thế L234A, L235A, và K409R tại vùng Fc của nó. Trong một số phương án trong đó nhánh liên kết CD123 có lớp kháng thể IgG4, nó bao gồm (các) thay thế S228P, L234A, và L235A tại vùng Fc của nó.

Trong một số phương án về các kháng thể đặc hiệu đôi, nhánh liên kết kháng nguyên thứ hai liên kết với CD3 người. Trong một số phương án ưu tiên, nhánh đặc hiệu CD3 của kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 được dẫn xuất từ kháng thể đặc hiệu CD3 liên kết và hoạt hóa các tế bào T sơ cấp của người và/hoặc tế bào T sơ cấp của khỉ. Trong một số phương án, nhánh liên kết CD3 liên kết với epitope tại đầu N của CD3ε. Trong một số phương án, nhánh liên kết CD3 tiếp xúc với epitope bao gồm sáu axit amin đầu N của CD3ε. Trong một số phương án, nhánh liên kết đặc hiệu CD3 của kháng thể đặc hiệu đôi được dẫn xuất từ kháng thể đơn dòng SP34 của chuột, lớp kháng thể IgG3/lambda của chuột. Trong một số phương án, nhánh liên kết CD3 bao gồm các CDR của kháng thể SP34. Nhánh liên kết CD3 này có thể liên kết với CD3 bằng ái lực nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-7}$ M, như nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-7}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-8}$ M, nhỏ hơn hoặc bằng $5x10^{-9}$ M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng $1x10^{-9}$ M. Nhánh liên kết đặc hiệu CD3 có thể là phiên bản nhân hóa của một nhánh của kháng thể đơn dòng SP34 của chuột. Có thể sử dụng sự thích ứng với khung của người (HFA) để nhân hóa kháng thể kháng CD3 mà từ đó nhánh đặc hiệu CD3 được dẫn xuất. Trong một số phương án về các kháng thể đặc hiệu đôi, nhánh liên kết CD3 bao gồm một cặp chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được chọn từ Bảng 2. Trong một số phương án, nhánh liên kết CD3 của kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 được lấy từ Bảng 3.

Trong một số phương án, nhánh liên kết CD3 là IgG, hoặc dẫn xuất của nó. Trong một số phương án, nhánh liên kết CD3 là IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4. Trong một số phương án trong đó nhánh liên kết CD3 có lớp kháng thể IgG1, nó bao gồm (các) thay thế L234A, L235A, và F405L tại vùng Fc của nó. Trong một số phương án trong đó nhánh liên kết CD3 có lớp kháng thể IgG4, nó bao gồm (các) thay thế S228P, L234A, L235A, F405L, và R409K tại vùng Fc của nó. Trong một số phương án, các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên là IgG-AA Fc. Trong một số phương án, các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên là IgG-AA Fc-L234A, L235A, và F405L. Trong một số phương án, các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên liên kết với CD3ε trên các tế bào

T sơ cấp của người. Trong một số phương án, các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên liên kết với CD3ε trên các tế bào T sơ cấp của khỉ. Trong một số phương án, các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên liên kết với CD3ε trên các tế bào T sơ cấp của người và khỉ. Trong một số phương án, các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên hoạt hóa các tế bào T CD4+ sơ cấp của người. Trong một số phương án, các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên hoạt hóa các tế bào T CD4+ sơ cấp của khỉ.

Một số phương án cung cấp kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 có nhánh liên kết CD123 bao gồm chuỗi nặng của dòng kháng thể I3RB179, I3RB180, I3RB181, I3RB182, I3RB183, I3RB186, I3RB187, I3RB188, I3RB189, CD3B191, Ab 7959, Ab3978, Ab 7955, Ab 9958, Ab 8747, Ab 8876, Ab 4435, hoặc Ab 5466. Một số phương án cung cấp kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 có nhánh liên kết CD123 bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của dòng kháng thể I3RB179, I3RB180, I3RB181, I3RB182, I3RB183, I3RB186, I3RB187, I3RB188, I3RB189, CD3B191, Ab 7959, Ab3978, Ab 7955, Ab 9958, Ab 8747, Ab 8876, Ab 4435, hoặc Ab 5466. Một số phương án cung cấp kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 có nhánh liên kết CD3 bao gồm chuỗi nặng của dòng kháng thể I3RB179, I3RB180, I3RB181, I3RB182, I3RB183, I3RB186, I3RB187, I3RB188, I3RB189, CD3B191, Ab 7959, Ab3978, Ab 7955, Ab 9958, Ab 8747, Ab 8876, Ab 4435, hoặc Ab 5466. Một số phương án cung cấp kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 có nhánh liên kết CD3 bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của dòng kháng thể I3RB179, I3RB180, I3RB181, I3RB182, I3RB183, I3RB186, I3RB187, I3RB188, I3RB189, CD3B191, Ab 7959, Ab3978, Ab 7955, Ab 9958, Ab 8747, Ab 8876, Ab 4435, hoặc Ab 5466. Một số phương án cung cấp kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 có nhánh liên kết CD123 bao gồm chuỗi nặng của dòng kháng thể I3RB179, I3RB180, I3RB181, I3RB182, I3RB183, I3RB186, I3RB187, I3RB188, I3RB189, CD3B191, mAB 7959, Ab3978, Ab 7955, Ab 9958, Ab 8747, Ab 8876, Ab 4435, hoặc Ab 5466 và nhánh liên kết CD3 bao gồm chuỗi nặng của dòng kháng thể I3RB179, I3RB180, I3RB181, I3RB182, I3RB183, I3RB186, I3RB187, I3RB188, I3RB189, CD3B191, AbB 7959, Ab3978, Ab 7955, Ab 9958, Ab 8747, Ab 8876, Ab 4435, hoặc Ab 5466. Một số phương án cung cấp kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 có nhánh liên kết CD123 bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của dòng kháng thể I3RB179, I3RB180, I3RB181, I3RB182,

I3RB183, I3RB186, I3RB187, I3RB188, I3RB189, CD3B191, Ab 7959, Ab3978, Ab 7955, Ab 9958, Ab 8747, Ab 8876, Ab 4435, hoặc Ab 5466 và nhánh liên kết CD3 bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của dòng kháng thể I3RB179, I3RB180, I3RB181, I3RB182, I3RB183, I3RB186, I3RB187, I3RB188, I3RB189, CD3B191, Ab 7959, Ab3978, Ab 7955, Ab 9958, Ab 8747, Ab 8876, Ab 4435, hoặc Ab 5466.

Các kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 ưu tiên được trình bày trong Bảng 13 và 17.

Các định dạng khác nhau của các kháng thể đặc hiệu đôi đã được mô tả và xem xét mới đây bởi Chames và Baty (2009) Curr Opin Drug Disc Dev (Quan điểm hiện nay về phát triển và nghiên cứu dược phẩm) 12: 276.

Trong một số phương án, kháng thể đặc hiệu đôi của sáng chế là diabody (kháng thể đặc hiệu đôi tái tổ hợp), cross-body (kháng thể chéo), hoặc kháng thể đặc hiệu đôi thu được bằng cách trao đổi nhánh Fab có điều khiển, như các loại kháng thể được mô tả trong sáng chế này.

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu đôi bao gồm các phân tử giống IgG có các miền CH3 bổ sung để thúc đẩy sự dị đime hóa; các phân tử nhắm đích kép giống IgG tái tổ hợp, trong đó hai mạch của phân tử mỗi mạch chứa mảnh Fab hoặc một phần của mảnh Fab của ít nhất hai kháng thể khác nhau; các phân tử dung hợp IgG, trong đó các kháng thể IgG đầy đủ chiều dài được dung hợp với một mảnh Fab khác nữa hoặc các phần của mảnh Fab; các phân tử dung hợp Fc, trong đó các phân tử Fv đơn chuỗi hoặc các diabody ổn định được dung hợp với các miền hằng định của chuỗi nặng, các vùng Fc hoặc các phần của chúng; các phân tử dung hợp Fab, trong đó các mảnh Fab khác nhau được dung hợp cùng nhau; các kháng thể nền ScFv và diabody và chuỗi nặng (ví dụ, các kháng thể miền, nanobody (kháng thể đơn miền)) trong đó các phân tử Fv đơn chuỗi khác nhau hoặc các diabody khác nhau hoặc các kháng thể chuỗi nặng khác nhau (ví dụ, các kháng thể miền, nanobody) được dung hợp với nhau hoặc với phân tử protein hoặc chất mang khác.

Trong một số phương án, các phân tử giống IgG với các phân tử miền CH3 bổ sung bao gồm Triomab/Quadroma (Trion Pharma/Fresenius Biotech), Knobs-into-Hole (Genentech), CrossMAb (Roche) và phân tử có thể ghép tĩnh điện (Amgen), LUZ-Y (Genentech), kháng thể Strand Exchange Engineered Domain (Miền kiến tạo

trao đổi sợi) (SEEDbody)(EMD Serono), Biclonic (Merus) và DuoBody (Genmab A/S).

Trong một số phương án, các phân tử nhắm đích kép giống IgG tái tổ hợp bao gồm Dual Targeting (nhắm đích kép) (DT)-Ig (GSK/Domantis), Two-in-one Antibody (kháng thể hai trong một) (Genentech), Cross-linked Mabs (kháng thể đơn dòng liên kết ngang) (Karmanos Cancer Center), mAb2 (kháng thể đơn dòng 2) (F-Star) và CovX-body (CovX/Pfizer).

Trong một số phương án, các phân tử dung hợp IgG bao gồm Dual Variable Domain (miền biến đổi kép) (DVD)-Ig (Abbott), IgG-like Bispecific (đặc hiệu đôi giống IgG) (InnClone/Eli Lilly), Ts2Ab (MedImmune/AZ) và BsAb (Zymogenetics), HERCULES (Biogen Idec) và TvAb (Roche).

Trong một số phương án, các phân tử dung hợp Fc bao gồm ScFv/Fc Fusions (dung hợp ScFv/Fc)(Academic Institution), SCORPION (Emergent BioSolutions/Trubion, Zymogenetics/BMS), Dual Affinity Retargeting Technology (công nghệ tái nhắm đích ái lực kép) (Fc-DART) (MacroGenics) và Dual(ScFv).sub.2-Fab (National Research Center for Antibody Medicine (Trung tâm nghiên cứu quốc gia về y học kháng thể)--Trung Quốc).

Trong một số phương án, các kháng thể đặc hiệu đôi dung hợp Fab bao gồm F(ab)2 (Medarex/AMGEN), Dual-Action hoặc Bis-Fab (Genentech), Dock-and-Lock (DNL) (ImmunoMedics), Bivalent Bispecific (Biotecnol) và Fab-Fv (UCB-Celltech). Các kháng thể nền ScFv, diabody và kháng thể miền bao gồm nhưng không giới hạn trong Bispecific T Cell Engager (thành phần gắn kết tế bào T đặc hiệu đôi) (BITE) (Micromet), Tandem Diabody (Diabody kép) (Tandab) (Affimed), Dual Affinity Retargeting Technology (công nghệ tái nhắm đích ái lực kép) (DART) (MacroGenics), Single-chain Diabody (diabody đơn chuỗi) (Academic), TCR-like Antibodies (kháng thể giống TCR) (AIT, ReceptorLogics), Human Serum Albumin ScFv Fusion (dung hợp ScFv albumin huyết thanh người) (Merrimack) và COMBODY (Epigen Biotech), các nanobody nhắm đích kép (Ablynx), các kháng thể miền chỉ chuỗi nặng nhắm đích kép.

Có thể tạo các kháng thể đặc hiệu đôi đầy đủ chiều dài của sáng chế, ví dụ, bằng cách trao đổi nhánh Fab (hoặc trao đổi nửa phân tử) giữa hai kháng thể lưỡng trị

đơn đặc hiệu bằng cách đưa các thay thế tại giao diện CH3 chuỗi nặng tại mỗi nửa phân tử để hỗ trợ hình thành dị đime của hai nửa phân tử kháng thể có tính đặc hiệu khác nhau trong ống nghiệm trong môi trường không có tế bào hoặc bằng cách đồng biểu hiện. Phản ứng trao đổi nhánh Fab là kết quả của phản ứng isome hóa liên kết đisulfua và sự phân ly-kết hợp các miền CH3. Các liên kết đisulfua chuỗi nặng trong các vùng bản lề của các kháng thể đơn đặc hiệu mẹ bị khử. Các xystein tự do thu được của một trong các kháng thể đơn đặc hiệu mẹ tạo thành liên kết đisulfua chuỗi nặng bên trong với các gốc xystein của phân tử kháng thể đơn đặc hiệu mẹ thứ hai và đồng thời với các miền CH3 của các kháng thể mẹ được phóng thích và sửa chữa bởi quá trình phân ly-kết hợp. Các miền CH3 của các nhánh Fab có thể được kiến tạo để hỗ trợ quá trình dị đime hóa hơn là đồng đime hóa. Sản phẩm tạo thành là kháng thể đặc hiệu đôi có hai nhánh Fab hoặc hai nửa phân tử mỗi nửa liên kết với một epitope khác nhau, tức là một epitope trên CD123 (IL3-Rα) và một epitope trên CD3.

Trong bản mô tả này, "đồng đime hóa" chỉ sự tương tác của hai chuỗi nặng có các trình tự axit amin CH3 đồng nhất. Trong bản mô tả này, "đồng đime" chỉ kháng thể có hai chuỗi nặng có các trình tự axit amin CH3 đồng nhất.

Trong bản mô tả này, "dị đime hóa" chỉ sự tương tác của hai chuỗi nặng có các trình tự axit amin CH3 không đồng nhất. Trong bản mô tả này, "dị đime" chỉ kháng thể có hai chuỗi nặng có các trình tự axit amin CH3 không đồng nhất.

Có thể sử dụng phương pháp "knob-in-hole" (nghĩa là mô hình gói các mạch bên của axit amin giữa các chuỗi xoắn alpha liền kề) (xem, ví dụ, Bằng sáng chế quốc tế Số công bố WO 2006/028936) để tạo các kháng thể đặc hiệu đôi đầy đủ chiều dài. Tóm tắt như sau, các axit amin được chọn tạo thành giao diện của các miền CH3 trong IgG người có thể bị đột biến ở các vị trí tác động đến các tương tác của các miền CH3 để thúc đẩy việc tạo thành dị đime. Một axit amin có mạch bên nhỏ (hole - lỗ) được đưa vào chuỗi nặng của một kháng thể liên kết đặc hiệu với kháng nguyên thứ nhất và một axit amin có mạch bên lớn (knob - đầu núm) được đưa vào chuỗi nặng của một kháng thể liên kết đặc hiệu với kháng nguyên thứ hai. Sau khi đồng biểu hiện hai kháng thể, một dị đime được tạo thành, là kết quả của tương tác ưu tiên của chuỗi nặng có "hole" ("lỗ") với chuỗi nặng có "knob" ("đầu núm"). Ví dụ về các cặp thay thế CH3 tạo thành đầu núm và lỗ là (được biểu hiện là vị trí điều hòa tại miền CH3

thứ nhất của chuỗi nặng thứ nhất/vị trí điều hòa tại miền CH3 thứ hai của chuỗi nặng thứ hai): T366Y/F405A, T366W/ F405W, F405W/Y407A, T394W/Y407T, T394S/Y407A, T366W/T394S, F405W/T394S và T366W/T366S_L368A_Y407V.

Có thể sử dụng các phương pháp khác như phương pháp thúc đẩy quá trình dị đime hóa chuỗi nặng bằng tương tác tĩnh điện bằng cách thay thế các gốc tích điện dương tại một mặt CH3 và các gốc tích điện âm tại mặt CH3 thứ hai, như được mô tả trong Bằng sáng chế Hoa Kỳ Số công bố US2010/0015133; Bằng sáng chế Hoa Kỳ Số công bố US2009/0182127; Bằng sáng chế Hoa Kỳ Số công bố US2010/028637, hoặc Bằng sáng chế Hoa Kỳ Số công bố US2011/0123532. Trong các phương pháp khác, quá trình dị đime hóa có thể được thúc đẩy bởi các thay thế sau (được biểu hiện là vị trí điều hòa tại miền CH3 thứ nhất của chuỗi nặng thứ nhất/vị trí điều hòa tại miền CH3 thứ hai của chuỗi nặng thứ hai): L351Y_F405AY407V/T394W, T366I_K392 M_T394W/F405A_Y407V, T366L_K392 M_T394W/F405A_Y407V, L351Y_Y407A/T366A_K409F, L351Y_Y407A/T366V K409F Y407A/T366A_K409F, hoặc T350V_L351Y_F405A Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W như được mô tả trong Bằng sáng chế Hoa Kỳ Số công bố US2012/0149876 hoặc Bằng sáng chế Hoa Kỳ Số công bố US2013/0195849.

Ngoài các phương pháp được mô tả ở phần trên, các kháng thể đặc hiệu đôi của sáng chế có thể được tạo trong ống nghiệmtrong môi trường không có tế bào bằng cách đưa các đột biến bất đối xứng vào các vùng CH3 của hai kháng thể đồng đime đơn đặc hiệu và tạo thành kháng thể dị đime đặc hiệu đôi từ hai kháng thể đồng đime đơn đặc hiệu mẹ trong các điều kiện khử để cho phép isome hóa liên kết đisulfua theo các phương pháp được mô tả trong Bằng sáng chế quốc tế Số công bố W02011/131746. Trong các phương pháp này, kháng thể lưỡng trị đơn đặc hiệu thứ nhất (ví dụ, kháng thể kháng CD123 (IL3-Rα)) và kháng thể lưỡng trị đơn đặc hiệu thứ hai (ví dụ, kháng thể kháng CD3) được kiến tạo để có một số thay thế tại miền CH3 làm tăng tính bền của dị đime; các kháng thể được ủ nuôi cấy cùng nhau trong các điều kiện khử đủ để cho phép các xystein trong vùng bản lề trải qua quá trình isome hóa liên kết đisulfua; từ đó tạo ra kháng thể đặc hiệu đôi bằng cách trao đổi nhánh Fab. Các điều kiện ủ nuôi cấy có thể được khôi phục lại tình trạng không khử

một cách tối ưu. Ví dụ về các chất khử có thể được sử dụng là 2- mercaptoetylamin (2-MEA), đithiothreitol (DTT), đithioerythritol (DTE), glutathion, tris (2-carboxyetyl)phosphin (TCEP), L-xystein và beta-mercaptoetanol, tốt nhất là chất khử được chọn từ nhóm bao gồm: 2-mercaptoethylamine, dithiothreitol và tris (2-carboxyethyl)phosphine. Ví dụ, có thể ủ trong ít nhất 90 phút ở nhiệt độ ít nhất bằng 20° C với sự có mặt của ít nhất 25 mM 2-MEA hoặc với sự có mặt của ít nhất 0,5 mM đithiothreitol với độ pH bằng từ 5-8, ví dụ với độ pH bằng 7,0 hoặc độ pH bằng 7,4.

Ngoài các kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 được mô tả, sáng chế cũng đề xuất các trình tự polynucleotit có khả năng mã hóa các kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 này. Bản mô tả còn cung cấp các vectơ chứa các polynucleotit được mô tả, các tế bào biểu hiện các kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 được mô tả tại đây. Đồng thời bản mô tả cũng đề cập đến các tế bào có khả năng biểu hiện các vectơ được bộc lộ. Các tế bào này có thể là tế bào động vật có vú (như các tế bào 293F, các tế bào CHO), tế bào côn trùng (như tế bào Sf7), tế bào nấm men, tế bào thực vật, hoặc tế bào vi khuẩn (như *E. coli*). Các kháng thể được mô tả cũng có thể được sản xuất bằng các tế bào lai.

Chế phẩm điều trị và các phương pháp điều trị sử dụng các kháng thể đa hiệu và các mảnh gắn kháng nguyên đa hiệu của chúng

Các kháng thể đặc hiệu đôi CD123 như được trình bày ở phần trên, ví dụ kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 đã nêu, có thể được dùng trong điều trị bệnh. Cụ thể, các kháng thể đặc hiệu đôi CD123 có thể được dùng trong điều trị bệnh ung thư. Bản mô tả này cũng cung cấp các chế phẩm điều trị dùng để điều trị rối loạn tăng sinh lympho bào ở động vật có vú, bao gồm một lượng điều trị hữu hiệu kháng thể đa hiệu hoặc mảnh gắn kháng nguyên đa hiệu đã nêu và một chất mang dược dụng. Trong các phương án ưu tiên, kháng thể đa hiệu là kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 như đã nêu trong bản mô tả, hoặc mảnh gắn kháng nguyên đa hiệu của nó, và tốt hơn là kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 như đã nêu trong bản mô tả, hoặc mảnh gắn kháng nguyên đặc hiệu đôi CD123 x CD3 của nó. Trong một phương án, chế phẩm dược đã nêu được dùng để điều trị bệnh ung thư biểu hiện CD123, bao gồm (nhưng không giới hạn trong) các loại sau: Các bệnh ung thư huyết học biểu hiện CD123, như bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), hội chứng loạn sản tủy xương (MDS, nguy cơ cao hay

thấp), bạch cầu lympho bào cấp tính (ALL, tất cả các phân loại), u lympho tế bào B lớn tỏa rộng (DLBCL), bạch cầu tủy bào mạn tính (CML), hoặc u tế bào tua dạng tương bào của nguyên bào (DPDCN); và các bệnh ung thư khác biểu hiện CD123 chưa được xác định. Có thể sử dụng các kháng thể đặc hiệu đôi cụ thể để điều trị bệnh ung thư, như bệnh ung thư huyết học, bao gồm các loại bệnh ung thư cụ thể đề cập ở phần trên, bao gồm các kháng thể 7959, 3978, 7955, 9958, 8747, 4435, và 5466. Một ví dụ về kháng thể đặc hiệu đôi hữu ích trong điều trị bệnh ung thư, như bệnh ung thư huyết học, bao gồm các loại bệnh ung thư cụ thể này, là kháng thể 9958. Ví dụ khác về kháng thể đặc hiệu đôi hữu ích trong điều trị bệnh ung thư, như bệnh ung thư huyết học, bao gồm các loại bệnh ung thư cụ thể này là kháng thể 3978. Ví dụ khác về kháng thể đặc hiệu đôi hữu ích trong điều trị bệnh ung thư, như bệnh ung thư huyết học, bao gồm các loại bệnh ung thư cụ thể này là kháng thể 8747. Ví dụ khác về kháng thể đặc hiệu đôi hữu ích trong điều trị bệnh ung thư, như bệnh ung thư huyết học, bao gồm các loại bệnh ung thư cụ thể này là kháng thể 7959.

Các chế phẩm dược được đề xuất trong bản mô tả này bao gồm: a) một lượng hữu hiệu kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể của sáng chế và b) chất mang dược dụng, có thể là chất trơ hoặc có hoạt tính sinh lý học. Trong các phương án ưu tiên, kháng thể đa hiệu là kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 như đã nêu trong bản mô tả, hoặc mảnh gắn kháng nguyên đa hiệu của nó, và tốt hơn là kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 như đã nêu trong bản mô tả, hoặc mảnh gắn kháng nguyên đặc hiệu đôi CD123 x CD3 của nó. Trong bản mô tả này, thuật ngữ "chất mang dược dụng" bao gồm tất cả và bất kỳ dung môi, môi trường phân tán, lớp phủ, chất kháng khuẩn và kháng nấm, và chất tương tự thích ứng về mặt sinh lý nào. Các ví dụ về chất mang, chất pha loãng và/hoặc tá dược phù hợp bao gồm một hoặc nhiều loại trong các chất như nước, dung dịch muối đẳng trương, dung dịch muối đẳng trương đệm phosphat, đextroza, glyxerol, etanol, v.v và kết hợp bất kỳ của chúng. Trong nhiều trường hợp, tốt hơn là bao gồm chất đẳng trương, như đường, rượu đa chức, hoặc natri clorua trong chế phẩm. Cụ thể, các ví dụ về chất mang phù hợp bao gồm: (1) Dung dịch muối đẳng trương đệm phosphat của Dulbecco, độ pH bằng khoảng 7,4, chứa hoặc không chứa khoảng 1 mg/mL đến 25 mg/mL albumin huyết thanh người, (2) dung dịch muối đẳng trương 0,9% (natri clorua (NaCl) có khối lượng/thể tích là 0,9%), và (3) đextroza 5% (khối

lượng/thể tích); và cũng có thể bao gồm các chất chống oxy hóa như triptamin và chất ổn định như Tween 20 ®.

Các chế phẩm trong bản mô tả này cũng có thể còn chứa một loại thuốc điều trị cần thiết khác cho loại rối loạn cụ thể. Tốt nhất là kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể và hoạt chất phụ sẽ có các hoạt tính bổ sung không có các tác dụng có hại khi tương tác với nhau. Trong một phương án ưu tiên, thuốc điều trị khác này là thuốc cytoxar, anthracycline (thuốc chống u bướu), histamine dihydrochloride hoặc interleukin 2. Trong một phương án ưu tiên, thuốc điều trị khác là một loại thuốc hóa trị liệu.

Các chế phẩm của sáng chế có thể có nhiều dạng khác nhau. Các dạng này bao gồm, ví dụ, các dạng bào chế lỏng, bán rắn và rắn, nhưng dạng ưu tiên tùy thuộc vào đường sử dụng thuốc và cách điều trị. Các chế phẩm ưu tiên điển hình có dạng dung dịch có thể tiêm được hoặc không nóng chảy. Đường sử dụng ưu tiên là đường dùng ngoài đường tiêu hóa (ví dụ, trong tĩnh mạch, trong cơ, trong màng bụng, dưới da). Trong một phương án ưu tiên, các chế phẩm của sáng chế được cho dùng qua đường tĩnh mạch bằng tiêm nhanh hoặc truyền liên tục trong một khoảng thời gian. Trong phương án ưu tiên khác, chúng được tiêm cơ, dưới da, trong khớp, trong bao hoạt dịch, trong khối u, quanh khối u, trong thương tổn hoặc quanh thương tổn để tạo ra hiệu quả điều trị tại chỗ và toàn thân.

Các chế phẩm vô trùng để sử dụng ngoài đường tiêu hóa có thể được điều chế bằng cách hợp nhất kháng thể, mảnh kháng thể hoặc phức hợp kháng thể của sáng chế với số lượng theo yêu cầu trong chất dung môi phù hợp, sau đó tiệt trùng bằng vi lọc. Dung môi hoặc chất mang có thể được sử dụng là nước, dung dịch muối đẳng trương, dung dịch muối đẳng trương đệm phosphat, đextroza, glyxerol, etanol, v.v và kết hợp bất kỳ của chúng. Trong nhiều trường hợp, tốt hơn là bao gồm chất đẳng trương, như đường, rượu đa chức, hoặc natri clorua trong chế phẩm. Các chế phẩm này cũng có thể chứa các tá chất, cụ thể là các chất thấm ướt, chất đẳng trương, chất nhũ hóa, chất phát tán và chất ổn định. Các chế phẩm vô trùng để sử dụng ngoài đường tiêu hóa có thể được điều chế dưới dạng chế phẩm rắn vô trùng có thể được hòa tan khi sử dụng trong nước vô trùng hoặc môi trường vô trùng khác bất kỳ có thể tiêm được.

Kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể cũng có thể được dùng bằng đường uống. Các chế phẩm rắn có thể được sử dụng bằng đường uống là viên nén, viên, bột (viên nang gelatin, gói) hoặc dạng hạt. Trong các chế phẩm này, hoạt chất theo sáng chế được trộn với một hoặc nhiều chất pha loãng trơ, như tinh bột, xenluloza, lactoza hoặc silic, trong dòng khí argon. Các chế phẩm này cũng có thể bao gồm các chất khác ngoài chất pha loãng, ví dụ, một hoặc nhiều chất bôi trơn như magie stearat hay hoạt thạch, chất tạo màu, vỏ (viên nén bao đường) hoặc men bóng.

Các chế phẩm lỏng có thể được sử dụng bằng đường uống là các dung dịch, huyền phù, nhũ tương, xi-rô và cồn ngọt dược dụng chứa các chất pha loãng trơ như nước, etanol, glyxerol, dầu thực vật hoặc dầu parafin. Các chế phẩm này cũng có thể bao gồm các chất khác ngoài chất pha loãng, ví dụ như các chất thấm ướt, chất làm ngọt, chất làm dày, chất tạo hương vị hoặc chất ổn định.

Liều dùng tùy vào tác dụng mong muốn, thời gian điều trị và đường dùng áp dụng; liều dùng thông thường nằm trong khoảng 5 mg đến 1000 mg một ngày qua đường uống cho người trưởng thành với liều đơn vị nằm trong khoảng từ 1 mg đến 250 mg hoạt chất. Thông thường, bác sĩ sẽ xác định liều phù hợp dựa trên tuổi, cân nặng và các yếu tố cụ thể khác của đối tượng được điều trị.

Bản mô tả cũng cung cấp các phương pháp tiêu diệt tế bào CD123+ bằng cách cho bệnh nhân sử dụng kháng thể đa hiệu liên kết với CD123 đã nêu và có khả năng tuyển mộ tế bào T để tiêu diệt tế bào CD123+ đã nêu (tức là chuyển hướng tế bào T). Kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể bất kỳ của sáng chế có thể được sử dụng để điều trị bệnh. Trong các phương án ưu tiên, kháng thể đa hiệu là kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 như đã nêu trong bản mô tả, hoặc mảnh gắn kháng nguyên đa hiệu của nó, và tốt hơn là kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 như đã nêu trong bản mô tả, hoặc mảnh gắn kháng nguyên đặc hiệu đôi CD123 x CD3 của nó.

Trong phương án ưu tiên, các kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể của sáng chế được sử dụng để điều trị rối loạn tăng sinh lympho bào ở động vật có vú. Trong một phương án ưu tiên hơn, một trong các chế phẩm dược được bộc lộ ở phần trên, và chứa kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể của sáng chế, được sử dụng để điều trị rối loạn tăng sinh lympho bào ở động vật có vú. Trong một phương án, rối loạn là bệnh ung thư. Cụ thể, bệnh ung thư là bệnh ung thư biểu hiện CD123, bao gồm

(nhưng không giới hạn trong) các loại sau: Các bệnh ung thư huyết học biểu hiện CD123, như bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), hội chứng loạn sản tủy xương (MDS, nguy cơ cao hay thấp), bạch cầu lympho bào cấp tính (ALL, tất cả các phân loại), u lympho tế bào B lớn tỏa rộng (DLBCL), bạch cầu tủy bào mạn tính (CML), hoặc u tế bào tua dạng tương bào của nguyên bào (DPDCN); và các bệnh ung thư khác biểu hiện CD123 chưa được xác định. Trong các phương án ưu tiên, kháng thể đa hiệu là kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 như đã nêu trong bản mô tả, hoặc mảnh gắn kháng nguyên đa hiệu của nó, và tốt hơn là kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 như đã nêu trong bản mô tả, hoặc mảnh gắn kháng nguyên đặc hiệu đôi CD123 x CD3 của nó.

Theo đó, chế phẩm dược của sáng chế hữu ích trong điều trị hoặc ngăn ngừa các loại bệnh ung thư khác nhau, bao gồm (nhưng không giới hạn trong) bệnh ung thư biểu hiện CD123, bao gồm (nhưng không giới hạn trong) các loại sau: Các bệnh ung thư huyết học biểu hiện CD123, như bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), hội chứng loạn sản tủy xương (MDS, nguy cơ cao hay thấp), bạch cầu lympho bào cấp tính (ALL, tất cả các phân loại), u lympho tế bào B lớn tỏa rộng (DLBCL), bạch cầu tủy bào mạn tính (CML), hoặc u tế bào tua dạng tương bào của nguyên bào (DPDCN); và các bệnh ung thư khác biểu hiện CD123 chưa được xác định.

Tương tự, bản mô tả còn đề xuất phương pháp ức chế sự tăng trưởng của quần thể tế bào được chọn bao gồm bước cho tế bào đích biểu hiện CD123, hoặc mô chứa các tế bào đích này, tiếp xúc với một lượng hữu hiệu kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể của sáng chế, dùng riêng hay kết hợp với các thuốc điều trị hoặc gây độc tế bào khác, với sự có mặt của tế bào máu đơn nhân ngoại vi (PBMC). Trong các phương án ưu tiên, kháng thể đa hiệu là kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 như đã nêu trong bản mô tả, hoặc mảnh gắn kháng nguyên đa hiệu của nó, và tốt hơn là kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 như đã nêu trong bản mô tả, hoặc mảnh gắn kháng nguyên đặc hiệu đôi CD123 x CD3 của nó. Trong một phương án ưu tiên, thuốc điều trị khác này là thuốc cytoxar, anthracycline (thuốc chống u bướu), histamine dihydrochloride hoặc interleukin 2. Trong một phương án ưu tiên, thuốc điều trị khác là một loại thuốc hóa trị liệu. Các phương pháp ức chế sự sự tăng trưởng của quần thể tế bào được chọn có thể được thực hiện*trong ống nghiệm, trong cơ thể sống*, hoặc *ngoài cơ thể sống*.

Các ví dụ về sử dụng *trong ống nghiệm* bao gồm các xử lý tủy xương tự ghép trước khi ghép vào cùng một bệnh nhân để tiêu diệt các tế bào bị bệnh hoặc tế bào ác tính; các xử lý tủy xương trước khi cấy ghép nhằm tiêu diệt các tế bào T khả nạp và ngăn ngừa bệnh mảng ghép chống lại ký chủ (GVHD); các xử lý môi trường nuôi cấy tế bào nhằm tiêu diệt tất cả các tế bào trừ các biến thể mong muốn không biểu hiện kháng nguyên đích; hoặc tiêu diệt các biến thể biểu hiện kháng nguyên không mong muốn. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật đã xác định được các điều kiện sử dụng *trong ống nghiệm* không lâm sàng.

Các ví dụ về sử dụng *ngoài cơ thể sống* lâm sàng nhằm loại bỏ các tế bào khối u trước khi ghép tủy tự ghép trong điều trị ung thư. Có thể xử lý như sau. Lấy tủy xương từ bệnh nhân hoặc người khác và sau đó ủ trong môi trường chứa huyết thanh có bổ sung chất gây độc tế bào của sáng chế. Nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 10 uM đến 1 uM, trong khoảng 30 phút đến khoảng 48 giờ ở nhiệt độ khoảng 37°C. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật đã xác định được chính xác các điều kiện về hàm lượng và thời gian ủ của liều lượng. Sau khi ủ, các tế bào tủy xương được rửa bằng môi trường chứa huyết thanh và đưa trở lại bệnh nhân bằng cách truyền tĩnh mạch theo các phương pháp đã biết. Trong các trường hợp trong đó bệnh nhân nhận được điều trị khác như một đợt hóa trị liệu hủy diệt hay chiếu xạ toàn thân giữa thời gian lấy tủy và thời gian truyền lại các tế bào đã được xử lý, các tế bào tủy đã được xử lý được trữ đông trong nitơ lỏng bằng thiết bị y tế tiêu chuẩn.

Trong trường hợp sử dụng*trong cơ thể sống* lâm sàng, đối tượng cần điều trị được cho sử dụng một lượng điều trị hữu hiệu kháng thể đa hiệu hoặc mảnh gắn kháng nguyên. Ví dụ, các kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 và các mảnh gắn kháng nguyên đa hiệu của chúng có thể hữu ích trong điều trị bệnh ung thư biểu hiện CD123 ở đối tượng cần điều trị. Trong một số phương án, bệnh ung thư biểu hiện CD123 là một loại bệnh ung thư huyết học, như bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), hội chứng loạn sản tủy xương (MDS, nguy cơ cao hay thấp), bạch cầu lympho bào cấp tính (ALL, tất cả các phân loại), u lympho tế bào B lớn tỏa rộng (DLBCL), bạch cầu tủy bào mạn tính (CML), hoặc u tế bào tua dạng tương bào của nguyên bào (DPDCN). Trong các phương án ưu tiên, kháng thể đa hiệu là kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 như đã nêu trong bản mô tả, hoặc mảnh gắn kháng nguyên đa hiệu của nó, và tốt hơn là kháng thể đặc hiệu

đôi CD123 x CD3 như đã nêu trong bản mô tả, hoặc mảnh gắn kháng nguyên đặc hiệu đôi CD123 x CD3 của nó. Trong một số phương án, đối tượng là động vật có vú, tốt nhất đối tượng là con người. Trong một số phương án, kháng thể đa hiệu hoặc mảnh gắn kháng nguyên có thể được cho sử dụng dưới dạng dung dịch đã được kiểm tra vô trùng.

Các chế độ cho liều trong các phương pháp điều trị và sử dụng mô tả trên đây được điều chỉnh để tạo ra đáp ứng tối ưu theo mong muốn (ví dụ, đáp ứng điều trị). Ví dụ, có thể sử dụng một liều tiêm nhanh, một số liều được chia nhỏ dùng dần hoặc liều có thể được giảm hoặc tăng tỷ lệ theo sự cấp bách của tình hình điều trị. Các chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa có thể được điều chế dưới dạng liều đơn vị để dễ sử dụng và thống nhất về liều lượng.

Các liều hữu hiệu và các chế độ cho liều đối với các kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể dựa vào bệnh và tình trạng cần điều trị và sẽ được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật xác định. Ví dụ, nhưng không hạn chế, về khoảng sử dụng lượng điều trị hữu hiệu của hỗn hợp của sáng chế là bằng khoảng 0,001-10 mg/kg, như khoảng 0,001-5 mg/kg, ví dụ khoảng 0,001-2 mg/kg, như khoảng 0,001-1 mg/kg, ví dụ khoảng 0,001, khoảng 0,01, khoảng 0,1, khoảng 1 hoặc khoảng 10 mg/kg.

Bác sĩ hoặc bác sĩ thú y có trình độ bình thường trong ngành có thể đã xác định được và kê đơn lượng hữu hiệu của chế phẩm dược theo yêu cầu. Ví dụ, bác sĩ hoặc bác sĩ thú y có thể bắt đầu các liều kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể có trong chế phẩm dược ở các mức thấp hơn mức yêu cầu đạt được hiệu quả điều trị mong muốn và dần dần tăng liều lượng cho đến khi đạt được hiệu quả mong muốn. Nhìn chung, liều dùng hàng ngày của kháng thể đặc hiệu đôi của sáng chế sẽ là lượng hỗn hợp là liều dùng thấp nhất có hiệu quả trong việc tạo ra tác dụng điều trị. Đường dùng có thể là, ví dụ, ngoài đường tiêu hóa, như tĩnh mạch, trong cơ hoặc dưới da. Trong một phương án, kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể có thể được cho dùng bằng đường truyền với liều hàng tuần được tính theo mg/m^2. Các liều dùng này có thể, ví dụ, dựa trên các liều tính bằng mg/kg được cho ở phần trên theo công thức sau: liều (mg/kg)x70: 1,8. Có thể sử dụng lặp lại, ví dụ, 1 đến 8 lần, như 3 đến 5 lần. Có thể dùng thuốc bằng cách truyền liên tục trong một khoảng thời gian bằng

từ 2 đến 24 giờ, như bằng từ 2 đến 12 giờ. Trong một phương án, có thể dùng kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể bằng cách truyền chậm liên tục trong một thời gian dài, như lâu hơn 24 giờ, để làm giảm tác dụng phụ độc hại.

Trong một phương án, có thể dùng kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể theo liều hàng tuần được tính là liều cố định dùng trong tối đa tám lần, như từ bốn đến sáu lần trong một tuần. Chế độ này có thể được lặp lại một hoặc nhiều lần khi cần, ví dụ, sau sáu tháng hoặc mười hai tháng. Các liều dùng cố định này có thể, ví dụ, dựa trên các liều tính bằng mg/kg được cho ở phần trên, với trọng lượng cơ thể ước tính là 70 kg. Có thể xác định hoặc điều chỉnh liều dùng bằng cách đo lượng kháng thể đặc hiệu đôi của sáng chế trong máu sau khi sử dụng bằng cách, ví dụ, lấy mẫu sinh học và sử dụng các kháng thể kháng idiotypic nhắm đích vùng gắn kháng nguyên CD123 của các kháng thể đa hiệu của sáng chế.

Trong một phương án, có thể dùng kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể theo liệu pháp điều trị duy trì, ví dụ như, một lần một tuần trong khoảng thời gian sáu tháng hoặc lâu hơn.

Có thể dùng kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể theo liệu pháp phòng ngừa nhằm làm giảm nguy cơ phát triển ung thư, làm trì hoãn xảy ra sự kiện trong tiến trình phát triển ung thư, và/hoặc làm giảm nguy cơ tái phát khi ung thư đã thuyên giảm.

Cũng có thể dùng kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể của chúng như mô tả trong bản mô tả này theo liệu pháp phối hợp, tức là kết hợp với các thuốc điều trị khác phù hợp với bệnh hoặc tình trạng cần điều trị. Theo đó, trong một phương án, thuốc chứa kháng thể được kết hợp với một hoặc nhiều thuốc điều trị khác, như thuốc hóa trị liệu. Trong một số phương án, thuốc điều trị khác này là thuốc cytoxar, anthracycline (thuốc chống u bướu), histamine dihydrochloride hoặc interleukin 2. Thuốc có thể được sử dụng kết hợp đồng thời, tách riêng hoặc tuần tự, theo thứ tự bất kỳ. Trong trường hợp sử dụng đồng thời, các loại thuốc có thể được sử dụng dưới dạng một chế phẩm hoặc các chế phẩm riêng rẽ theo nhu cầu.

Trong một phương án, phương pháp điều trị một tình trạng rối loạn liên quan đến tế bào biểu hiện CD123 ở đối tượng được đề xuất, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng sử dụng một lượng điều trị hữu hiệu kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể,

như kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 được mô tả trong bản mô tả này, và điều trị bằng xạ trị cho đối tượng. Trong một phương án, phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh ung thư được đề xuất, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng sử dụng một lượng điều trị hữu hiệu kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể, như kháng thể CD123 x CD3 được mô tả trong bản mô tả này, và điều trị bằng xạ trị cho đối tượng. Liệu pháp xạ trị có thể bao gồm bức xạ hoặc cho bệnh nhân sử dụng kết hợp thuốc chứa nguyên tố phóng xạ. Nguồn bức xạ có thể là nguồn bên ngoài hoặc bên trong đối với bệnh nhân đang được điều trị (điều trị bằng bức xạ, ví dụ, có thể dưới dạng điều trị bằng bức xạ tia bên ngoài (EBRT) hoặc xạ trị áp sát (BT)). Các nguyên tố phóng xạ có thể được sử dụng để thực hiện các phương pháp này bao gồm, ví dụ, radi, xesi-137, iridi-192, amerixi-241, vàng-198, coban-57, đồng-67, tecneti-99, iođua-123, iođua-131, và indi-111.

Kit

Bản mô tả này còn đề xuất các kit, ví dụ, bao gồm kháng thể đa hiệu đã mô tả hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó và các hướng dẫn sử dụng kháng thể hoặc mảnh kháng thể để tiêu diệt các loại tế bào cụ thể. Trong các phương án ưu tiên, kháng thể đa hiệu là kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 như đã nêu trong bản mô tả, hoặc mảnh gắn kháng nguyên đa hiệu của nó, và tốt hơn là kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 như đã nêu trong bản mô tả, hoặc mảnh gắn kháng nguyên đặc hiệu đôi CD123 x CD3 của nó. Các hướng dẫn này có thể bao gồm các hướng dẫn sử dụng kháng thể đa hiệu hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó trong ống nghiệm, trong cơ thể sống, hoặc ngoài cơ thể sống.

Thông thường, kit sẽ gồm một ngăn chứa chứa kháng thể đa hiệu hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó. Kháng thể đa hiệu hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó có thể có dạng đông khô, dạng lỏng, hoặc dạng khác có thể điều chỉnh để đựng trong kit. Kit cũng có thể bao gồm các yếu tố cần thiết khác để thực hiện phương pháp mô tả trong tài liệu hướng dẫn trong kit, như dung dịch vô trùng để tái tạo lại bột đông khô, các tác nhân bổ sung để kết hợp với kháng thể đa hiệu hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó trước khi cho bệnh nhân sử dụng, và các dụng cụ hỗ trợ bệnh nhân sử dụng kháng thể đa hiệu hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó.

Sử dụng để chẩn đoán

Cũng có thể sử dụng kháng thể đa hiệu hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó cho các mục đích chẩn đoán. Vì vậy, bản mô tả này cũng đề xuất các chế phẩm dùng để chẩn đoán bao gồm kháng thể đa hiệu hoặc mảnh kháng thể đã nêu, và cách sử dụng chúng. Trong các phương án ưu tiên, kháng thể đa hiệu là kháng thể đa hiệu CD123 x CD3 như đã nêu trong bản mô tả, hoặc mảnh gắn kháng nguyên đa hiệu của nó, và tốt hơn là kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 như đã nêu trong bản mô tả, hoặc mảnh gắn kháng nguyên đặc hiệu đôi CD123 x CD3 của nó. Trong một phương án, sáng chế đề xuất kit sử dụng để chẩn đoán ung thư bao gồm một dụng cụ chứa kháng thể CD123 x CD3 đặc hiệu đôi, và một hoặc nhiều thuốc thử để phát hiện sự liên kết của kháng thể với CD123. Các thuốc thử có thể bao gồm, ví dụ, nhãn huỳnh quang, nhãn enzym hoặc các nhãn có thể phát hiện khác. Các thuốc thử cũng có thể bao gồm các kháng thể cấp hai hoặc cấp ba hoặc các thuốc thử cho các phản ứng enzym, trong đó các phản ứng enzym tạo ra sản phẩm nhìn thấy được. Ví dụ, các kháng thể đa hiệu được mô tả trong bản mô tả này, hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng, có thể được đánh dấu bằng chất đồng vị phóng xạ, nhãn huỳnh quang, nhãn epitope, bioti, nhãn nhóm mang màu, nhãn ECL, enzym, ruteni, ^{111}In-DOTA, ^{111}In- axit diethylenetriaminepentaacetic (DTPA), peroxyđaza ở cây cải ngựa, phosphataza kiềm và beta-galactosiđaza, hoặc poly-histiđin hoặc các nhãn tương tự đã biết trong ngành.

Các ví dụ sau đây được cung cấp để bổ sung cho mô tả ở phần trên và giúp hiểu rõ hơn về đề tài được mô tả. Các ví dụ này không nhằm giới hạn đề tài của bản mô tả. Cần hiểu rằng các ví dụ và phương án được mô tả trong bản mô tả này chỉ nhằm mục đích minh họa, và người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật hiểu là sẽ có các phương án cải biến hoặc thay đổi dựa vào các phương án này, các phương án cải biến hoặc thay đổi được bao gồm trong sáng chế và được thực hiện miễn là không vượt quá phạm vi của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Nguyên vật liệu

Tạo các dòng tế bào CD123

Một tập hợp các vectơ pDisplay™ biểu hiện ECD CD123 SP1 người (các axit amin 20 - 305) (SỐ ID TRÌNH TỰ:1), ECD CD123 SP2 người (các axit amin 19 -

227 có SỐ ID TRÌNH TỰ:2), và ECD CD123 khỉ (các axit amin 19 – 305 có SỐ ID TRÌNH TỰ:3) đã được tạo để sử dụng làm công cụ sàng lọc để đánh giá các mẫu kháng thể kháng CD123. Sử dụng vectơ biểu hiện của động vật có vú cho phép biểu hiện các protein trên bề mặt tế bào, là pDisplay (Invitrogen) (Hình 1). Các protein được biểu hiện từ pDisplay™ được dung hợp ở đầu N với trình tự dẫn đầu chuỗi κ Ig của chuột, trình tự này định hướng protein đến đường tiết, và ở đầu C với phần xuyên màng của thụ thể yếu tố tăng trưởng dẫn xuất từ tiểu cầu (PDGFR), phần này gắn protein vào màng huyết tương, biểu hiện nó trên bề mặt ngoại bào. Các protein tái tổ hợp được biểu hiện từ pDisplay™ chứa epitope của nấm và hemagglutinin A (chất gây kết tố hồng cầu) để được phát hiện trong phân tích lai thấm protein hoặc miễn dịch huỳnh quang. Vùng khởi động CMV điều khiển biểu hiện.

Các vectơ được chuyển nhiễm tạm thời vào các tế bào HEK293T bằng các phương pháp tiêu chuẩn. Các tế bào gắn với 293F được chuyển nhiễm được chọn để hợp nhất vào plasmid một cách ổn định, sau đó một tế bào được phân loại và biểu hiện của thụ thể trên bề mặt CD123 được định lượng bằng phương pháp FACS sử dụng BangsLabs Quantum FITC-5kit (Catalog #855, Bangs Laboratories, Inc). Một tập hợp gồm 10 dòng đơn bào cho từng dòng tế bào được chọn để sàng lọc, và được định lượng về biểu hiện ECD CD123. Các dòng tế bào được sử dụng để sàng lọc các kết quả có biểu hiện bề mặt bằng khoảng 500.000 bản sao ECD CD123 trên một tế bào.

Tạo protein của ECD CD123 hòa tan

Protein nhãn His ECD CD123 SP1 người tái tổ hợp (Lô #LV081110A), tương ứng với các axit amin 20 đến 305 của CD123 SP1 (SỐ ID TRÌNH TỰ:1) được lấy từ các hệ thống R&D (#301-R3/CF) để sử dụng trong sàng lọc thực khuẩn và sàng lọc tìm kết quả. Protein được kiểm tra về nội độc tố trước khi sử dụng và được biotin hóa cho các nghiên cứu sàng lọc thực khuẩn. Nguyên liệu này cũng được sử dụng cho các phép đo liên kết và ái lực.

Protein ECD CD123 SP2 người tái tổ hợp tương ứng với các axit amin 18-225 của CD123 SP2 người (SỐ ID TRÌNH TỰ: 2) được tinh chế để sử dụng cho các phép đo liên kết và ái lực. Điều chế ADN bổ sung bằng các kỹ thuật tổng hợp gen (Bằng sáng chế Hoa Kỳ số 6,670,127; Bằng sáng chế Hoa Kỳ số6,521,427). Các

plasmid để biểu hiện ECD CD123 SP2 hòa tan tổng hợp được điều chế bằng các kỹ thuật sinh học phân tử tiêu chuẩn. Mảnh gen ECD CD123 SP2 với trình tự tín hiệu gp67 đầu N và nhãn 6-His tag đầu C được tách dòng vào các vị trí Eco RI và Not I của pFastbac1(Invitrogen) và được biểu hiện bằng hệ thống Bac to Bac (Invitrogen) trong High Five Cells (Invitrogen). Protein tiết ra (SEQ ID NO: 226) được tinh chế qua các cột HisTrap (GE) và Superdex 75 (GE). Nguyên liệu này được sử dụng cho các phép đo liên kết và ái lực và ánh xạ epitope.

Các protein ECD CD123 hòa tan được biotin hóa bằng SureLink Biotinylation Kit (KPL #86-00-01) theo hướng dẫn nhà sản xuất. Các protein được cho chạy trên SDS/PAGE để xác nhận tình trạng monome.

Kháng thể kháng CD3 dùng cho tinh thể học tia X

Kháng thể đơn dòng SP34, lớp kháng thể IgG3/lambda chuột, được mua từ BD Biosciences Pharmingen (San Diego, CA), mã loại 556611 và bao gồm các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ biểu hiện trong SỐ ID TRÌNH TỰ lần lượt là 4 và 5.

Ví dụ 2: Nhận dạng kháng thể đơn dòng kháng CD123 người

Sàng lọc dung dịch các thư viện Fab-pIX người mới [Shi, L., và cộng sự, J Mol Biol (Tạp chí sinh học phân tử), 2010. 397(2): trang 385-396. WO 2009/085462], gồm có các thư viện chuỗi nặng VH1-69, 3-23 và 5-51 bắt cặp với các thư viện chuỗi nhẹ Vk1-39, 3-11, 3-20 và 4-1, được thực hiện bằng phương pháp thu trên hạt từ tính phủ streptavidin-kháng nguyên được biotin hóa (Rothe và cộng sự, J. Mol. Biol. (Tạp chí sinh học phân tử) 376:1182-1200, 2008; Steidl và cộng sự, Mol. Immunol. (Miễn dịch học phân tử) 46: 135-144, 2008) trong bốn vòng tiếp theo.

Gen pIX được cắt ra từ ADN phagemid sau bốn vòng sàng lọc để tạo các vùng mã hóa Fab (mảnh gắn kháng nguyên) hòa tan được gắn nhãn his. Các Fab được biểu hiện ở E.coli và được sàng lọc về sự liên kết với protein nhãn His tag ECD CD123 SP1 người tái tổ hợp trong xét nghiệm ELISA. Tóm tắt như sau, đĩa Nunc Maxisorp 96 lỗ (Nunc #437111) được bao phủ kháng thể kháng Fd người từ cừu (điểm gắn #PC075) trong PBS ở mức 1 µg/mL qua đêm ở 4°C. Các dòng tế bào vi khuẩn chứa vectơ biểu hiện Fab được nuôi lớn trong 450 µL 2xYT (Carbenecillin) trong các đĩa nuôi cấy có các lỗ sâu cho đến khi trở nên đục (OD600 ≈ 0,6). Biểu hiện Fab được cảm ứng bởi việc bổ sung IPTG đến hàm lượng 1 mM. Môi trường

nuôi cấy được cho phát triển qua đêm ở 30°C và sau đó được ly tâm để làm trong. Các đĩa Maxisorp phủ kháng thể kháng Fd được rửa một lần bằng TBS, Tween-20 0,5% (Sigma #79039-10PAK) và được lấp đầy bằng 200 µL PBS-Tween (0,5%) + sữa khô không béo (3%) mỗi lỗ trong một giờ ở nhiệt độ phòng. Tại bước này và tất cả các bước sau, các đĩa được rửa ba lần bằng TBS, Tween-20 0,5% (Sigma #79039-10PAK). Mỗi lỗ nhận được 50 µL lớp bề mặt Fab, sau đó ủ một giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi rửa, 50 uL CD123 biotin hóa được bổ sung và được ủ một giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi rửa, bổ sung 50 µL Streptavidin:HRP (Pierce #21130) với tỷ lệ pha loãng 1:5000 và ủ các đĩa một giờ ở nhiệt độ phòng. Các đĩa được rửa và bổ sung 50 uL cơ chất phát quang hóa học, PoD (Roche # 121-5829500001), theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các đĩa được đọc về độ phát quang trên thiết bị đọc đĩa EnVision (Perkin Elmer). Các lỗ hiển thị tín hiệu >gấp 5 lần nền được coi là đạt kháng thể kết quả.

Các dòng tế bào thể hiện sự liên kết với protein nhãn His tag ECD CD123 SP1 người tái tổ hợp được giải trình tự ở các vùng biến đổi chuỗi nặng (HC) và chuỗi nhẹ (LC). Tổng cộng 52 trình tự Fab đơn nhất được nhận dạng bằng sàng lọc thực khuẩn và 45 cuối cùng được chuyển hóa thành lớp IgG1 bằng tách dòng trong dung hợp. (Bảng 1) Thực hiện tách dòng dung hợp bằng cách khuyếch đại PCR bằng kit PCR SuperMix High Fidelity kit (Life Technologies # 10790-020) các vùng biến đổi chuỗi nặng (HC) và chuỗi nhẹ (LC) và tách dòng vào các điểm Esp3I trong vDR149 đối với HC và vDR157 đối với LC bằng kit In-Fusion® HD Cloning Plus (Clontech # 638909). VH và VL của các kháng thể kết quả thu được được trình bày dưới đây trong Bảng 4.

Bảng 1. Các trình tự CDR của các kháng thể đơn dòng được tạo từ sàng lọc thực khuẩn kháng protein nhãn His ECD CD123 SP1 người tái tổ hợp (các SỐ ID TRÌNH TỰ tương ứng được để trong các dấu ngoặc đơn)

ID	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
I3RB1	DYGMS (6)	VIRGGGSSKYYADSVKG (7)	HSGSFRFNELDY (8)	KSSQSVLYSSNNKNYLA (9)	WASTRES (10)	QQYYSTPLT (11)

ID	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
I3RB2	GYWMH (12)	AIRSDGSSKYYADSVKG (13)	DGVIEDTFDY (14)	RASQSVSSYLA (15)	DASNRAT (16)	QQRSNWPLT (17)
I3RB3	SYWMS (18)	GIKYDGGSKYYADSVKG (19)	KWMSYFDY (20)	KSSQSVLYSSNNKNYLA (9)	WASTRES (10)	QQYYSTPLT (11)
I3RB4	GYGMS (21)	AISGSGGSTYYADSVKG (22)	GNWYYGLGFDY (23)	RASQSVSSSYLA (24)	GASSRAT (25)	QQYGSSPLT (26)
I3RB5	GYWMS (27)	GINYDGGSTYYADSVKG (28)	DHFLAEFDY (29)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB6	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	GLFNWSNVALDY (35)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB7	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	GKRWLADAGDFDY (36)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB8	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	HGFAWNDYSLLDY (37)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB9	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	GARWFNPPENLDY (38)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB10	SYGIS (39)	WISAIFGNTNYAQKFQG (40)	GGLLYYASYLDY (41)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB11	SYGIS (39)	GIIPIFGTANYAQKFQG	DLFSWRYSNFDY	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS	QQSYSTPLT

ID	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
		(34)	(42)		(31)	(32)
I3RB12	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQ KFQG (34)	ADRVWDYY LDY (43)	RASQSISSYLN (30)	AASSL QS (31)	QQSYSTP LT (32)
I3RB13	SYGIS (39)	GIIPIFGNTNYAQ KFQG (44)	QSGFYVVRL DY (45)	RASQSVSSYLA (15)	DASNR AT (16)	QQRSNW PLT (17)
I3RB14	SYGIS (39)	WISAIFGTTNYA QKFQG (46)	GGPLRYYNH FDY (47)	RASQSISSYLN (30)	AASSL QS (31)	QQSYSTP LT (32)
I3RB15	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQ KFQG (34)	DLFSLRYSFL DY (48)	RASQSISSYLN (30)	AASSL QS (31)	QQSYSTP LT (32)
I3RB16	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQ KFQG (34)	GAVWGDQW FDY (49)	RASQSISSYLN (30)	AASSL QS (31)	QQSYSTP LT (32)
I3RB17	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQ KFQG (34)	GALSLWYSF LDY (50)	RASQSISSYLN (30)	AASSL QS (31)	QQSYSTP LT (32)
I3RB18	SYWI S (51)	IIDPSDSDTRYSP SFQG (52)	GDGSTDLDY (53)	RASQSVSSSYLA (24)	GASSR AT (25)	QQDYGFP WT (54)
I3RB19	NYAM S (55)	GIRGNGSSTYYA DSVKG (56)	GGPIGARFPD YLDY (57)	RASQSIGDFLN (58)	YASSL QS (59)	QQSYSTP LT (32)
I3RB20	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQ KFQG (34)	DDQIWGSYH LDY (60)	RASQSISSYLN (30)	AASSL QS (31)	QQSYSTP LT (32)
I3RB	SYAIS	GIIPIFGTANYAQ	EGWWGQGK	RASQSVANFLA	AASNR	QQYFHW

ID	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
21	(33)	KFQG (34)	FDY (61)	(62)	AT (63)	PYT (64)
I3RB 22	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQ KFQG (34)	NLFYWADSV YLDY (65)	RASQSVNKWLA (66)	YASNR AT (67)	QQGIDWP RT (68)
I3RB 23	SYGIS (39)	GIIPIFGTANYAQ KFQG (34)	EGSSWKNPR YVFDY (69)	RASQSISSYLN (30)	AASSL QS (31)	QQYFDFP LT (70)
I3RB 24	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQ KFQG (34)	HTDAWGYR LDY (71)	RASQSISSYLN (30)	AASSL QS (31)	QQSYSTP LT (32)
I3RB 25	SYGIS (39)	GISAIFGNANYA QKFQG (72)	RFKWWESYF DY (73)	RASQSISSYLN (30)	AASSL QS (31)	QQSYSTP LT (32)
I3RB 26	SYGIS (39)	GIIPIFGTANYAQ KFQG (34)	NGFAWSVSG NLDY (74)	RASQSVDNWLA (75)	GASNR AT (76)	QQSISAP YT (77)
I3RB 27	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQ KFQG (34)	AGWWNLRY GLDY (78)	RASQSVAKSLA (79)	AASNR AT (63)	QQFIGWP IT (80)
I3RB 28	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQ KFQG (34)	APFTWDYSR LDY (81)	RASQSISSYLN (30)	AASSL QS (31)	QQSYSTP LT (32)
I3RB 29	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQ KFQG (34)	DSRIWSFSLD Y (82)	RASQSIGEWLN (83)	AASSL QS (31)	QQYYHFP LT (84)
I3RB 30	SYAIS (33)	WIIPIFGTANYA QKFQG (85)	LVYSSDFDY (86)	RASQSVANWLA (87)	YASNR AT (67)	QQYDGW PRT (88)

ID	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
I3RB31	SYAIS (33)	GISAYFGNANYAQKFQG (89)	SYFGDAYFDY (90)	RASQSVDKDLA (91)	GASNRAT (76)	QQYDRAPIT (92)
I3RB32	SYGIS (39)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	GAWWAYDTYLDY (93)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB33	SYGIS (39)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	GYWHWNYDYLDY (94)	RASQSVNDWLA (95)	GASNRAT (76)	QQYKRAPYT (96)
I3RB34	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	GWSYYRLDY (97)	RASQSVDKWLA (98)	YASNRAT (67)	QQFDRAPFT (99)
I3RB35	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	HLFWDAGPLDY (100)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQYFSPPYT (101)
I3RB36	SYGIS (39)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	DLHVWAYSNFDY (102)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB37	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	DKTDFPSRLDY (103)	RASQSIATWLN (104)	AASSLQS (31)	QQYITFPLT (105)
I3RB38	SYGIS (39)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	DLMIWRFENFDY (106)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB39	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	EYGSLDY (107)	RASQSVADFLA (108)	KASNRAT (109)	QQYNGWPWT (110)
I3RB40	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG	GQWWADTWFDY	RASQSVAKWLA (112)	GASNRAT	QQYHTAPWT

ID	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
		(34)	(111)		(76)	(113)
I3RB41	SYAMS (114)	AISGSGGSTYYADSVKG (22)	VAYWEFFVYESLDY (115)	RASQSVSSSYLA (24)	GASSRAT (25)	QQYGSSPLT (26)
I3RB42	SYAMS (114)	AISGSGGSTYYADSVKG (22)	HDWAFWIVFLDY (116)	RASQSVSSYLA (15)	DASNRAT (16)	QQRSNWPLT (17)
I3RB43	SYWMH (117)	AIRSDGSSKYYADSVKG (13)	DGIVMDTFDY (118)	RASQSVSSYLA (15)	DASNRAT (16)	QQRSNWPLT (17)
I3RB44	SYWIS (51)	IIDPSDSDTRYSPSFQG (52)	GDGSTDLDY (53)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)
I3RB47	SYAIS (33)	GIIPIFGTANYAQKFQG (34)	DLFSWRYSNFDY (42)	RASQSISSYLN (30)	AASSLQS (31)	QQSYSTPLT (32)

Bảng 4: Các trình tự V_H và V_L của các kháng thể đơn dòng (mAb) được tạo ra từ sàng lọc thực khuẩn kháng CD123

ID mAb	AA Trình tự axit amin VH	SỐ ID TRÌNH TỰ:	Trình tự axit amin VL	SỐ ID TRÌNH TỰ:
I3RB01	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMSWVRQAPGKGLEWVSVIRGGGSSKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKHSGSFRFNELDYWGQGTLV	119	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPLTFGQGTKV	164

	TVSS		EIK	
I3RB02	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYWMHWVRQAPGKGLEWVSAIRSDGSSKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGVIEDTFDYWGQGTLVTVSS	120	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIK	165
I3RB03	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVSGIKYDGGSKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKKWMSYFDYWGQGTLVTVSS	121	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPLTFGQGTKVEIK	164
I3RB04	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYGMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGNWYYGLGFDYWGQGTLVTVSS	122	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGQGTKVEIK	166
I3RB05	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYWMSWVRQAPGKGLEWVSGINYDGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDHFLAEFDYWGQGTLVTVSS	123	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGQGTKVEIK	167

I3RB06	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR GLFNWSNVALDYWGQGTL VTVSS	124	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	167
I3RB07	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR GKRWLADAGDFDYWGQGT LVTVSS	125	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	167
I3RB08	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR HGFAWNDYSLLDYWGQGT LVTVSS	126	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	167
I3RB09	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR GARWFNPPENLDYWGQGTL VTVSS	127	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	167
I3RB10	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYGISWVRQ	128	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ	167

	APGQGLEWMGWISAIFGNT NYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCA RGGLLYYASYLDYWGQGTL VTVSS		KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	
I3RB11	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYGISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR DLFSWRYSNFDYWGQGTLV TVSS	129	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	167
I3RB12	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR ADRVWDYYLDYWGQGTLV TVSS	130	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	167
I3RB13	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYGISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGNTN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR QSGFYVVRLDYWGQGTLVT VSS	131	EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASNRAT GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYCQQRSNW PLTFGQGTKVEIK	165
I3RB14	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYGISWVRQ APGQGLEWMGWISAIFGTTN YAQKFQGRVTITADESTSTA	132	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS	167

	YMELSSLRSEDTAVYYCAR GGPLRYYNHFDYWGQGTLV TVSS		LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	
I3RB15	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR DLFSLRYSFLDYWGQGTLVT VSS	133	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	167
I3RB16	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR GAVWGDQWFDYWGQGTLV TVSS	134	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	167
I3RB17	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR GALSLWYSFLDYWGQGTLV TVSS	135	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	167
I3RB18	EVQLVQSGAEVKKPGESLKI SCKGSGYSFTSYWISWVRQ MPGKGLEWMGIIDPSDSDTR YSPSFQGQVTISADKSISTAY LQWSSLKASDTAMYYCARG DGSTDLDYWGQGTLVTVSS	136	EIVLTQSPGTLSLSPGERAT LSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQDYGF PWTFGQGTKVEIK	168

I3RB19	EVQLLESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYAMSWVRQ APGKGLEWVSGIRGNGSSTY YADSVKGRFTISRDNSKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGPIGARFPDYLDYWGQGT LVTVSS	137	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSIGDFLNWYQQ KPGKAPKLLIYYASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	169
I3RB20	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR DDQIWGSYHLDYWGQGTLV TVSS	138	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	167
I3RB21	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCARE GWWGQGKFDYWGQGTLVT VSS	139	EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVANFLAWYQQ KPGQAPRLLIYAASNRAT GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYCQQYFHW PYTFGQGTKVEIK	170
I3RB22	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR NLFYWADSVYLDYWGQGT LVTVSS	140	EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVNKWLAWYQ QKPGQAPRLLIYYASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQGID WPRTFGQGTKVEIK	171
I3RB23	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYGISWVRQ	141	EIVLTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ	172

	APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCARE GSSWKNPRYVFDYWGQGTL VTVSS		KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQYFDFP LTFGQGTKVEIK	
I3RB24	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR HTDAWGYRLDYWGQGTLV TVSS	142	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	167
I3RB25	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYGISWVRQ APGQGLEWMGGISAIFGNAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCARR FKWWESYFDYWGQGTLVT VSS	143	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	167
I3RB26	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYGISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR NGFAWSVSGNLDYWGQGTL VTVSS	144	DIQMTQSPATLSLSPGERA TLSCRASQSVDNWLAWY QQKPGQAPRLLIYGASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSIS APYTFGQGTKVEIK	173
I3RB27	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA	145	EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVAKSLAWYQQ KPGQAPRLLIYAASNRAT GIPARFSGSGSGTDFTLTIS	174

	YMELSSLRSEDTAVYYCAR AGWWNLRYGLDYWGQGTL VTVSS		SLEPEDFAVYYCQQFIGW PITFGQGTKVEIK	
I3RB28	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR APFTWDYSRLDYWGQGTLV TVSS	146	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	167
I3RB29	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR DSRIWSFSLDYWGQGTLVTV SS	147	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSIGEWLNWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQYYHF PLTFGQGTKVEIK	175
I3RB30	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGWIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCARL VYSSDFDYWGQGTLVTVSS	148	EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVANWLAWYQ QKPGQAPRLLIYYASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQYDG WPRTFGQGTKVEIK	176
I3RB31	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGISAYFGNA NYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCA RSYFGDAYFDYWGQGTLVT VSS	149	EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVDKDLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQYDR APITFGQGTKVEIK	177

I3RB32	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYGISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR GAWWAYDTYLDYWGQGTL VTVSS	150	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	167
I3RB33	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYGISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR GYWHWNYDYLDYWGQGTL VTVSS	151	EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVNDWLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQYKR APYTFGQGTKVEIK	178
I3RB34	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR GWSYYRLDYWGQGTLVTVS S	152	EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVDKWLAWYQ QKPGQAPRLLIYYASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQFDR APFTFGQGTKVEIK	179
I3RB35	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR HLFWDAGPLDYWGQGTLVT VSS	153	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQYFSPP YTFGQGTKVEIK	180
I3RB36	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYGISWVRQ	154	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ	167

	APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR DLHVWAYSNFDYWGQGTL VTVSS		KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	
I3RB37	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR DKTDFPSRLDYWGQGTLVT VSS	155	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSIATWLNWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQYITFP LTFGQGTKVEIK	181
I3RB38	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYGISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR DLMIWRFENFDYWGQGTLV TVSS	156	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	167
I3RB39	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCARE YGSLDYWGQGTLVTVSS	157	EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVADFLAWYQQ KPGQAPRLLIYKASNRAT GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYCQQYNG WPWTFGQGTKVEIK	182
I3RB40	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR	158	EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVAKWLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASNRA TGIPARFSGSGSGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQYHT	183

	GQWWADTWFDYWGQGTL VTVSS		APWTFGQGTKVEIK	
I3RB41	EVQLLESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGSTY YADSVKGRFTISRDNSKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAK VAYWEFFVYESLDYWGQGT LVTVSS	159	EIVLTQSPGTLSLSPGERAT LSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSS PLTFGQGTKVEIK	166
I3RB42	EVQLLESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGSGGSTY YADSVKGRFTISRDNSKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAK HDWAFWIVFLDYWGQGTLV TVSS	160	EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASNRAT GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYCQQRSNW PLTFGQGTKVEIK	165
I3RB43	EVQLLESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYWMHWVRQ APGKGLEWVSAIRSDGSSKY YADSVKGRFTISRDNSKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAK DGIVMDTFDYWGQGTLVTV SS	161	EIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASNRAT GIPARFSGSGSGTDFTLTIS SLEPEDFAVYYCQQRSNW PLTFGQGTKVEIK	165
I3RB44	EVQLLESGAEVKKPGESLKIS CKGSGYSFTSYWISWVRQM PGKGLEWMGIIDPSDSDTRY SPSFQGQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCARGD GSTDLDYWGQGTLVTVSS	162	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	167

I3RB47	QVQLVQSGAEVKKPGSSVK VSCKASGGTFSSYAISWVRQ APGQGLEWMGGIIPIFGTAN YAQKFQGRVTITADESTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCAR DLFSWRYSNFDYWGQGTLV TVSS	163	DIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGQGTKVEIK	167

Ví dụ 3: Xét nghiệm liên kết tế bào MSD với CD123 SP1 người, CD123 SP2 người, và CD123 SP1 khỉ

Đánh giá sự liên kết kháng thể CD123 với tế bào pDisplay được kiến tạo bằng xét nghiệm liên kết tế bào MSD (Mesoscale). Mục đích của xét nghiệm sàng lọc này là để nhận dạng các kháng thể liên kết với các tế bào biểu hiện CD123 SP1 và SP2 người cũng như phản ứng chéo với các tế bào biểu hiện CD123 SP1 khỉ.

Các tế bào được giữ cố định và các thực khuẩn được xét nghiệm theo bộ ba. Tóm tắt như sau, lớp bề mặt biểu hiện hoặc kháng thể CD123 tinh chế được chuẩn hóa ở mức 10 µg/mL. 5000 tế bào mỗi lỗ được đổ vào một đĩa 384 lỗ (MA6000, loại L21XB, MSD) và cho kết dính trong 2 giờ. Sau đó các tế bào được phủ bằng FBS 20% trong PBS (Gibco) trong 15 phút. Sau đó bổ sung lớp kháng thể bề mặt và để ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Các tế bào được rửa 3 lần bằng PBS và sau đó kháng thể thứ cấp được gắn nhãn ruteni (Jackson Immuno Research) được bổ sung với lượng 1 µg/mL và được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó áp dụng bước rửa tiếp theo và thêm 35 µL dung dịch đệm đọc MSD T (không có chất hoạt động bề mặt) vào mỗi lỗ và ủ trong 30 phút để được phát hiện. Sau đó các đĩa được đọc bằng thiết bị Sector Imager 2400 (MSD). Dữ liệu được chuẩn hóa thành các đối chứng và được vẽ đồ thị bằng phiên bản GraphPad Prism Version 5. Một chất liên kết dương được xác định là kết quả với tín hiệu lớn hơn gấp 3 lần nền (Hình 2A, B và C). Xét nghiệm được lặp lại để nhất quán dữ liệu và chọn ra các chất liên kết hàng đầu để phát triển tiếp. Các kết quả sau đây có tính liên kết với tất cả ba dòng tế bào: I3RB2, I3RB5, I3RB8, I3RB18, I3RB20, I3RB21, và I3RB35.

Ví dụ 4: Đo ái lực bằng SPR.

Đo ái lực ProteOn

Ái lực giữa 29 ứng viên kháng CD123 với ECD CD123 SP1 và ECD CD123 SP2 tái tổ hợp của người được đo bằng phương pháp cộng hưởng Plasmon bề mặt (SPR) sử dụng hệ thống mảng tương tác protein ProteOn XPR36 (BioRad).

Tốc độ kết hợp và phân ly ECD CD123 SP1 hoặc ECD CD123 SP2 được đo cho mỗi biến thể. Bề mặt bộ cảm biến sinh học được chuẩn bị bằng cách liên kết cộng hóa trị kháng thể kháng IgG (Fc) người từ dê với bề mặt chip GLC (BioRad) theo hướng dẫn của nhà sản xuất về hóa học ghép đôi amin. Khoảng 8800 RU (đơn vị đáp ứng) kháng thể kháng IgG (Fc) người từ dê (Jackson ImmunoResearch laboratories Prod # 109-005-098) được giữ cố định. RU cố định cũng bao gồm kháng thể kháng Fc chuột từ dê đã được bổ sung để thu nạp các kháng thể khác không được đưa vào các kháng thể được báo cáo ở đây. Vì tỷ lệ hỗn hợp là 1:1, khoảng 50% các RU cố định này dự kiến là kháng thể kháng Fc người từ dê. Các thí nghiệm động học được thực hiện ở 25°C trong dung dịch đệm chạy (PBS pH 7,4, 0,005% P20, 3 mM EDTA). Thực hiện pha loãng tuần tự ECD CD123 SP1 và ECD CD123 SP2 của người gấp 4 lần (1:3), bắt đầu với hàm lượng 400 nM trong dung dịch đệm chạy. Thu được mức trung bình 300 RU kháng thể đơn dòng (174-600) trên mỗi kênh của chip cảm biến. Số điểm tham chiếu (bề mặt được điều hòa bằng kháng thể kháng IgG (Fc) người từ dê) không chứa ứng viên thu được đã được sử dụng làm bề mặt tham chiếu. Sau khi thu được kháng thể đơn dòng, tiêm 3 phút (pha kết hợp) kháng nguyên với lượng 40 µL/phút, tiếp theo là 10 phút dung dịch đệm (pha phân ly). Bề mặt chip được tái tạo bằng cách tiêm axit phosphoric 0,85% với lượng 100 µL/phút. Dữ liệu đã được xử lý trên phần mềm thiết bị. Thực hiện trừ tham chiếu kép từ dữ liệu bằng cách trừ đường cong được tạo ra bằng việc tiêm dung dịch đệm từ đường cong đã trừ tham chiếu để tiêm chất phân tích. Phân tích động học dữ liệu được thực hiện bằng cách sử dụng mẫu liên kết Langmuir 1:1 phù hợp với nhóm. Kết quả cho mỗi kháng thể đơn dòng được báo cáo dưới dạng K_a (kon hay tốc độ kết hợp), Kd (koff hay tốc độ phân ly), K_D (Hằng số cân bằng phân ly) (Bảng 5).

Kết quả cho thấy tất cả 29 kháng thể đơn dòng liên kết với ECD CD123 SP1, nhưng chỉ 6 trong số kháng thể đơn dòng đó cho thấy sự liên kết với ECD CD123 SP2. Để truy nhập khả năng tái lập dữ liệu, 4 trong số các kháng thể được chạy ít nhất hai

lần. Nói chung, các kết quả cho biết khả năng tái lập tốt giữa các bản sao, ngoại trừ I3RB1 có tốc độ kết hợp chậm.

Bảng 5. Đánh giá ái lực đối với các kháng thể kết quả bộ thực khuẩn 1 bằng SPR

CD123, SP1	CD123, SP1			CD123, SP2		
Tên mẫu	kon (1/Ms)	koff (1/s)	K_D (nM)	kon (1/Ms)	koff (1/s)	K_D (nM)
I3RB1	2,37E+04	5,69E-04	24,00	1,48E+04	4,57E-04	30,8
I3RB1	6,22E+03	1,88E-04	30,30	3,52E+03	3,70E-04	105
I3RB1	5,97E+04	7,82E-05	1,31	2,67E+04	≤5e-5	≤1,87
I3RB1	6,06E+04	2,45E-04	4,05	1,57E+04	1,50E-04	9,59
I3RB2	1,06E+06	4,77E-03	4,50	1,81E+06	3,35E-03	1,85
I3RB5	8,91E+05	1,14E-02	12,80	1,32E+06	6,43E-03	4,88
I3RB5	8,61E+05	1,11E-02	12,90	1,52E+06	6,23E-03	4,09
I3RB6	5,14E+05	5,93E-03	11,50	NBO		
I3RB7	9,54E+05	1,47E-02	15,40	NBO		
I3RB8	5,68E+05	1,95E-03	3,43	NBO		
I3RB9	6,80E+05	8,43E-03	12,40	NBO		
I3RB11	8,74E+05	2,53E-03	2,89	NBO		
I3RB12	8,12E+05	7,80E-03	9,61	NBO		
I3RB16	4,24E+05	2,12E-03	5,00	NBO		
I3RB16	3,87E+05	2,23E-03	5,77	NBO		
I3RB17	5,85E+05	2,01E-03	3,44	NBO		
I3RB18	1,44E+06	8,20E-04	0,57	2,69E+06	9,78E-04	0,363
I3RB19	2,11E+05	2,51E-02	119,00	3,34E+05	1,61E-02	48,3
I3RB20	6,31E+05	1,06E-03	1,68	NBO		
I3RB21	5,21E+05	1,14E-03	2,19	NBO		
I3RB22	2,57E+05	1,06E-03	4,12	NBO		
I3RB24	1,13E+06	2,26E-01	201,00	NBO		
I3RB28	5,28E+05	2,11E-03	3,99	NBO		
I3RB29	2,24E+05	1,32E-03	5,90	NBO		
I3RB30	7,25E+05	3,02E-03	4,17	1,45E+05	4,80E-02	330
I3RB32	8,68E+05	9,42E-04	1,09	NBO		
I3RB33	4,17E+05	1,77E-03	4,23	NBO		
I3RB34	4,97E+05	2,83E-02	56,80	NBO		
I3RB35	1,04E+06	2,93E-03	2,83	NBO		
I3RB36	6,75E+05	1,66E-03	2,47	NBO		
I3RB37	1,07E+06	6,69E-03	6,27	NBO		
I3RB37	1,21E+06	6,21E-03	5,15	NBO		
I3RB38	8,88E+05	4,34E-04	0,49	NBO[1]		
I3RB40	5,74E+05	3,46E-03	6,02	NBO		
I3RB47	1,59E+05	2,12E-03	13,40	NBO		

1 NBO = không quan sát thấy liên kết

Đo ái lực bằng Biacore.

Ái lực của một số kháng thể với ECD CD123 SP1 và ECD CD123 SP2 cũng được đo bằng cộng hưởng Plasmon bề mặt (SPR) ở cả kháng thể đơn dòng (mAb) và mảnh gắn kháng nguyên (Fab) bằng cách sử dụng thiết bị Biacore. Các nghiên cứu động học được thực hiện ở 25°C bằng cách sử dụng Biacore 3000 (BIAcore, Inc., hiện thuộc GE Healthcare). Kháng thể đặc hiệu kháng IgG (Fc) người từ dê (Jackson ImmunoResearch laboratories Prod # 109-005-098) được liên kết cộng hóa trị với hai tế bào dòng chảy (thường là 1 và 2) trên bề mặt vàng được phủ carboxymethyl dextran (Chip CM-5, Biacore). Kháng thể đặc hiệu kháng Fd người từ cừu (điểm bám Prod # PC075) được liên kết cộng hóa trị với hai tế bào dòng chảy (thường là 3 và 4) trên bề mặt vàng được phủ metylcarboxy dextran (Chip CM-5, Biacore). Các nhóm metylcarboxy của dextran được hoạt hóa bằng N-Ethyl-N′-(3-Đimetylaminopropyl)carbođiimit (EDC) và N-hyđroxysuxinimit (NHS). Các kháng thể được ghép cặp tại pH 4,5 trong natri axetat 10 mM. Các vị trí phản ứng còn lại trên bề mặt được ngăn chặn bởi phản ứng với etanolamin. Để đo liên kết động học, thu kháng thể kháng CD123 trên kháng thể đặc hiệu kháng Fcγ người, trong khi thu các Fab trên kháng thể đặc hiệu kháng Fd bằng cách tiêm các phân tử kháng CD123 với lưu lượng 5 hoặc 6 µL/phút. Lần lượt thu được khoảng 75 RU kháng thể và khoảng 50 RU Fab. Sau khi thu được kháng thể và Fab, tiêm CD123 SP1 người hoặc CD123 SP2 người với hàm lượng trong khoảng 1,6 nM và 400 nM với lượng 40 µL/phút. Dữ liệu kết hợp được thu thập trong 2 phút, tiếp theo là 10 phút đối với dữ liệu phân ly. Bề mặt được tái tạo với 30 µL trong H3PO4 100 mM với lưu lượng 100 µL/phút. Tất cả mẫu được điều chế trong D-PBS chứa 3 mM EDTA và 0,005% chất hoạt động bề mặt P20. Dữ liệu được báo cáo là sự khác biệt giữa tín hiệu SPR giữa tế bào dòng chảy có chứa kháng thể hoặc Fab thu được và tế bào tham chiếu không chứa kháng thể hoặc Fab thu được. Sự đóng góp bổ sung của thiết bị vào tín hiệu được loại bỏ bằng cách trừ dữ liệu từ việc tiêm blank (không có kháng thể đang thử nghiệm) từ tín hiệu đã trừ tham chiếu. Dữ liệu được thực hiện ba lần và được phân tích theo các pha kết hợp và phân ly phù hợp ở tất cả hàm lượng (phù hợp toàn bộ) với mẫu liên kết 1:1 bằng cách sử dụng phần mềm BIAevaluation (BIAcore, Inc.). Các thí nghiệm trùng lặp được thực hiện và có sự thống nhất tốt. Dữ liệu được trình bày là giá trị trung bình.

Kết quả cho thấy rằng ái lực liên kết của ECD CD123 SP1 và ECD CD123 SP2 với kháng thể đơn dòng (mAb) (I3RB2, I3RB18, I3RB35, I3RB37) phù hợp với các mảnh gắn kháng nguyên (Fab) tương ứng (I3RB120, I3RB119, I3RB121, I3RB122) (Bảng 6.). Kết quả về tất cả kháng thể kháng CD123 được phân tích cũng cho thấy khoảng ái lực liên kết của Fab với ECD CD123 SP1 và ECD CD123 SP2 lần lượt là 1,8-46,9 nM và 0,4-12,5 nM; trong khi khoảng ái lực liên kết của kháng thể đơn dòng lần lượt là 1,2-52 nM và 0,3-11,7 nM.

Bảng 6. Các giá trị ái lực và tốc độ kết hợp/phân ly của các kháng thể kết quả thu được từ thực khuẩn 1 kháng CD123 bằng SPR (Biacore).

Cấu trúc	Lớp	rhCD123, SP1 K_D (nM)	rhCD123, SP2 K_D (nM)	rhCD123, SP1 k on trung bình ($M^{-1}s^{-1}$)	rhCD123, SP1 k off trung bình (s^{-1})
I3RB2	Mab	7,7	1,4	4,81E+05	3,72E-03
I3RB120	Fab	8,5	1,4	3,57E+05	3,04E-03
I3RB18	Mab	1,2	0,3	6,88E+05	8,08E-04
I3RB119	Fab	1,8	0,4	4,93E+05	8,91E-04
I3RB35	Mab	4,8	ND	5,40E+05	2,58E-03
I3RB121	Fab	6,3	1,2**	3,87E+05	2,45E-03
I3RB37	Mab	9,7	ND	5,45E+05	5,30E-03
I3RB122	Fab	11,5	ND	3,93E+05	4,50E-03

** Phản ứng thí nghiệm thấp hơn dự kiến

ND: liên kết biểu kiến, nhưng tín hiệu nằm ngoài tiêu chuẩn chấp nhận; (< 5 RU và chất lượng dữ liệu xấu hoặc sensogram (đồ thị phản ứng so với thời gian cộng hưởng plasmon bề mặt) bất thường)

Ví dụ 5: Cạnh tranh với 7G3

Xét nghiệm cạnh tranh CD123 bằng phương pháp ELISA

Bộ kháng thể CD123 được sàng lọc trong xét nghiệm ELISA về cạnh tranh liên kết với 7G3. 7G3 là kháng thể đơn dòng trung hòa, đã được định vị epitope trong phạm vi 50 axit amin đầu tiên của kháng nguyên CD123 SP1 (US6177078B1). Kháng thể đơn dòng 7G3 được mua từ BD Biosciences Pharmingen (San Diego, CA, Số danh mục 554526) và được gắn nhãn este NHS MSD Sulfo-Tag™ theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Meso Scale Discovery).

Đối với xét nghiệm ELISA về tính cạnh tranh CD123, các đĩa maxisorb trong gồm 96 lỗ được xử lý với 100 µL/lỗ histiđin anti-6x hàm lượng 2 µg/mL(R&D Systems Cat #: MAB050) được thực hiện trong dung dịch đệm bicacbonat, pH 9,4 (Pierce #: 28382) và được ủ ở 4^0C qua đêm. Sau đó các đĩa được rửa 3 lần bằng dung dịch đệm rửa ELISA, (PBS, Tween-20 0,01%) và sau đó được đổ đầy bằng 300 µL/lỗ StartingBlock có chứa Tween-20, PBST, (Thermo Scientific #: 37539). Tất cả lỗ đều được xử lý bằng 1 ng ECD CD123 SP1 người tái tổ hợp và các đĩa được ủ ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. ECD CD123 SP1 người không liên kết được rửa bằng dung dịch đệm rửa ELISA. 7G3 hoặc IgG2A chuột (IgG2A chuột), được điều chế trong môi trường biểu hiện (FreeStyle™ Expression media. Gibco #: 12338-018) với lượng 20 µg/mL và được cho vào đĩa theo hai bộ với lượng 50 µl/lỗ vào các lỗ tương ứng, trong khi đó các kháng thể đơn dòng kháng CD123 thử nghiệm được thêm vào với lượng 50 µl/lỗ với hàm lượng 2 µg/mL hoặc vừa đủ với các lỗ còn lại và các đĩa được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng kết hợp với lắc nhẹ. Sau đó bổ sung 7G3 được biotin hóa đến hàm lượng cuối cùng là 100 ng/mL vào tất cả lỗ và các đĩa được ủ thêm 1 giờ. Sau đó các đĩa được rửa 3 lần bằng dung dịch đệm rửa ELISA và tìm thấy 7G3 biotin hóa được liên kết bằng cách sử dụng phức hợp SA-HRP với mật độ quang 450 nm.

Các kháng thể đơn dòng kháng CD123 ức chế liên kết 7G3:CD123 được xác định ở mức ức chế 20% hoạt tính. Nghĩa là, một kháng thể được xem là chất ức chế nếu có khả năng ức chế sự liên kết giữa 7G3 được biotin hóa với ECD CD123 của người ở mức ít nhất là 20%. Dựa trên tiêu chuẩn lựa chọn này, 3 chất ức chế được nhận dạng: 13RB18, 13RB34, và 13RB44 (Hình 3).

Ví dụ 6: Xét nghiệm chức năng pSTAT5

Để đánh giá hoạt tính chất chủ vận hoặc chất đối kháng của kháng thể, bộ kháng thể được sàng lọc trong một xét nghiệm trên cơ sở tế bào về sự phosphoryl hóa STAT5

cảm ứng IL-3 bằng cách sử dụng tế bào TF-1 (đã mua). Sự hiện diện chất ức chế kháng thể đơn dòng kháng CD123 làm giảm sự phosphoryl hóa STAT5 khi kích thích bằng rhIL-3. Tiêu chuẩn ức chế 20% được sử dụng trong xét nghiệm chức năng STAT5 (ức chế 20% hoạt tính rhIL-3).

Khoảng 50.000 tế bào TF-1 (bệnh bạch cầu dạng hồng cầu ở người) được đổ vào mỗi lỗ của đĩa 96 lỗ với lượng 60 µL RPMI chứa FBS 10% và được ủ ở 37^0C bằng tủ ủ CO2 5% qua đêm. Tất cả mẫu được điều chế trong môi trường biểu hiện (Môi trường FreeStyleTM Expression. Gibco #: 12338-018). Các mẫu đối chứng nhận được 70 µL/giếng 7G3 hoặc lớp kháng thể đối chứng IgG2A chuột với hàm lượng 20 µg/mL. Đối với các lỗ còn lại, thêm 70 µL/lỗ các mẫu kháng thể đơn dòng kháng CD123 người với hàm lượng 2 µg/mL hoặc một lượng vừa đủ. Tất cả mẫu được ủ trong 1 giờ ở 37°C bằng tủ ủ $CO_2$5%. Sau đó các tế bào được xử lý bằng rhIL-3, IL-3 người tái tổ hợp, (PeproTech catalog#: 200-03) với hàm lượng cuối cùng là 10 ng/mL trong RPMI có chứa FBS 10% với ngoại lệ là các tế bào chỉ được xử lý bằng lớp kháng thể, xử lý bằng 7G3 hoặc không xử lý. Sau đó các mẫu được ủ thêm 15 phút ở 37°C bằng tủ ủ $CO_2$5%. Các tế bào bị ly giải bằng 46,7 µl dung dịch đệm ly giải hoàn toàn và rất lạnh cho mỗi lỗ và các mẫu được ủ trên băng trong 30 phút. Dung dịch thủy phân được trộn bằng cách hút và nhả 10 lần bằng ống hút. Sau đó STAT5 được phosphoryl hóa (pSTAT5a,b) được xác định bằng cách sử dụng bộ kit Phospho(Tyr694)/Total STAT5a,b từ Meso Scale Discovery (MSD #: K15163D-2) và làm theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Các kháng thể đơn dòng kháng CD123 ức chế sự phosphoryl hóa STAT5 bằng rhIL-3 được xác định ức chế 20% hoạt tính. Nghĩa là, một kháng thể được xem là chất ức chế nếu có khả năng ức chế sự phosphoryl hóa của STAT5 bằng rhIL-3 ít nhất ở mức 20%.

5 kháng thể đơn dòng cho thấy khả năng ngăn chặn sự kích thích của IL-3 đối với STAT5 (Hình 4A). 5 kháng thể đơn dòng này bao gồm 13RB18 cũng như 13RB19, 13RB30, 13RB34, và 13RB44. Tuy nhiên, khi được thí nghiệm ở mức 1 µg/mL, chỉ một kháng thể, 13RB18, đã ngăn chặn sự kích thích của IL-3 đối với phosphoryl hóa STAT5 trong các tế bào TF-1 (Hình 4B). Ngoài ra, 13RB18 (B18) cho thấy sự phụ thuộc liều

lượng trong xét nghiệm này (Hình 4C). Từ dữ liệu này, có thể kết luận rằng I3RB18 là kháng thể đối kháng duy nhất.

Ví dụ 7: Xác định ái lực đơn trị trên CD123 người

Liên kết Fab giữa hai kháng thể kết quả kháng CD123 (I3RB120 (Fab I3RB2), I3RB119 (Fab I3RB18) với CD123 SP1 khỉ hoặc người được biểu hiện trên bề mặt tế bào được phân tích hai lần bằng Công nghệ ái lực tế bào MSD để lấy số đo về liên kết đơn trị với CD123 bề mặt tế bào.

Ái lực đơn trị của các mẫu kháng thể kháng CD123 đã chọn với CD123 người hoặc khỉ được biểu hiện trên mặt tế bào được thực hiện bằng phương pháp kỹ thuật ái lực tế bào MSD (MSD-CAT). MSD-CAT được phát triển nội bộ như là một phương pháp không gắn nhãn để xác định ái lực bằng cách sử dụng các tế bào nguyên vẹn dưới dạng thông lượng cao. Các thí nghiệm này được thực hiện để đánh giá ái lực liên kết và tính đặc hiệu của ứng viên kháng CD123 với CD123 SP1 khỉ hoặc người trên bề mặt tế bào. Phân tích này cho phép so sánh ái lực của các ứng viên kháng CD123 với kháng nguyên người và khỉ khi không có CD123 khỉ hòa tan tái tổ hợp. Các dòng tế bào được sử dụng là CD123SP1 pDisplay người và CD123SP1 pDisplay khỉ. Để đo ái lực của sự tương tác này bằng phương pháp MSD-CAT, hàng loạt hỗn hợp với hàm lượng cố định của kháng thể kháng CD123 (1000, 200, 40 và/hoặc 8 pM) và hàm lượng thay đổi của tế bào (1,5 x107- 0 762 x107 tế bào/mL) được điều chế và được cho đạt đến sự cân bằng bằng cách quay đĩa trong 24 giờ ở 4°C. Các mẫu này được điều chế trong môi trường DMEM Glutamax chứa azit 0,05%, BSA 1%, EDTA 3 mM. Số lượng thụ thể (3,15-4,18) X 10^6 CD123 người/tế bào và (4,78-9,24) 10^6 CD123 khỉ/tế bào được chuyển hóa thành hàm lượng thụ thể M trong hỗn hợp dựa trên thể tích của phản ứng, mật độ tế bào (tế bào/L) và số Avogadro. Việc này dẫn đến khoảng hàm lượng bằng từ 104 nM đến 5,3 pM đối với CD123 người và 12 nM đến 0,6 pM đối với CD123 khỉ. Sau khi cân bằng, đĩa được quay ly tâm trong 5 phút ~1000 vòng/phút và kháng thể kháng CD3 tự do được tìm thấy trên lớp bề mặt. Kháng thể kháng CD123 tự do trong hỗn hợp được tìm thấy bằng điện hóa phát quang (ECL) sử dụng thiết bị đọc Mesoscale Discovery (MSD). Để phát hiện kháng thể kháng CD123 tự do trong hỗn hợp được cân bằng bằng Xét nghiệm miễn dịch điện hóa phát quang (ECL), các đĩa phát hiện được chuẩn bị. Để chuẩn bị đĩa phát hiện (kháng

nguyên bám vào đĩa trên các đĩa SA-MSD), các đĩa Tiêu chuẩn MSD Streptavidin được lấp đầy với 50 µL/lỗ dung dịch đệm xét nghiệm (PBS, (Life Sciences GIBCO 14190-136), Tween 20 0,05%, BSA 0,2%) trong 5 phút. Chất đệm xét nghiệm được loại bỏ mà không rửa và 50 µL/lỗ kháng nguyên được biotin hóa với hàm lượng 0,7 µg/mLtrong dung dịch đệm xét nghiệm được bổ sung vào các đĩa MSD và được ủ qua đêm (~16 giờ ở 4°C). Sau khi ủ qua đêm, đĩa được lấp đầy với 150 µL/lỗ dung dịch đệm xét nghiệm mà không loại bỏ kháng nguyên bao phủ, được ủ trong ~1 giờ ở nhiệt độ phòng và được rửa 5 lần bằng dung dịch đệm rửa (dung dịch đệm xét nghiệm không có BSA). 50 µL/lỗ lớp bề mặt từ các đĩa mẫu được chuyển sang các đĩa được phủ kháng nguyên, được ủ trong 60 phút và sau đó được rửa 3 lần bằng dung dịch đệm rửa. Sau đó, 50 µL kháng thể phát hiện được gắn nhãn ruteni được cho vào mỗi lỗ (kháng H+L người) và được ủ trong 1 giờ. Sau 1 giờ, các đĩa được rửa và 150 µL dung dịch đệm đọc MSD (được điều chế bằng cách pha loãng nguyên liệu với tỷ lệ 1:4 thành H_2O được chưng cất) được bổ sung vào mỗi lỗ. Các đĩa được đọc ngay trên Thiết bị đọc MSD Sector Imager 6000 về các mức phát quang. Tín hiệu ECL được MSD phát hiện đã được biểu hiện dưới dạng % kháng thể tự do trong hỗn hợp và dữ liệu được phân tích để xác định ái lực bằng cách sử dụng phương trình xác định bởi người dùng (bắt nguồn từ định luật tác dụng khối lượng) trong phần mềm Prism. Dữ liệu cho thấy I3RB18 và Fab của nó (I3RB119) là các chất liên kết chặt chẽ nhất liên kết với CD123 SP1 trên bề mặt tế bào bằng ái lực pM (hoặc ái lực biểu kiến đối với kháng thể đơn dòng) nhưng liên kết yếu hơn >10 lần với CD123 SP1 khỉ. Đối với I3RB18 và Fab của nó (I3RB119), không thể nhận được giá trị ái lực đối với kháng thể đơn dòng hoặc Fab kháng tế bào biểu hiện SP1 khỉ. Có thể kết luận rằng ái lực > 12 nM. Tuy nhiên, trong khi I3RB120 liên kết với cả hai kháng nguyên bằng ái lực nM, nó liên kết với CD123 SP1 người và khỉ bằng ái lực bằng hoặc <5 lần. Ái lực đạt được qua SPR đối với CD123 SP1 người yếu hơn ái lực quan sát được trên tế bào. Sự chênh lệch này rất có thể do sự hiện diện của kháng nguyên trên bề mặt tế bào và vị trí của epitope của kháng thể. Kết quả được trình bày trong Bảng 7.

Bảng 7. Giá trị ái lực của Fab với các tế bào CD123 đo được bằng MSD-CAT

	Tế bào CD123 người	Tế bào CD123 người	Tế bào CD123 khỉ	Tế bào CD123 khỉ
	K_D (xét nghiệm-1)	K_D (xét nghiệm-2)	K_D (xét nghiệm-1)	K_D (xét nghiệm-2)
Fab I3RB119	293 pM	367 pM	>15 nM[a]	>11,9 nM[a]
Fab I3RB120	~3,37 pM 3,44 nM[b]	~3,84 nM 3,81 nM[b]	2,4 nM	>11,9 nM[a]
mAb I3RB18	55[c] pM	343[c] pM	832[c] pM	>11,9[c] nM[a]
mAb 7G3	-	154 pM	-	57 pM

a K_D này lớn hơn giá trị được nêu, nhưng giá trị thực có thể không được xác định.

b Trong phần này, tham số Bo được giới hạn để thu được số chính xác thay vì số xấp xỉ. Thuật toán làm khớp dữ liệu đôi khi đưa ra các số xấp xỉ khi có sự thay đổi trong biểu đồ

c Đây là K_D biểu kiến vì nó có thể chịu ảnh hưởng bởi ái lực do liên kết lưỡng trị.

Ái lực được đo đối với Fab I3RB2 nhất quán với dữ liệu kháng thể đơn dòng đo được bằng Proteon. Ngoài ra, tế bào CD123 khỉ liên kết tốt với Fab này, cho thấy rõ ràng rằng I3RB2 là kết quả có phản ứng chéo. Sự đánh giá kháng thể đơn dòng I3RB18, và Fab tương ứng của nó (I3RB119) cho thấy ái lực thu được thông qua Proteon đối với CD123 SP1 tái tổ hợp yếu hơn so với ái lực quan sát được trên tế bào; 1 nM đối với protein tái tổ hợp so với 55-300 pM đối với tế bào. Sự chênh lệch này rất có thể do sự hiện diện của kháng nguyên trên bề mặt tế bào và vị trí của epitope của kháng thể. Không thể đo được giá trị ái lực đối với kháng thể đơn dòng hoặc Fab (ái lực > 12 nM). Điều này cho thấy kháng thể không phản ứng chéo dưới dạng đơn trị. Dữ liệu liên kết tế bào trước biểu thị sự phản ứng chéo rất có thể được hỗ trợ bởi sự liên kết lưỡng trị với bề mặt tế bào.

Ví dụ 8: Liên kết tế bào nội sinh

Sự xác nhận liên kết I3RB2 và I3RB18 với CD123 nội sinh trên tế bào AML được đo lường. Tế bào OCI-AML5 (DSMZ), biểu hiện khoảng 75.000 bản sao CD123 trên bề mặt tế bào, được sử dụng trong xét nghiệm liên kết tế bào MSD phụ thuộc liều. Sự liên kết kháng thể CD123 với tế bào AML được đánh giá bằng xét

nghiệm liên kết tế bào MSD (Mesoscale). Tóm tắt như sau, lớp bề mặt biểu hiện hoặc kháng thể CD123 tinh chế được sử dụng với khoảng liều lượng từ 40 µg/mL đến 0,039 µg/mL. 50.000 tế bào mỗi lỗ được đặt trong đĩa 96 lỗ (đĩa liên kết cao Mesoscale) và được cho bám vào đĩa trong 2 giờ. Sau đó các tế bào được phủ đầy bằng FBS 20% trong PBS cộng với chất chặn Fc (chất chặn Fc là phần Fc được tinh chế của kháng thể được tách papin (SỐ ID TRÌNH TỰ 209) trong 15 phút. Sau đó lớp kháng thể bề mặt được bổ sung và được để ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Các tế bào được rửa 3 lần bằng PBS và sau đó kháng thể thứ cấp được gắn nhãn ruteni (Jackson Immuno Research) được bổ sung với lượng 1 µg/mL và được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó áp dụng bước rửa tiếp theo và thêm 150 µLul dung dịch đệm đọc MSD T (không có chất hoạt động bề mặt) vào mỗi lỗ và ủ trong 30 phút để phát hiện. Sau đó các đĩa được đọc bằng thiết bị Sector Imager 2400 (MSD). Dữ liệu được chuẩn hóa theo đối chứng và được vẽ đồ thị bằng GraphPad Prism phiên bản 5.

Các kết quả cho thấy I3RB2 và I3RB18 liên kết với CD123 nội sinh được biểu hiện phụ thuộc liều lượng trên tế bào OCI-AML5 (Hình 5 A và B). Đối chứng dương, kháng thể đơn dòng 7G3, cũng được đưa vào xét nghiệm này làm mẫu so sánh (Hình 5C).

Ví dụ 9: Phân tích sự liên kết cạnh tranh giữa kháng thể đơn dòng CD123 với 13RB2 và 13RB18

Nghiên cứu về sự cạnh tranh được thực hiện đối với 13RB2 và 13RB18 so với các kháng thể kết quả CD123 SP1/SP2 phản ứng chéo khác và đối chứng 7G3 để xác định nhóm cạnh tranh của kháng thể kháng CD123 hoặc "các họ epitope".

Để xét nghiệm ELISA cạnh tranh, 5 µL (20 µg/mL) protein ECD CD123 tinh chế của người được tạo ra theo mô tả trong Ví dụ 1 được phủ lên đĩa MSD HighBind (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD) cho mỗi lỗ trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Phân ước 150 µL dung dịch đệm chất chặn MSD A 5% (Meso Scale Discovery) được thêm vào mỗi lỗ và được ủ trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Các đĩa được rửa 3 lần bằng dung dịch đệm HEPES 0,1 M, pH 7,4, sau đó bổ sung hỗn hợp kháng thể đơn dòng kháng CD123 được gắn nhãn với các đối thủ là kháng thể đơn dòng kháng CD123 khác nhau. Các kháng thể được gắn nhãn (20 nM) được ủ với 2 µM kháng thể đối thủ kháng CD123 không gắn nhãn, và sau đó được thêm vào các lỗ chỉ định với khối lượnghỗn

hợp 25 µL. Sau khi ủ trong 2 giờ cùng với việc lắc nhẹ ở nhiệt độ phòng, các đĩa được rửa 3 lần bằng dung dịch đệm HEPES 0,1 M (pH 7,4). Dung dịch đệm đọc MSD T được pha loãng bằng nước cất (gấp 4 lần) và được phân tán với lượng150 µL/lỗ và được phân tích bằng SECTOR Imager 6000. Các kháng thể được gắn nhãn este NHS MSD Sulfo-Tag™ theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Meso Scale Discovery).

Các kết quả của xét nghiệm ELISA cạnh tranh cho thấy I3RB2 cạnh tranh với 13RB60, 13RB70, 13RB79 và 13RB118 nhưng không cạnh tranh với các kháng thể khác bao gồm I3RB18 (Hình 6A). Lưu ý rằng khi I3RB2 được gắn nhãn, quan sát thấy sự cạnh tranh với I3RB60; tuy nhiên, khi I3RB60 được gắn nhãn, không quan sát thấy sự cạnh tranh. Một lý do khả thi cho điều này là một số tương tác liên kết không đặc hiệu. Khi đánh giá I3RB18, đã phát hiện ra rằng I3RB18 cạnh tranh với 13RB49 và 13RB55, nhưng không cạnh tranh với 13RB2 (Hình 6B).

Phân tích liên kết cạnh tranh đã xác định 2 nhóm cạnh tranh đối với các kháng thể CD123 SP1/SP2 phản ứng chéo (Bảng 8). Kháng thể đơn dòng I3RB2 không cạnh tranh với I3RB18 và chúng thuộc các nhóm epitope khác. Nhóm 1 (xám đậm) bao gồm các kháng thể đơn dòng 13RB2, 13RB60, I3RB70, I3RB79 và I3R118. Nhóm 2 (xám nhạt) bao gồm các kháng thể đơn dòng I3RB18, I3RB49 và I3RB55. Kháng thể đơn dòng 7G3 thương mại không cạnh tranh với bất kỳ kháng thể kháng CD123 nội bộ nào.

Bảng 8. Các kết quả về liên kết cạnh tranh giữa I3RB2 và I3RB18 được gắn nhãn ruteni với các kháng thể kháng CD123

	Kháng thể gắn nhãn Ru						
Kháng thể đối thủ	I3RB2	I3RB70	I3RB79	I3RB18	I3RB55	I3RB60	7G3
13RB2	+	+	+	—	—	—	—
13RB60	+	+	+	—	±	+	—
13RB70	+	+	+	—	±	—	—
13RB79	+	+	+	—	±	—	—
13RB118 (B102)	+	+	+	—	—	—	—
13RB18	—	—	—	+	±	—	—
13RB49	—	—	—	+	+	—	—
13RB55	—	—	—	+	+	—	—

7G3	—	—	—	—	—	—	+

Ví dụ 10: Ánh xạ epitope I3RB2 và I3RB18

Nghiên cứu về trao đổi H/D (hyđro/đoteri).

Để nhận dạng các epitope đối với I3RB2 và I3RB18 trên CD123 người, khối phổ dung dịch trao đổi hyđro/đetori (HDX-MS) được thực hiện bằng cách sử dụng các Fab tương ứng. Để trao đổi H/D, các quy trình được sử dụng để phân tích sự nhiễu loạn Fab tương tự với quy trình được mô tả trước đó (Hamuro *và cộng sự*, J. Biomol. Techniques (Tạp chí Kỹ thuật phân tử sinh học) (14:171–182, 2003; Horn *và cộng sự*, Biochemistry (Sinh hóa) 45:8488-8498, 2006) với một số sửa đổi. Kháng nguyên ECD CD123 SP2 được sử dụng cho các nghiên cứu này vì kháng nguyên ít phức tạp hơn phân tử SP1 do số vị trí glycosyl hóa giảm. ECD CD123 SP2 tái tổ hợp (SỐ ID TRÌNH TỰ:226) được ủ trong dung dịch nước được đoteri hóa trong thời gian được xác định trước dẫn đến sự liên kết đoteri ở các nguyên tử hyđro có thể trao đổi. ECD CD123 SP2 được đoteri hóa kết hợp với I3RB119 (Fab của I3RB18) hoặc I3RB120 (Fab của I3RB2) trong 43 µL đoteri oxit (D_2O) ở 4°C trong 30 giây, 2 phút, 10 phút và 60 phút. Phản ứng trao đổi được dập tắt bằng pH thấp và protein được thủy phân bằng pepsin. Các mức đoteri tại các peptit xác định được giám sát từ sự chuyển khối trên LC-MS (Sắc ký lỏng ghép khối phổ). Là đối chứng tham chiếu, mẫu ECD CD123 SP2 được xử lý tương tự ngoại trừ nó không kết hợp với các phân tử Fab. Các vùng liên kết với Fab được hiểu là các vị trí được bảo vệ tương đối khỏi sự trao đổi và vì vậy có chứa phần cất đoteri cao hơn mẫu ECD CD123 SP2 tham chiếu. Khoảng 94% protein có thể được ánh xạ đến các peptit đặc hiệu.

Sơ đồ về sự nhiễu loạn dung dịch HDX-MS của ECD CD123 SP2 với I3RB119 và I3RB120 được trình bày lần lượt trong Hình 7A và 7B. Một đoạn, các gốc 176-184 (RARERVYEF (SỐ ID TRÌNH TỰ: 227)), tương ứng với các gốc axit amin 195 – 202 của CD123 sp2, được bảo vệ mạnh mẽ bởi I3RB119. 2 vùng khác nhau, các gốc 145-156 (IQKRMQPVITEQ (SỐ ID TRÌNH TỰ: 228)) và các gốc 165-170 (LLNPGT (SỐ ID TRÌNH TỰ: 229)), lần lượt tương ứng với các gốc 164 – 175 và các gốc 184 – 189 của CD123 sp2, được I3RB120 nhận diện. Các kết quả HDX-MS cho biết các epitope của mức peptit dành cho I3RB119 và I3RB120. Không có các

vùng epitope chồng lấp đối với 2 kháng thể này. Các kết quả này phù hợp với dữ liệu liên kết cạnh tranh trước trong đó I3RB2 và I3RB18 không cạnh tranh với nhau.

Ví dụ 11: Ánh xạ epitope của kháng thể kháng CD123 I3RB18 bằng cấu trúc tinh thể

Epitope liên kết của kháng thể I3RB18 được xác định bằng tinh thể học tia X.

Mảnh Fv chuỗi đơn của kháng thể đơn dòng kháng CD123 I3RB18 được tạo ra dưới dạng: VL-(Gly4Ser)4-VH-Gly-His6 (SỐ ID TRÌNH TỰ:230). Nó được biểu hiện trong tế bào HEK293 Expi và được tinh chế bằng ái lực (HisTrap) và sắc ký trao đổi ion (Source 15S và Mono S).

Đồng dạng sp2 của ECD CD123 người (SỐ ID TRÌNH TỰ:231) với nhãn 8xHis đầu C được biểu hiện trong các tế bào côn trùng nhiễm vi rút Baculo và được tinh chế bằng ái lực (HisTrap) và sắc ký theo loại kích cỡ (Superdex 75).

Phức hợp scFv (kháng thể đơn chuỗi) CD123:I3RB18 được điều chế bằng cách trộn 1,8 mg CD123 (1,1 mg/mL) với 2,4 mg scFv (1,6 mg/mL) theo tỷ lệ mol bằng 1:1,2 (dư scFv) và được ủ qua đêm ở 4°C. SEC với tỷ lệ nhỏ (150 µg) cho thấy sự hình thành phức hợp. Protein được cô đặc đến 18 mg/mL trong 20 mM HEPES, pH 7,5, 100 mM NaCl.

Sự tinh thể hóa được thực hiện bằng phương pháp khuếch tán hơi ở 20°C ở dạng giọt ngồi trong đĩa tinh thể hóa 2 lỗ MRC (Swissci). Các tinh thể của phức hợp phù hợp với thử nghiệm tia X thu được trong các điều kiện: (NH4)2SO4 2,0 M, dung dịch đệm MES 0,1 M, pH 6,5. Dữ liệu tinh thể được cho trong Bảng 9. Một tinh thể được chuyển sang dung dịch mẹ được bổ sung glyxerol 24%, được làm đông trong nitơ lỏng và được sử dụng để thu thập dữ liệu nhiễu xạ tia X. Cấu trúc được xác định ở độ phân giải 3,5 Å.

Bảng 9. Dữ liệu tinh thể, dữ liệu tia X và số liệu thống kê tinh chế.

Dữ liệu tinh thể	
Nhóm không gian	$P4_12_12$
Trục ô đơn vị (Å)	111,32, 111,32, 192,19
Phân tử/đơn vị bất đối xứng	2

V_m (Å^3/Da)	2,86	
Hàm lượng dung môi (%)	57	
Dữ liệu tia X		
Độ phân giải (Å)	50-3,56	(3,70–3,56)
Số phản xạ đo được	136.381	(5.853)
Số phản xạ duy nhất	13.977	(929)
Tính hoàn chỉnh (%)	93,4	(64,2)
Tính dư thừa	9,8	(6,3)
R-hợp nhất	0,195	(0,490)
<I/σ>	10,8	(2,3)
Hệ số B (Wilson) (Å^2)	66,1	
Tinh chế		
Độ phân giải (Å)	20-3,56	
Số phản xạ được dùng trong tinh chế	13.128	
Tính hoàn chỉnh (%)	92,1	
Tổng số nguyên tử	6568	
Số phân tử nước	0	
Hệ số R (%)	23,1	
R tự do (%) (5 % dữ liệu)	32,3	
Chiều dài liên kết RMSD (Å)	0,005	
Góc liên kết RMSD (°)	1,1	
Hệ số B trung bình (Å^2)	120,3	

Các giá trị trong ngoặc cho vỏ có độ phân giải cao nhất.

I3RB18 liên kết CD123 sp2 tại miền đầu C (gần bề mặt tế bào) của ECD. Epitope có cấu hình riêng và bao gồm 3 đoạn của chuỗi CD123 sp2, các gốc 156 – 161 (RKFRYE, (SỐ ID TRÌNH TỰ:232)), 173 – 178 (TEQVRD, (SỐ ID TRÌNH TỰ: 233)) và 195 – 202 (RARERVYE (SỐ ID TRÌNH TỰ: 234)) tương ứng với các gốc 234 – 239, 251 – 256 và 273 – 280 của CD123 sp1.. Sự tương tác giữa kháng nguyên và kháng thể chủ yếu là tĩnh điện. Epitope trên CD123 sp2 chứa số lượng lớn các gốc bazơ, trong khi các CDR của I3RB18 có chứa các gốc axit. Các gốc kháng thể liên quan đến sự liên kết của CD123 bao gồm 7 gốc từ chuỗi nhẹ và 9 gốc từ chuỗi nặng (Hình 8). Tất cả CDR ngoại trừ LCDR2 đều liên quan đến liên kết.

Sự liên kết của I3RB18 với CD123 sp2 (Hình 9A) phân biệt nó với kháng thể kháng CD123 khác, 7G3, kháng thể này liên kết miền đầu N 1 của ECD CD123 sp1 như đã thể hiện trong cấu trúc tinh thể của Fab 7G3 nhân hóa, CSL362, kết hợp với CD123 sp1 (Hình 9B) (pdb:4JZJBroughton và cộng sự Cell Rep. (Báo cáo tế bào) 2014; 8:410-419).

Ví dụ 11: Cấu trúc tinh thể của Fab kháng CD3

Cấu trúc tinh thể của Fab SP34 được xác định ở độ phân giải 2,1 Å. Cấu trúc cho thấy trình tự axit amin hoàn chỉnh và nhận dạng dòng mầm của chuột mà có thể từ đó kháng thể đơn dòng SP34 được dẫn xuất.

Nguyên vật liệu

Kháng thể đơn dòng SP34, lớp kháng thể IgG3/lambda chuột, được mua từ BD Biosciences Pharmingen (San Diego, CA), mãloại 556611. Theo bảng dữ liệu kỹ thuật, nguyên liệu được tinh chế từ lớp bề mặt của môi trường nuôi cấy mô bằng sắc ký ái lực và được lưu trữ ở 4°C. Mảnh Fab được tạo ra bằng cách thủy phân papain của kháng thể đơn dòng (Pierce, Cat # 44985, Thermofisher) và được phân tách khỏi Fc bằng cột Nab Protein A Plus Spin (Pierce, Cat # 44985, Thermofisher) theo quy trình của nhà sản xuất. Fab được tinh chế thêm trên cột MonoS (GE Healthcare) được cân bằng với MES 20 mM, pH 6,5 (dung dịch đệm A). Sự rửa giải được thực hiện bằng dung dịch đệm A trong 13-28% građien của NaCl 1 M trong 50 thể tích cột. Phần cất tương ứng với điểm đỉnh chính được tổng hợp, được cô đặc đến 9,2 mg/ml và được sử dụng để tinh thể hóa.

Tinh thể hóa

Sự tinh thể hóa được thực hiện bằng phương pháp khuếch tán hơi ở 20°C ở dạng giọt ngồi trong đĩa Corning 3550 gồm 96 lỗ. Thu được tinh thể Fab được sử dụng để phân tích tia X từ PEG 3350 12%, K/Na tartrat 0,2 M (pH 7,4), isopropanol 3% và đioxan 3%. Dữ liệu tinh thể được cho trong Bảng 10.

Bảng 10 Dữ liệu tinh thể, dữ liệu tia X và số liệu thống kê tinh chế

Dữ liệu tinh thể		
Nhóm không gian	P21	
Trục ô đơn vị (Å)	55,14, 141,23, 61,29	
Góc ô đơn vị (°)	90, 99,02, 90	
Phân tử/đơn vị bất đối xứng	2	
Vm (Å3/Da)	2,48	
Hàm lượng dung môi (%)	50	
Dữ liệu tia X		
Độ phân giải (Å)	30-2,1	(2,15–2,10)*
Số phản xạ đo được	179.420	(11.506)
Số phản xạ duy nhất	53.483	(3.667)
Tính hoàn chỉnh (%)	98,9	(92,5)
Tính dư thừa	3,4	(3,1)
R-hợp nhất	0,038	(0,393)
<I/σ>	18,7	(3,8)
Hệ số B (Wilson) (Å2)	45,4	

Tinh chế	
Độ phân giải (Å)	15-2,1
Số phản xạ được dùng trong tinh chế	52.212
Tính hoàn chỉnh (%)	96,8
Tổng số nguyên tử	6.886
Số phân tử nước	219
Hệ số R (%)	20,5
R tự do (%)	26,2
Chiều dài liên kết RMSD (Å)	0,008
Góc liên kết RMSD (°)	1,2
Mạch chính yếu tố B RMSD (Å2)	2,7
Hệ số B trung bình (Å2)	53,7

* Các số trong ngoặc cho vỏ có độ phân giải cao nhất.

Thu thập dữ liệu tia X và xác định cấu trúc

Để thu thập dữ liệu tia X, một tinh thể được nhúng trong vài giây trong dung dịch mẹ được bổ sung glyxerol 20% và được làm đông nhanh trong nitơ lỏng. Dữ liệu nhiễu xạ được thu thập trên đường chùm IMCA tại Advanced Photon Source (Nguồn photon nâng cao) (Argonne, IL) bằng cách sử dụng đầu dò Pilatus CCD. Số liệu thống kê dữ liệu tia X được cho trong Bảng 10.

Cấu trúc được phân giải với việc thay thế phân tử sử dụng mô hình Fab được cấu tạo từ kháng thể kháng kháng nguyên Thomsen-Friedenreich của chuột Jaa-F11 (PDB 3gnm), đây là lớp kháng thể IgG3/kappa. Các phép tính tinh thể học được thực

hiện bằng các chương trình CCP4 [CCP4. 1994, Acta Crystallogr. D50:760-763.]. Việc điều chỉnh mô hình được thực hiện bằng chương trình COOT [Emsley P, và Cowtan K. 2004. Acta Crystallogr. D60:2126-2132.]. Số liệu thống kê tinh chế được cho trong Bảng 10.

Trình tự của SP34 được trình bày trong Hình 10, với các gốc 1 – 215 của chuỗi nhẹ và các gốc 1 – 230 của chuỗi nặng được dẫn xuất trực tiếp từ bản đồ mật độ electron, và với các gốc 231 – 455 có nguồn gốc từ IGHG3_MOUSE (IgG3 của chuột, đồng dạng 2).

Ví dụ 12: Sự thích ứng với khung của người của kháng thể SP34 kháng CD3

Kháng thể SP34 kháng CD3 từ chuột được nhân hóa bằng phương pháp Thích ứng với khung của người (Fransson, và cộng sự, JMB, 2010 398(2):214-31). 4 chuỗi nặng khác nhau được kết hợp với 3 chuỗi nhẹ khác nhau để tạo ra 12 biến thể được nhân hóa.

Sự nhân hóa SP34 và sự trưởng thành ái lực

Chọn dòng mầm của người

Ma trận của 4 trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng và 3 trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ ở người được chọn để thử nghiệm. Việc chọn dòng mầm của người chỉ dựa trên sự đồng dạng trình tự tổng thể với SP34 trong vùng khung (FR). Không có trình tự CDR nào, hoặc chiều dài của chúng hoặc cấu trúc hợp chuẩn được xem xét trong lựa chọn này.

Các trùng khớp sát nhất cho chuỗi nặng là các GL (dòng mầm) IGHV3-72 và IGHV3-73 của người. GL khác, IGHV3-23 được chọn vì tần suất xuất hiện cao trong danh mục tế bào B người.

Các trùng khớp sát nhất cho chuỗi nhẹ là các GL lambda IGLV7-43 (còn gọi là 7a), IGLV7-46 (còn gọi là 7b) và IGLV1-51 (còn gọi là 1b) người. IGLV7-46 gần như đồng nhất với IGLV7-43, nhưng có ưu điểm về Ala tại vị trí 2, tức là như tại SP34.

Các vùng J được chọn như sau: IGHJ1 cho chuỗi nặng; IGLJ3 cho chuỗi nhẹ lambda

Các đột biến ngược

Để bảo toàn cấu hình của CDR-H3, các gốc tại một số vị trí khung trong VL, các vị trí đáng chú ý nhất là Val38, Gly48 và Gly51 (Hình 11) phải được giữ lại. "Các đột biến ngược" này được bổ sung vào kế hoạch nhân hóa.

Asn tại vị trí 57 của chuỗi nặng không có mật độ mạch bên tốt trong cấu trúc. Nó cũng ở vị trí ở giữa CDR-H2 và các điểm cách xa điểm bám thông thường. Dựa vào phân tích này, Asn có thể không góp phần đáng kể vào sự liên kết. Ngoài ra, hình dạng của khung ở trong vùng thuận lợi nhất đối với gốc Gly trong biểu đồ Ramachadran. Vì vậy nó được rút ngắn đến Gly trong kế hoạch trưởng thành để tạo sự linh hoạt cần thiết và có khả năng gia tăng độ bền (bằng cách giảm dòng cấu trúc cục bộ không liên quan đến glyxin) trong khi không tác động đến sự liên kết.

Có một số xem xét khác được thực hiện trong thiết kế nhân hóa. Trước tiên, các GL IGLV7-46 và IGLV7-43 của người đưa Trp vào vị trí 59 với tiềm năng oxy hóa không mong muốn. 2 GL khác có Gly tại vị trí này, tương ứng với trình tự của chuột. Vì vậy, Gly59 được bảo toàn ở cả hai biến thể IGLV7-46 và IGLV7-43. Cuối cùng, Ala tại vị trí 49 của VH có thể cần thiết. Ngoài ra, gốc tại vị trí 99 (Val tại SP34) có thể tác động đến liên kết kháng nguyên. Để kiểm tra các vị trí này, các đột biến ngược được đưa vào một số biến thể (Hình 12).

Ma trận HFA

Ma trận HFA (Bảng 11) bao gồm 4 biến thể của VH và 3 biến thể của VL (Hình 12). Vì mục đích của HFA, định nghĩa AbM CDR (K.R. Abhinandan và A. C. Martin, 2008. Mol. Immunol. (Miễn dịch học phân tử) 45, 3832-3839) được sử dụng.

Các biến thể dành cho VH:

CD3H141 (SEQ ID NO:184): IGHV3-72*01 với CDR chuột + Gly49Ala

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVAR
IRSKYNNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARH
GNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS

CD3H142 (SEQ ID NO:185): IGHV3-23*01 với CDR chuột + Ser49Ala

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARI
RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKH
GNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS

CD3H143 (SEQ ID NO:186): IGHV3-23*01 với CDR chuột + Ser49Ala, Ala99Val

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARI
RSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKH
GNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS

CD3H144 (SEQ ID NO:187): IGHV3-73*01 với CDR chuột + Asn57Gly

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQASGKGLEWVGRI
RSKYNGYATYYAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHG
NFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS

Các biến thể dành cho VL:

CD3L63 (SEQ ID NO:188): IGLV7-46*01 với CDR chuột + F38V,A48G,Y51G,W59G

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGG
TNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGG
TKLTVL

CD3L64 (SEQ ID NO:189): IGLV1-51*01 với CDR chuột + Y38V, L48G, Y51G

QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCRSSTGAVTTSNYANWVQQLPGTAPKGLIGGT
NKRAPGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCALWYSNLWVFGGGTK
LTVL

CD3L66 (SEQ ID NO:190): IGLV7-43*01 với CDR chuột + F38V,A48G,Y51G,W59G

QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGG
TNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGG
TKLTVL

Bảng 11 Ma trận của chuỗi nặng và nhẹ CD3

(Tất cả được điều chế với IgG1-AA Fc chứa L234A, L235A, và F405L)

	CD3L63 (LV7-46/W59G) SEQ ID NO:188	CD3L64 (LV1-51) SEQ ID NO:189	CD3L66 (LV7-43/W59G) SỐ ID TRÌNH TỰ: 190
CD3H141 (HV3-72 + G49A) SỐ ID TRÌNH TỰ: 184	CD3B143	CD3B144	CD3B146
CD3H142 (HV3-23 + S49A) SEQ ID NO:185	CD3B147	CD3B148	CD3B150
CD3H143	CD3B151	CD3B152	CD3B154

(HV3-23 +S49A,A99V) SỐ ID TRÌNH TỰ: 186			
CD3H144 (VH3-73 với G49) SEQ ID NO:187	CD3B155	CD3B156	CD3B158

Các trình tự axit amin được dịch mã ngược thành ADN và ADN bổ sung được điều chế bằng kỹ thuật tổng hợp gen (Bằng sáng chế Hoa Kỳ số 6,670,127; Bằng sáng chế Hoa Kỳ số6,521,427). Các vùng biến đổi chuỗi nặng (HC) được tách dòng phụ vào IgG1-AA Fc của người chứa các đột biến L234A, L235A, và F405L bằng cách sử dụng vectơ biểu hiện nội bộ với vùng khởi động CMV bằng kỹ thuật sinh học phân tử tiêu chuẩn. Các vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LC) được tách dòng phụ vào các vùng hằng định Lambda (λ) của người bằng cách sử dụng vectơ biểu hiện nội bộ với vùng khởi động CMV bằng kỹ thuật sinh học phân tử tiêu chuẩn. Các plasmid thu được được chuyển nhiễm vào các tế bào Expi293F (Invitrogen) và các kháng thể đơn dòng được biểu hiện. Sự tinh chế được thực hiện theo phương pháp tiêu chuẩn bằng cách sử dụng cột Protein A (cột hiTrap MAbSelect SuRe). Sau khi rửa giải, các vùng tổng hợp được thẩm tách thành D-PBS, pH 7,2. Trình tự VH và VL của kháng thể được trình bày trong Bảng 12.

Bảng 12. Các trình tự VH và VL của kháng thể kháng CD3

mAb	HC	Trình tự axit amin VH	SỐ ID TRÌNH TỰ:	LC	Trình tự axit amin VL	SỐ ID TRÌNH TỰ:
CD3B143	CD3H141	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	184	CD3L63	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	188
CD3B144	CD3H141	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNS	184	CD3L64	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCRSSTGAVTTSNYANWVQQLPGTAPKGLIGGTNKRAPGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQT	189

		LKTEDTAVYYCARHGNF GNSYVSWFAYWGQGTL VTVSS			GDEADYYCALWYSNL WVFGGGTKLTVL	
CD3B 146	CD3H 141	EVQLVESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYAASVKGR FTISRDDSKNSLYLQMNS LKTEDTAVYYCARHGNF GNSYVSWFAYWGQGTL VTVSS	184	CD3L 66	QTVVTQEPSLTVSPGG TVTLTCRSSTGAVTTSN YANWVQQKPGQAPRG LIGGTNKRAPGTPARFS GSLLGGKAALTLSGVQ PEDEAEYYCALWYSNL WVFGGGTKLTVL	190
CD3B 147	CD3H 142	EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKHGNF GNSYVSWFAYWGQGTL VTVSS	185	CD3L 63	QAVVTQEPSLTVSPGG TVTLTCRSSTGAVTTSN YANWVQQKPGQAPRG LIGGTNKRAPGTPARFS GSLLGGKAALTLSGAQ PEDEAEYYCALWYSNL WVFGGGTKLTVL	188
CD3B 148	CD3H 142	EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKHGNF GNSYVSWFAYWGQGTL VTVSS	185	CD3L 64	QSVLTQPPSVSAAPGQ KVTISCRSSTGAVTTSN YANWVQQLPGTAPKG LIGGTNKRAPGIPDRFS GSKSGTSATLGITGLQT GDEADYYCALWYSNL WVFGGGTKLTVL	189
CD3B 150	CD3H 142	EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKHGNF GNSYVSWFAYWGQGTL VTVSS	185	CD3L 66	QTVVTQEPSLTVSPGG TVTLTCRSSTGAVTTSN YANWVQQKPGQAPRG LIGGTNKRAPGTPARFS GSLLGGKAALTLSGVQ PEDEAEYYCALWYSNL WVFGGGTKLTVL	190
CD3B 151	CD3H 143	EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCVKHGNF GNSYVSWFAYWGQGTL VTVSS	186	CD3L 63	QAVVTQEPSLTVSPGG TVTLTCRSSTGAVTTSN YANWVQQKPGQAPRG LIGGTNKRAPGTPARFS GSLLGGKAALTLSGAQ PEDEAEYYCALWYSNL WVFGGGTKLTVL	188
CD3B 152	CD3H 143	EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIR	186	CD3L 64	QSVLTQPPSVSAAPGQ KVTISCRSSTGAVTTSN YANWVQQLPGTAPKG	189

		SKYNNYATYYADSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCVKHGNF GNSYVSWFAYWGQGTL VTVSS			LIGGTNKRAPGIPDRFS GSKSGTSATLGITGLQT GDEADYYCALWYSNL WVFGGGTKLTVL	
CD3B 154	CD3H 143	EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIR SKYNNYATYYADSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCVKHGNF GNSYVSWFAYWGQGTL VTVSS	186	CD3L 66	QTVVTQEPSLTVSPGG TVTLTCRSSTGAVTTSN YANWVQQKPGQAPRG LIGGTNKRAPGTPARFS GSLLGGKAALTLSGVQ PEDEAEYYCALWYSNL WVFGGGTKLTVL	190
CD3B 155	CD3H 144	EVQLVESGGGLVQPGGSL KLSCAASGFTFNTYAMN WVRQASGKGLEWVGRIR SKYNGYATYYAASVKGR FTISRDDSKNTAYLQMNS LKTEDTAVYYCTRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTL VTVSS	187	CD3L 63	QAVVTQEPSLTVSPGG TVTLTCRSSTGAVTTSN YANWVQQKPGQAPRG LIGGTNKRAPGTPARFS GSLLGGKAALTLSGAQ PEDEAEYYCALWYSNL WVFGGGTKLTVL	188
CD3B 156	CD3H 144	EVQLVESGGGLVQPGGSL KLSCAASGFTFNTYAMN WVRQASGKGLEWVGRIR SKYNGYATYYAASVKGR FTISRDDSKNTAYLQMNS LKTEDTAVYYCTRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTL VTVSS	187	CD3L 64	QSVLTQPPSVSAAPGQ KVTISCRSSTGAVTTSN YANWVQQLPGTAPKG LIGGTNKRAPGIPDRFS GSKSGTSATLGITGLQT GDEADYYCALWYSNL WVFGGGTKLTVL	189
CD3B 158	CD3H 144	EVQLVESGGGLVQPGGSL KLSCAASGFTFNTYAMN WVRQASGKGLEWVGRIR SKYNGYATYYAASVKGR FTISRDDSKNTAYLQMNS LKTEDTAVYYCTRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTL VTVSS	187	CD3L 66	QTVVTQEPSLTVSPGG TVTLTCRSSTGAVTTSN YANWVQQKPGQAPRG LIGGTNKRAPGTPARFS GSLLGGKAALTLSGVQ PEDEAEYYCALWYSNL WVFGGGTKLTVL	190

Kháng thể kháng CD3 đơn đặc hiệu CD3B143 được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 184 và VL có SEQ ID NO: 188 và vùng hằng định IgG1 với sự thay thế L234A, L235A, F405L. Kháng thể kháng CD3 đơn đặc hiệu CD3B144 được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 184 và VL có SEQ ID NO: 189 và vùng hằng định IgG1 với sự thay thế L234A, L235A và F405L. Kháng thể kháng CD3 đơn đặc hiệu CD3B146 được tạo ra bao gồm

các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 184 và VL có SEQ ID NO: 190) và vùng hằng định IgG1 với sự thay thế L234A, L235A và F405L. Kháng thể kháng CD3 đơn đặc hiệu CD3B147 được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 185 và VL có SEQ ID NO: 188) và vùng hằng định IgG1 với sự thay thế L234A, L235A và F405L. Kháng thể kháng CD3 đơn đặc hiệu CD3B148 được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 185 và VL có SEQ ID NO: 189 và vùng hằng định IgG1 với sự thay thế L234A, L235A và F405L. Kháng thể kháng CD3 đơn đặc hiệu CD3B150 được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 185 và VL có SEQ ID NO: 190 và vùng hằng định IgG1 với sự thay thế L234A, L235A và F405L. Kháng thể kháng CD3 đơn đặc hiệu CD3B151 được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 186 và VL có SEQ ID NO: 188 và vùng hằng định IgG1 với sự thay thế L234A, L235A và F405L. Kháng thể kháng CD3 đơn đặc hiệu CD3B152 được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 186 và VL có SEQ ID NO: 189 và vùng hằng định IgG1 với sự thay thế L234A, L235A và F405L. Kháng thể kháng CD3 đơn đặc hiệu CD3B154 được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 186 và VL có SEQ ID NO: 190 và vùng hằng định IgG1 với sự thay thế L234A, L235A và F405L. Kháng thể kháng CD3 đơn đặc hiệu CD3B155 được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 187 và VL có SEQ ID NO: 188 và vùng hằng định IgG1 với sự thay thế L234A, L235A và F405L. Kháng thể kháng CD3 đơn đặc hiệu CD3B156 được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 187 và VL có SEQ ID NO: 189 và vùng hằng định IgG1 với sự thay thế L234A, L235A và F405L. Kháng thể kháng CD3 đơn đặc hiệu CD3B158 được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 187 và VL có SEQ ID NO: 190 và vùng hằng định IgG1 với sự thay thế L234A, L235A và F405L.

Ví dụ 13: Liên kết tế bào nội sinh của các kháng thể kết quả kháng CD3 nhân hóa với tế bào T sơ cấp

Bộ kháng thể kháng CD3 thu được được thử nghiệm về liên kết với CD3ε bề mặt tế bào trên tế bào T sơ cấp của người. Để làm việc này, liên kết kháng thể từ lớp bề mặt biểu hiện được trực quan hóa bằng cách sử dụng kháng thể thứ cấp kháng đa

dòng của người và được phân tích bằng phương pháp đếm và đo tế bào theo dòng. Tóm lại, liên kết kháng thể kháng CD3 với CD3ε bề mặt tế bào được đánh giá theo phương pháp đếm và đo tế bào theo dòng bằng cách sử dụng lympho bào T sơ cấp của người được tinh chế theo chọn lọc âm tính (Biological Specialty, Colmar, USA). Lớp bề mặt biểu hiện hoặc kháng thể được tinh chế lần lượt được chuẩn hóa ở mức 10 µg/ml trong môi trường hoặc dung dịch đệm FACS (BD BioSciences). $2x105^5$ tế bào được phân chia vào các lỗ của đĩa có đáy tròn 96 lỗ (CoStar) để gắn nhãn. Các kháng thể trong lớp bề mặt biểu hiện được bổ sung vào tế bào và được ủ trong 45 phút ở 4°C. Sau khi ly tâm với tốc độ 1300 vòng/phút trong 3 phút và loại bỏ lớp bề mặt, 50 µL kháng thể thứ cấp kháng IgG người (H+L) Alexa Fluor 647 (Life technologies Inc.) được ủ với các tế bào với hàm lượng cuối là 10 µg/mL trong 30 phút ở 4°C, tránh ánh sáng trực tiếp. Tiếp theo là rửa và tái huyền phù trong 30 µL dung dịch đệm FACs (BD BioSciences). Việc thu thập mẫu được thực hiện trên hệ thống Intellicyt HTFC bằng phần mềm ForeCyt. Các đơn bào có thể sống sót được chặn lại trước khi phân tích sự liên kết bằng cách sử dụng lần lượt thuốc nhuộm xác định tế bào sống/chết có thể điều chỉnh màu xanh lá hoặc đỏ (Life Technologies Inc.) và vùng khuếch tán bên/về phía trước và các tham số về chiều cao. Đồ thị được tạo ra trong GraphPad Prism phiên bản 5 sử dụng các giá trị cường độ huỳnh quang trung bình.

Mặc dù hàng loạt sự chuẩn độ đã được thực hiện, Hình 13 trình bày hàm lượng trung bình để làm rõ. 2 kháng thể có nguồn gốc từ thực khuẩn nội bộ có cùng vùng Fc như các kháng thể điều trị bệnh được sử dụng làm đối chứng: G11 (SỐ ID TRÌNH TỰ HC:222, SỐ ID TRÌNH TỰ LC:223), kháng thể chủ vận, phản ứng chéo không phải từ khỉ được sử dụng làm đối chứng dương và CD3B94 (HC-SỐ ID TRÌNH TỰ:224, LC – SỐ ID TRÌNH TỰ:225), kháng thể không có tính chủ vận / không phải là chất liên kết được sử dụng để đánh giá liên kết không đặc hiệu. Kháng thể SP34 thương mại không được sử dụng làm mẫu so sánh trong xét nghiệm này vì đây là kháng thể từ chuột và việc sử dụng thuốc thử phát hiện thứ cấp khác sẽ ngăn chặn sự so sánh trực tiếp với các biến thể được thử nghiệm.

Dữ liệu biểu thị mảng khả năng liên kết trong bộ kháng thể kết quả kháng CD3 được nhân hóa, với 2 kháng thể (CD3B144, CD3B152) cho thấy sự mất liên kết hoàn toàn với tế bào T người. Các kháng thể còn lại cho thấy phạm vi liên kết có thể

được phân chia đại thể thành các chất liên kết mạnh và yếu, sử dụng liên kết G11 làm ngưỡng tùy ý. Với việc sử dụng các thông số này, 7 chất liên kết mạnh và 7 chất liên kết yếu được nhận dạng từ bộ các biến thể (Hình 13).

Sau đó việc phân tích liên kết giữa các kháng thể kết quả kháng CD3 với các tế bào T $CD4^+$ sơ cấp của khỉ được thử nghiệm để đánh giá sự duy trì phản ứng chéo. Tế bào T $CD4^+$ được tinh chế từ máu ngoại vi của khỉ đuôi dài (Zen Bio, Triangle Research Park (Công viên Tam giác nghiên cứu), Hoa Kỳ được sử dụng). Quy trình xét nghiệm tương tự với quy trình đã nêu trên. Vì G11 không phản ứng chéo với CD3ε của khỉ, CD3B124, kháng thể tổng hợp có nguồn gốc từ SP34 nội bộ có VH và VL của SP34 với khung của chuột và IgG1 Fc người được sử dụng làm đối chứng dương trong xét nghiệm này (Hình 14). Điều thú vị là một số biến thể cho thấy khả năng liên kết giảm so với khả năng liên kết quan sát được với tế bào của người. Chúng bao gồm các chất liên kết mạnh CD3B150, CD3B151 và CD3B154, trong đó sự liên kết đã bị giảm, và một số chất liên kết yếu không còn phát hiện được sự liên kết qua nền nữa. Việc mất liên kết này không liên quan đến chuỗi globulin miễn dịch đặc hiệu, cho thấy sự kết hợp giữa chuỗi nặng và nhẹ đã góp phần vào việc mất đi phản ứng chéo. Đồng thời, các xét nghiệm này cho phép nhận dạng các biến thể lưu giữ phản ứng chéo giữa các loài giữa CD3ε khỉ và người.

Ví dụ 14: Phân tích chức năng của các kháng thể kết quả kháng CD3 nhân hóa trong tế bào T sơ cấp

Phân tích liên kết chứng minh rằng bộ kháng thể kết quả kháng CD3 được nhân hóa cho thấy phạm vi liên kết tế bào T của khỉ và người. Để tìm hiểu khả năng của mỗi biến thể trong cảm ứng sự hoạt hóa thông qua liên kết chéo CD3ε, tế bào T sơ cấp được nuôi cấy qua đêm với sự có mặt của kháng thể được tiếp hợp với hạt. Ngày hôm sau, các tế bào được thu hoạch và được gắn nhãn với kháng thể kháng CD69 để đo sự hoạt hóa (Hình 15). Kháng thể kháng CD3 nhân hóa được liên kết với hạt từ tính phủ protein A (SpheroTech, Lake forest, Hoa Kỳ) bằng cách ủ qua đêm với kháng thể ởhàm lượng10 µg/mL. Ngày hôm sau, $2x10^5$ tế bào T sơ cấp của người được để vào bộ ba đĩa nuôi cấy tế bào đáy tròn và $2x10^5$ các hạt bao phủ được bổ sung. Sau khi nuôi cấy qua đêm ở 37°C, các tế bào được thu hoạch và gắn nhãn với kháng thể Alexa Fluor® 488 kháng CD69 (dòng FN50; Biolegend) để đánh giá sự tăng biểu hiện của dấu ấn hoạt hóa này. Việc thu thập và phân tích mẫu về sự liên kết được thực hiện

theo mô tả trên. Một số đối chứng âm được cho chạy, bao gồm riêng các tế bào T, các tế bào T với các hạt không được bao phủ, và các tế bào T với các hạt được bao phủ lớp kháng thể đối chứng (CD3B94). Tất cả đối chứng này cho giá trị cường độ huỳnh quang trung bình tương tự so với các tế bào T không được nhuộm đã biểu thị nền thấp trong xét nghiệm này. Một số đối chứng dương được chạy để so sánh, bao gồm OKT3 (US5929212) và kháng thể SP34-2 được bán trên thị trường.

Sau đó các kháng thể kết quả kháng CD3 nhân hóa được thử nghiệm về khả năng hoạt hóa các tế bào T CD4+ sơ cấp của khỉ (Zen Bio, Triangle Research Park (Công viên Tam giác nghiên cứu), Hoa Kỳ) trong cùng xét nghiệm (Hình 16). Kháng thể kháng CD69 FN50 đã được mô tả là phản ứng chéo với protein không phải của người và vì thế có thể được sử dụng để thử nghiệm tính hoạt hóa của các tế bào này.

Dữ liệu về tính hoạt hóa của người và khỉ tương quan với dữ liệu về sự liên kết mà trong đó bộ kháng thể kết quả thể hiện phạm vi khả năng hoạt hóa. Số lượng chất liên kết mạnh cho thấy khả năng hoạt hóa các tế bào T người đến khi đạt mức tương đương hoặc lớn hơn khi so sánh với SP34-2 được bán trên thị trường. Một số biến thể cho thấy khả năng hoạt hóa thấp hơn so với SP34-2, trong khi một số chất liên kết không cho thấy bằng chứng về sự kích thích CD69. Việc không có khả năng hoạt hóa chỉ được quan sát ở các biến thể cho thấy không có sự liên kết hoặc liên kết yếu, và tất cả chất liên kết mạnh đều thể hiện một số mức hoạt hóa, cho biết mối tương quan giữa khả năng liên kết và hoạt hóa đối với cả người (Hình 17A) và khỉ (Hình 17B).

Ví dụ 15: Điều chế kháng thể theo dạng đặc hiệu đôi trong IgG1 L234A, L235A

Một số kháng thể CD123 đơn đặc hiệu được biểu hiện là IgG1, có các thay thế Fc L234A, L235A, và K409R (trên kháng thể kháng CD123) (đánh số theo chỉ mục EU) trong vùng Fc của chúng. Các kháng thể đơn đặc hiệu được biểu hiện trong dòng tế bào HEK. Các kháng thể CD3 đơn đặc hiệu là IgG1 với các thay thế Fc L234A, L235A, và F405L.

Kháng thể kháng CD123 đơn đặc hiệu I3RB135-K409R được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL của kháng thể I3RB2 kháng CD123 có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 120 và VL có SEQ ID NO: 165 và vùng hằng định IgG1 với sự thay thế L234A, L235A và K409R.

Kháng thể kháng CD123 đơn đặc hiệu I3RB125-K409R được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL của kháng thể I3RB18 kháng CD123 có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 136 và VL có SEQ ID NO: 168 và vùng hằng định IgG1 với sự thay thế L234A, L235A và K409R.

Với vai trò là một đối chứng, kháng thể kháng RSV đơn đặc hiệu, B21 M, được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 191 và VL có SEQ ID NO: 192 và vùng hằng định IgG1 với L234A, L235A, và K409R hoặc F405L để hợp tác với vai trò là nhánh bất hoạt với nhánh CD3 hoặc CD123 của kháng thể đặc hiệu đôi.

Các kháng thể đơn đặc hiệu được tinh chế theo phương pháp tiêu chuẩn bằng cách sử dụng cột Protein A (cột HiTrap MabSelect SuRe). Sau khi rửa giải, các vùng lưu trữ được thẩm tách thành D-PBS, pH 7,2.

Các kháng thể kháng CD123 được kết hợp trong ma trận bằng phương pháp trao đổi nhánh Fab *trong ống nghiệm* để tạo ra các kháng thể đặc hiệu đôi được đặc trưng hóa tiếp theo sau đó (Bảng 13).

Bảng 13. Ma trận các kháng thể đơn dòng CD123 x CD3 để tạo ra các kháng thể đặc hiệu đôi

		CD123 ARMS		Đối chứng
		I3RB135 (I3RB2)	I3RB125 (I3RB18)	B21 M, 409R
Kháng thể đơn dòng CD3	CD3B146	I3RB179	I3RB186	I3RB192
	CD3B147	I3RB180	I3RB187	I3RB193
	CD3B151	I3RB181	I3RB188	I3RB194
	CD3B154	I3RB182	I3RB189	I3RB195
	CD3B155	I3RB183	CD3B191	I3RB196
Đối chứng mAb	B21 M, F405L	I3RB185	I3RB191	I3RB198

Các kháng thể CD123 x CD3 đặc hiệu đôi được tạo ra bằng cách kết hợp kháng thể đơn dòng CD3 đơn đặc hiệu và kháng thể đơn dòng CD123 đơn đặc hiệu bằng phương pháp trao đổi nhánh Fab *trong ống nghiệm* (theo mô tả trong WO2011/131746). Tóm tắt như sau, với hàm lượng khoảng 1-20 mg/mL với tỷ lệ mol 1,08:1 kháng thể kháng CD123/kháng CD3 trong PBS, pH 7-7,4 và 75 mM 2-mercaptoetanolamin (2-MEA) được trộn với nhau và được ủ ở 25-37°C trong 2-6 giờ, sau đó loại bỏ 2-MEA

bằng thẩm tách, lọc tuần hoàn có pha loãng, lọc dòng tiếp tuyến và/hoặc lọc tế bào được quay bằng các phương pháp tiêu chuẩn. Các kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng với nhánh kháng RSV-(B21 M) được tạo tương tự.

Các kháng thể kháng CD3 và CD123 đơn đặc hiệu đã tạo được trộn với nhau để trao đổi nhánh Fab trong ống nghiệm trong ma trận và được tạo đặc trưng hóa trong các xét nghiệm khác nhau. Kháng thể đặc hiệu đôi I3RB179-Ab bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B146-F405L và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB135-K409R. Kháng thể đặc hiệu đôi I3RB186-Ab bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B146-F405L và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB125-K409R. Kháng thể đặc hiệu đôi I3RB180-Ab bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B147-F405L và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB135-K409R. Kháng thể đặc hiệu đôi I3RB187-Ab bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B147-F405L và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB125-K409R. Kháng thể đặc hiệu đôi I3RB181-Ab bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B151-F405L và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB135-K409R. Kháng thể đặc hiệu đôi I3RB188-Ab bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B155-F405L và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB125-K409R. Kháng thể đặc hiệu đôi I3RB182-Ab bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B154-F405L và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB135-K409R. Kháng thể đặc hiệu đôi I3RB189-Ab bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B154-F405L và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB125-K409R. Kháng thể đặc hiệu đôi I3RB183-Ab bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B155-F405L và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB135-K409R. Kháng thể đặc hiệu đôi CD3B191-Ab bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B155-F405L và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB125-K409R.

Đối với kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng, kháng thể kháng RSV, B21 M (SỐ ID TRÌNH TỰ HC: 207 – được thể hiện với đột biến F405L, SỐ ID TRÌNH TỰ LC:208), được kết hợp với nhánh CD3 hoặc nhánh CD123 như sau. Kháng thể đặc hiệu đôi I3RB185-Ab bao gồm nhánh liên kết kháng RSV của kháng thể đơn dòng B21 M-F405L và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB135-K409R.

Kháng thể đặc hiệu đôi I3RB191-Ab bao gồm nhánh liên kết kháng RSV của kháng thể đơn dòng B21 M-F405L và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB125-K409R. Kháng thể đặc hiệu đôi I3RB192-Ab bao gồm nhánh liên kết kháng RSV của kháng thể đơn dòng B21 M-K409R và nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B146-F405L. Kháng thể đặc hiệu đôi I3RB193-Ab bao gồm nhánh liên kết RSV của kháng thể đơn dòng B2 M-F409R và nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B147-F405L. Kháng thể đặc hiệu đôi I3RB194-Ab bao gồm nhánh liên kết kháng RSV của kháng thể đơn dòng B2 M-F409R và nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B151-F405L. Kháng thể đặc hiệu đôi I3RB195-Ab bao gồm nhánh liên kết kháng RSV của kháng thể đơn dòng B21 M-K409R và nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B154-F405L. Kháng thể đặc hiệu đôi I3RB196-Ab bao gồm nhánh liên kết RSV của kháng thể đơn dòng B21 M-K409R và nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B155-F405L.

Chuỗi nặng và nhẹ cho các kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 được trình bày dưới đây trong Bảng 14.

Bảng 14. Trình tự chuỗi nặng và nhẹ cho các kháng thể IgG1 đặc hiệu đôi

Kháng thể		Trình tự axit amin
I3RB179	Chuỗi nặng 1 CD3B146 (SEQ ID NO:193)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVR QASGKGLEWVGRIRSKYNGYATYYAASVKGRFTISRDD SKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ 1 CD3B146 (SEQ ID NO:194)	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKA APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKG DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	Chuỗi nặng 2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYWMHWVR QAPGKGLEWVSAIRSDGSSKYYADSVKGRFTISRDNSKN

	I3RB135 (I3RB2) (SEQ ID NO:203)	TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGVIEDTFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ 2 I3RB135 (I3RB2) (SEQ ID NO:204)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPE DFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
I3RB180	Chuỗi nặng 1 CD3B147 (SEQ ID NO:195)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ 1 CD3B147 (SỐ ID TRÌNH TỰ: 196)	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKA APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKG DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	Chuỗi nặng 2 I3RB135 (I3RB2) (SEQ ID NO:203)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYWMHWVR QAPGKGLEWVSAIRSDGSSKYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGVIEDTFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

	Chuỗi nhẹ 2 I3RB135 (I3RB2) (SEQ ID NO:204)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPE DFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
I3RB181	Chuỗi nặng 1 CD3B151 (SEQ ID NO:197)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
	Chuỗi nhẹ 1 CD3B151 (SEQ ID NO: 198)	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKA APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKG DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	Chuỗi nặng 2 I3RB135 (I3RB2) (SEQ ID NO:203)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYWMHWVR QAPGKGLEWVSAIRSDGSSKYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGVIEDTFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ 2 I3RB135 (I3RB2) (SEQ ID NO:204)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPE DFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
I3RB182	Chuỗi nặng 1 CD3B154 (SEQ ID	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC

	NO:199)	LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ 1 CD3B154 (SEQ ID NO:200)	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQ QKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLS GVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKGDS SPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	Chuỗi nặng 2 I3RB135 (I3RB2) (SEQ ID NO:203)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYWMHWVR QAPGKGLEWVSAIRSDGSSKYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGVIEDTFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ 2 I3RB135 (I3RB2) (SEQ ID NO:204)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPE DFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
I3RB183	Chuỗi nặng 1 CD3B155 (SEQ ID NO: 201)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVR QASGKGLEWVGRIRSKYNGYATYYAASVKGRFTISRDD SKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ 1	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTL

	CD3B155 (SEQ ID NO: 202)	SGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKA APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKG DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	Chuỗi nặng 2 I3RB135 (I3RB2) (SEQ ID NO:203)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYWMHWVR QAPGKGLEWVSAIRSDGSSKYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGVIEDTFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ 2 I3RB135 (I3RB2) (SEQ ID NO:204)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPE DFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
I3RB186	Chuỗi nặng 1 CD3B146 (SEQ ID NO:193)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVR QASGKGLEWVGRIRSKYNGYATYYAASVKGRFTISRDD SKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ 1 CD3B146 (SEQ ID NO:194)	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKA APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKG DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	Chuỗi nặng 2 I3RB125 (I3RB18) (SEQ ID NO: 205)	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWISWVRQ MPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTA YLQWSSLKASDTAMYYCARGDGSTDLDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA

		AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ 2 I3RB125 (I3RB18) (SEQ ID NO: 206)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQDYGFPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
I3RB187	Chuỗi nặng 1 CD3B147 (SEQ ID NO:195)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ 1 CD3B147 (SỐ ID TRÌNH TỰ: 196)	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKA APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKG DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	Chuỗi nặng I3RB125 (I3RB18) (SEQ ID NO: 205)	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWISWVRQ MPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTA YLQWSSLKASDTAMYYCARGDGSTDLDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ I3RB125 (I3RB18) (SEQ ID	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQDYGFPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN

	NO: 206)	SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
I3RB188	Chuỗi nặng 1 CD3B151 (SEQ ID NO:197)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ 1 CD3B151 (SEQ ID NO: 198)	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKA APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKG DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	Chuỗi nặng I3RB125 (I3RB18) (SEQ ID NO: 205)	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWISWVRQ MPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTA YLQWSSLKASDTAMYYCARGDGSTDLDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ I3RB125 (I3RB18) (SEQ ID NO: 206)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQDYGFPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
I3RB189	Chuỗi nặng 1 CD3B154 (SEQ ID NO:199)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST

		YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ 1 CD3B154 (SEQ ID NO:200)	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQ QKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLS GVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKGDS SPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	Chuỗi nặng I3RB125 (I3RB18) (SEQ ID NO: 205)	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWISWVRQ MPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTA YLQWSSLKASDTAMYYCARGDGSTDLDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ I3RB125 (I3RB18) (SEQ ID NO: 206)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQDYGFPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
CD3B19 1	Chuỗi nặng 1 CD3B155 (SEQ ID NO: 201)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVR QASGKGLEWVGRIRSKYNGYATYYAASVKGRFTISRDD SKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ 1 CD3B155 (SEQ ID NO: 202)	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKA APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKG DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

	Chuỗi nặng I3RB125 (I3RB18) (SEQ ID NO: 205)	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWISWVRQ MPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTA YLQWSSLKASDTAMYYCARGDGSTDLDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	Chuỗi nhẹ I3RB125 (I3RB18) (SEQ ID NO: 206)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQDYGFPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC

Ví dụ 16: Đánh giá các kháng thể đặc hiệu đôi trong xét nghiệm về tiêu diệt tế bào chức năng

Xét nghiệm về sự gây độc tế bào qua trung gian tế bào T là một xét nghiệm chức năng để đánh giá các kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 đối với sự ly giải tế bào bằng cách sử dụng tế bào T từ người hiến tặng khỏe mạnh.

Tuân thủ theo quy trình của Laszlo, và cộng sự (Laszlo, G., và cộng sự 2014 BLOOD 123:4, 554-561). Tóm tắt như sau, các tế bào thực thi được thu hoạch, được đếm, rửa và tái huyền phù đến khi đạt mức 1X10^6 tế bào/ml trong môi trường tế bào RPMI (FBS 10%). Các tế bào đích được gắn nhãn với CFSE (Invitrogen #C34554) và được tái huyền phù đến khi đạt mức $2X10^5$ tế bào/mL trong RPMI (Invitrogen #61870-036) với FBS 10% (Invitrogen #10082-147). Các tế bào thực thi và các tế bào đích được gắn nhãn CFSE được trộn với nhau với tỷ lệ E:T=5:1 trong đĩa đáy tròn 96 lỗ vô trùng. Phân ước 5 µL của mỗi kháng thể đặc hiệu đôi được thêm vào mỗi lỗ có hàm lượng khác nhau. Các môi trường nuôi cấy được ủ trong 48 giờ ở 37°Ctrong điều kiện $CO_2$5%. Sau 48 giờ, dung dịch đệm Nhuộm tế bào chết Near-IR có thể điều chỉnh LIVE/DEAD® (life technologies Cat# L10119) được thêm vào các mẫu, và môi trường nuôi cấy được ủ trong 20 phút trong bóng tối ở nhiệt độ phòng, được rửa và tái huyền phù trong 170 µL dung dịch đệm FACs. Cơ

chế gây độc tế bào cảm ứng thuốc được xác định bằng tế bào kế dòng chảy CANTO II (BD Biosciences) và được phân tích bằng phần mềm FlowJo hoặc phần mềm Dive (BD Biosciences). Tập hợp tế bào quan tâm là các tế bào CFSE+/ sống/chết+ dương tính kép.

Các kết quả về ly giải tế bào qua trung gian tế bào T của dòng tế bào AML MV4-11 (Hình 18 A và B), OCI-AML5 (Hình 19 A và B), và OCI-M2 (Hình 20 A và B) sau khi ủ 48 giờ ở 37°C, $CO_2$5% được trình bày. MV4-11 và OCI-AML5 là các dòng tế bào biểu hiện CD123 và OCI-M2 có biểu hiện CD123 thấp đáng kể. Tỷ lệ tế bào thực thi/tế bào đích cho nghiên cứu này là 5:1. Phân ước 2 mg/mL của chất chặn Fc được thêm vào để ngăn chặn chức năng Fc.

Cả hai kháng thể I3RB2 và I3RB18, khi được kết hợp với kháng thể kháng CD3 thành dạng đặc hiệu đôi, có hiệu lực trong việc tiêu diệt đặc hiệu các tế bào CD123+. Ngoài ra, dữ liệu cho phép xếp hạng rõ ràng giữa các kháng thể đặc hiệu đôi I3RB135 (nền I3RB2) và I3RB125 (nền I3RB18) với các kháng thể đặc hiệu đôi I3RB125 x CD3 hiệu lực hơn các kháng thể đặc hiệu đôi I3RB135 x CD3. Trong mỗi họ, các kháng thể đặc hiệu đôi nền CD3B146 và CD3B155 (kháng thể đơn dòng ái lực cao hơn) hiệu lực hơn các kháng thể đặc hiệu đôi nền CD3B151 và CD3B154. Quan sát thấy các mức thấp trong gây độc tế bào nền phụ thuộc liều lượng đối với dòng tế bào biểu hiện CD123 thấp OCI-M2.

Ví dụ 17: Đánh giá kháng thể đặc hiệu đôi, I3RB186 trong mẫu mang khối u bệnh

Nguyên vật liệu và phương pháp

Dòng tế bào. Để xác định tính hiệu quả của kháng thể đặc hiệu đôi I3RB186 trong cơ thể sống, các dòng tế bào khối u được bán trên thị trường có biểu hiện CD123 cao được chọn để nghiên cứu về tính hiệu quả. Các tế bào khối u của bệnh bạch cầu cấp dòng tủy (AML) ở người KG-1 (DSMZ, số danh mục ACC 14) được duy trì trong ống nghiệm trong môi trường RPMI được bổ sung huyết thanh bào thai bò không hoạt hóa do nhiệt (10% v/v) ở 37°C trong áp suất không khí có $CO_2$5%. Các tế bào được nuôi cấy lần hai một cách đều đặn hai đến ba lần một tuần. Các tế bào phát triển trong pha tăng trưởng cấp số mũ được thu hoạch và đếm để cấy tế bào khối u.

Điều chế PBMC người để ghép. Tế bào giàu đơn nhân của người (Catalog 213-15-04), thu được từBiological Specialty Corporation (Colmar, PA), được sử dụng để thử nghiệm phân tử hIgG1-AA. PBMC được phân lập thông qua sự phân tách gradien mật độ Ficoll (Ficoll-Paque™ Plus, GE Healthcare Bio-Sciences AB, Catalog 17-1440-03), và được phân chia ở mức $50x10^6$ tế bào cho mỗi lọ trong môi trường đóng băng (Recovery Cell Culture Freezing Medium (Môi trường đóng băng nuôi cấy tế bào hồi phục), Gibco, Catalog 12648-010). Các lọ được lưu trữ ở -80°C trong khoảng 24 giờ, và sau đó được chuyển sang nitơ lỏng để lưu trữ lâu dài. Các lọ tế bào máu đơn nhân ngoại vi phân lập được làm đông ($100x10^6$ tế bào mỗi lọ, Catalog PB009-3) thu được từ HemaCare (Van Nuys, CA) được sử dụng để thử nghiệm phân tử IgG4. Để rã đông PBMC, các lọ đóng băng được đặt vào bồn nước ở 37°C. Các tế bào được chuyển sang ống hình nón có môi trường rã đông lạnh. Ống hình nón được quay ly tâm và các tế bào được tái huyền phù trong PBS vô trùng. Khả năng sống của tế bào được đánh giá bằng phương pháp loại trừ sử dụng thuốc nhuộm trypan blue. Các tế bào được tái huyền phù đến khi đạt hàm lượng tế bào là $50x10^6$ tế bào mỗi mL trong PBS vô trùng để tiêm.

Thu thập máu ngoại vi để phân tích FACS. Đối với phân tích này, 50 µL máu được thu thập từ xoang hốc mắt mỗi động vật vào trong ống được bao phủ lithi heparin. Phân ước 25 µL máu từ mỗi mẫu được đặt vào 175 µL môi trường (RPMI với FBS 10%) trong mỗi đĩa trong 2 đĩa 96 lỗ. Các đĩa được quay ly tâm và tế bào hồng cầu bị ly giải bằng 3 lần xử lý với dung dịch đệm ly giải ACK. Các tế bào còn lại được hợp nhất cho mỗi mẫu và được nhuộm đối với CD45, CD3, CD8, và CD4 để định lượng lympho bào T tuần hoàn của người (xem Nhuộm/Thu thập máu ngoại vi của chuột: Quy trình phân lập bạch cầu và phân tích FACS).

Quy trình phân tích FACS bạch cầu.Quy trình phân tích FACS bạch cầu. Máu ngoại vi được thu thập hai lần trong khi nghiên cứu để phân tích phân loại tế bào hoạt hóa huỳnh quang (FACS) về PBMC tuần hoàn của người. Máu toàn phần (25 µL) được pha loãng trong 175 µL môi trường RPMI trong các đĩa 96 lỗ. Các đĩa được quay ly tâm với tốc độ 1400 vòng/phút trong 4 phút và lớp bề mặt được lắng gạn. Các tế bào được tái huyền phù trong 200 µL dung dịch đệm ly giải ACK và được ủ trên băng trong 5 phút. Sau khi ly tâm với tốc độ 1300 vòng/phút trong 5 phút, lớp bề mặt được hút ra. Các tế bào được tái xử lý với dung dịch đệm ly giải

ACK thêm hai lần và được rửa một lần trong 200 µL PBS và được quay ly tâm lần nữa với tốc độ 1500 vòng/phút trong 5 phút. Các viên tế bào được tái huyền phù trong 50 µL/lỗ hỗn hợp kháng thể trong PBS chứa thuốc nhuộm giúp phân biệt tế bào sống/chết (Invitrogen, cat# L10119, 0,25 µL/lỗ nguyên liệu.Nguyên liệu là 1 lọ được pha loãng trong 150 µL DMSO) và được ủ ở nhiệt độ phòng trong bóng tối trong 30 phút. Các kháng thể sau đây được sử dụng để gắn nhãn tế bào: CD4 (Becton Dickinson Cat. 557922, 0,5 µL/lỗ), CD8 (Invitrogen, Q010055, 0,5 µL với tỷ lệ pha loãng 1:10 trong PBS/lỗ), CD3 (Becton Dickinson, cat. 558117, 0,5 µL/lỗ), CD45 (BioLegend cat. 304006, 0,5 µL/lỗ). Tế bào được rửa 3 lần bằng dung dịch đệm FACS (200 µL/lỗ) và được tái huyền phù trong 170 µL dung dịch đệm FACS. Việc thu thập mẫu được thực hiện trên BD LSR Fortessa Flow Cytometry Analyzer (Máy phân tích đếm và đo tế bào theo dòng BD LSR Fortessa). Các đơn bào có thể sống sót được chặn lại trước khi phân tích bằng cách sử dụng lần lượt thuốc nhuộm xác định tế bào sống/chết Near-IR (Life Technologies Inc.) và vùng khuếch tán bên/về phía trước và các tham số về chiều cao. Dữ liệu được phân tích bằng phần mềm BD FACS Diva phiên bản 7.

Thiết kế trong cơ thể sống. Chuột cái NSG (NOD.Cg-*Prkdc*^{scid}*Il2rg*^{tm1Wjl}/SzJ) được cấy dưới da các tế bào KG-1 ($5x10^6$ tế bào trong dung dịch muối đẳng trương đệm phosphat với thể tích 200 µL) trên sườn lưng của mỗi con. Ngày cấy truyền tế bào khối u được gọi là ngày 0. Số đo khối u được theo dõi hai lần mỗi tuần bắt đầu sau khi cấy ghép 7 ngày, đến khi thể tích khối u nằm trong khoảng 100-150 mm^3 (sau khi cấy ghép 14 ngày), vào thời điểm này chuột được chọn ngẫu nhiên theo thể tích khối u vào trong nhóm điều trị. Sau đó chuột được ghép bằng tĩnh mạch (mạch bên đuôi) các tế bào đơn nhân máu ngoại vi của người (PBMC) ($10x10^6$ tế bào trong dung dịch muối đẳng trương đệm phosphat với thể tích 200 µL). Ngay sau khi ghép PBMC, chuột nhận được kháng thể đặc hiệu đôi I3RB186 bằng liệu pháp tiêm tĩnh mạch (kháng thể đặc hiệu đôi được pha loãng trong PBS và được cho liều với thể tích 100 µL). Việc điều trị diễn ra khoảng hai ngày một lần với tổng 5 liều lượng (xem Bảng 15 để biết số ngày cho liều chính xác). Các số đo khối u và trọng lượng cơ thể được ghi lại hai lần mỗi tuần.

Quy điểm đánh giá nghiên cứu là sự ức chế tăng trưởng khối u, gánh nặng khối u tối đa (trung bình nhóm lớn hơn 1500 mm^3), và trọng lượng cơ thể bị mất lớn

hơn 20% trọng lượng cơ thể khi bắt đầu điều trị. Kích thước khối u được đo hai lần mỗi tuần theo hai chiều bằng thước kẹp và thể tích được thể hiện bằng mm^3 theo công thức: $V=0,5axb^2$ trong đó a và b lần lượt là đường kính dài và ngắn của khối u. Sự thoái hóa khối u hoàn toàn (CR) được định nghĩa là các khối u giảm xuống dưới giới hạn xúc chẩn (50 mm^3). Sự thoái hóa khối u từng phần (PR) được định nghĩa là các khối u giảm xuống so với thể tích ban đầu. Thời gian tối thiểu của CR hoặc PR trong 3 lần đo khối u liên tiếp hoặc nhiều hơn là cần thiết để CR hoặc PR được coi là ổn định.

Việc ghép PBMC của người dẫn đến bệnh mảng ghép chống lại ký chủ (GVHD) ở chuột, trong đó tế bào T hiến tặng được ghép trở nên hoạt hóa và xâm nhập mô chủ, dẫn đến suy cơ quan, sụt giảm trọng lượng cơ thể nghiêm trọng và chắc chắn dẫn đến tử vong. Để theo dõi sự khởi phát và tính nghiêm trọng của GVHD ở mẫu này, trọng lượng cơ thể được ghi lại hai lần mỗi tuần và được thể hiện bằng gam (g). Sự thay đổi trọng lượng cơ thể theo phần trăm được tính bằng công thức: Thay đổi trọng lượng cơ thể = [(C-I)/I]*100, trong đó C là trọng lượng cơ thể hiện tại và I là trọng lượng cơ thể khi bắt đầu điều trị.

Số liệu thống kê tóm tắt, bao gồm số trung bình và sai số chuẩn trung bình (SEM), về sự chênh lệch thể tích khối u theo thể tích khối u trong mỗi nhóm tại mỗi thời điểm được trình bày trong các bảng nghiên cứu tương ứng. Phân tích thống kê về sự chênh lệch thể tích khối u trong các nhóm được đánh giá bằng cách thử nghiệm đo lặp lại ANOVA hai chiều, tiếp theo là hậu thử nghiệm Bonferroni, sử dụng phiên bản GraphPad Prism 5.01. $p<0,05$ được xem là có ý nghĩa thống kê.

Hiệu lực của các kháng thể đặc hiệu đôi CD123xCD3 IgG1, F234A, L235A

Chuột NSG được cấy dưới da các tế bào KG-1, và sau đó được ghép bằng tĩnh mạch các PBMC của người theo mô tả trên và được cho liều kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3, I3RB186 với các liều lượng 0,01, 0,1, 1 và 10 µg cho mỗi con, khi các khối u được thiết lập (thể tích khối u trung bình = 102 +/- 5,9 mm^3) theo mô tả trên. Một nhóm nhỏ chuột mang khối u không được ghép PBMC nhưng được cho liều, làm các đối chứng cho cơ chế đặc hiệu đôi khi không có các kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng. Ngoài ra, một nhóm nhỏ chuột không mang khối u được ghép PBMC

và được cho liều, làm đối chứng cho phân tích FACS máu ngoại vi (xem Bảng 15 về thiết kế nghiên cứu).

Bảng 15. Lịch cho liều I3RB186 để có hiệu lực trong cơ thể sống

Nhóm	N	Khối u	PBMC	Điều trị	Liều lượng (µg/con)	Đường dùng thuốc	Lịch cho liều (Số ngày sau khi cấy ghép khối u)	Lấy mẫu máu (Số ngày sau khi cấy ghép khối u)
1	10	+	-	PBS	0	i.v.	14, 17, 20, 22, 24	30
2	10	+	-	I3RB186	10	i.v.	14, 17, 20, 22, 24	30
3	10	+	-	I3RB186	1	i.v.	14, 17, 20, 22, 24	30
4	10	+	-	I3RB186	0,1	i.v.	14, 17, 20, 22, 24	30
5	10	+	-	I3RB186	0,01	i.v.	14, 17, 20, 22, 24	30
6	10	+	+	PBS	0	i.v.	14, 17, 20, 22, 24	30
7	10	+	+	I3RB186	10	i.v.	14, 17, 20, 22, 24	30
8	10	+	+	I3RB186	1	i.v.	14, 17, 20, 22, 24	30, 53
9	10	+	+	I3RB186	0,1	i.v.	14, 17, 20, 22, 24	30, 53
10	10	+	+	I3RB186	0,01	i.v.	14, 17, 20, 22, 24	30
11	5	-	+	PBS	0	i.v.	14, 17, 20, 22, 24	30, 53
12	5	-	+	I3RB186	10	i.v.	14, 17, 20, 22, 24	30, 53
13	5	-	+	I3RB186	1	i.v.	14, 17, 20, 22, 24	30, 53
14	5	-	+	I3RB186	0,1	i.v.	14, 17, 20, 22, 24	30, 53
15	5	-	+	I3RB186	0,01	i.v.	14, 17, 20, 22, 24	30, 53

Kết quả về nghiên cứu tính hiệu quả trong cơ thể sống

Hình 21 trình bày tính hiệu quả của kháng thể đặc hiệu đôi CD123xCD3 IgG1-AA, I3RB186 – IgG1, F234A, L235A, trong mẫu ghép ngoại lai AML của người KG-1 khi PBMC của người có mặt, với hai liều, 0,1 và 1 µg cho mỗi con ($p<0,001$). Kháng thể đặc hiệu đôi với liều lượng 1 µg cho mỗi con (ô vuông màu xám) cho thấy tính hiệu quả kháng khối u nhanh chóng hơn so với liều 0,1 µg, với sự thoái hóa khối u hoàn toàn ở 3/8 con, và thoái hóa từng phần ở 3/8 con. Tuy nhiên, quan sát thấy sự

tái tăng trưởng khối u ở 6/8 con chuột bắt đầu vào ngày 55 sau khi cấy ghép khối u. Kháng thể đặc hiệu đôi với liều 0,1 µg mỗi con (hình thoi màu xám) cho thấy hiệu quả chậm hơn nhưng tốt hơn hơn với việc các khối u bị thoái hóa hoàn toàn và từng phần ở tất cả con vật. Dữ liệu chứng minh sự có mặt của lympho bào T thực thi là cần thiết để tiêu diệt tế bào đích bằng kháng thể đặc hiệu đôi.

Hình 22 cho thấy phân tích FACS máu ngoại vi được thu thập từ chuột vào ngày 30 sau khi cấy ghép khối u. Quan sát thấy rõ ràng có sự gia tăng tế bào CD45+ do sự gia tăng lympho bào T CD8+ở các con vật mang khối u được điều trị với 0,1 và 1 µg kháng thể đặc hiệu đôi. Sự gia tăng lympho bào T CD8+ này chỉ xảy ra khi tế bào đích (KG-1) hiện diện, trong các nhóm quan sát được tính hiệu quả kháng khối u. Hoặc 10 µg kháng thể đặc hiệu đôi có mặt để loại bỏ PBMC CD45+ ra khỏi máu ngoại vi. Sự thanh thải các tế bào thực thi này có thể giải thích cho sự thiếu hiệu quả với liều lượng này.

Hình 23 trình bày phân tích FACS máu ngoại vi được thu thập từ chuột vào ngày 53 sau khi cấy ghép khối u. Chuột mang khối u được điều trị với 0,1 và 1 µg kháng thể đặc hiệu đôi có cùng mức tế bào CD45+, CD8+, và CD4+ như ở chuột không mang khối u được điều trị bằng PBS và 0,01 và 0,1 µg kháng thể đặc hiệu đôi. Chuột không mang khối u được điều trị bằng 1 và 10 µg kháng thể đặc hiệu đôi có mức tế bào CD45+, CD8+ và CD4+ rất thấp; nguyên nhân của việc này chưa được xác định.

Hình 24 trình bày sự thay đổi trọng lượng cơ thể trung bình của nhóm điều trị theo thời gian. Theo mô tả trước, sự sụt giảm trọng lượng cơ thể tương quan với sự khởi phát và tính nghiêm trọng của GVHD do tế bào T hoạt hóa gây ra. Ở cả chuột mang khối u và không mang khối u, sự sụt giảm trọng lượng cơ thể là nghiêm trọng nhất khi điều trị với 0,1 µg kháng thể đặc hiệu đôi. Chuột mang khối u được điều trị với 1 µg kháng thể đặc hiệu đôi không bị sụt giảm nghiêm trọng trọng lượng cơ thể. Lympho bào T có mặt vào ngày 53 sau khi cấy ghép khối u (theo phân tích FACS, Hình 23), tuy nhiên, việc không sụt giảm trọng lượng cơ thể và khởi phát GVHD biểu thị tế bào T hoạt hóa đã bị mất, điều này có thể giải thích cho sự tái tăng trưởng khối u diễn ra trong nhóm này bắt đầu vào ngày 55 sau khi cấy ghép khối u (Hình 21).

Ví dụ 18. Đánh giá I3RB186 và kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng (I3RB191 và I3RB192) *trong cơ thể sống*

Trong thí nghiệm trong cơ thể sống thứ hai, các đối chứng kháng thể đặc hiệu đôi, I3RB191, nhánh bất hoạt CD3 và I3RB192, kháng thể nhánh bất hoạt CD123. Quy trình giống như Ví dụ 16. Các mẫu ghép ngoại lai khối u AML của người KG-1 được cấy ghép dưới da chuột NSG cái. 14 ngày sau khi cấy ghép, chuột được chọn ngẫu nhiên theo thể tích khối u vào nhóm điều trị. PBMC người được cấy ghép qua tĩnh mạch, tiếp theo là điều trị bằng đường tĩnh mạch bằng kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng I3RB186, và I3RB191 và I3RB192 với liều 1 µg mỗi con (xem lịch cho liều trên Bảng 16). Việc điều trị diễn ra vào ngày 14, 16, 18, 21, và 23 sau khi cấy ghép khối u. Mũi tên trong hình cho biết số ngày sử dụng kháng thể đặc hiệu đôi.

Bảng 16 Lịch cho liều cho thí nghiệm trong cơ thể sống lần thứ 2

Nhóm	N	Khối u	PBMC	Điều trị	Liều lượng (µg/con)	Đường dùng thuốc	Lịch cho liều (Số ngày sau khi cấy ghép khối u)	Lấy mẫu máu (Số ngày sau khi cấy ghép khối u)
1	8	+	+	PBS	0	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	36
2	8	+	+	I3RB192	1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	36
3	8	+	+	I3RB191	1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	36
4	8	+	+	I3RB186	1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	36, 63
5	8	+	-	PBS	0	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	Không áp dụng
6	8	+	-	I3RB192	1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	Không áp dụng
7	8	+	-	I3RB191	1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	Không áp dụng
8	8	+	-	I3RB1	1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	Không áp dụng

				86				
9	4	-	+	PBS	0	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	36, 63
10	4	-	+	I3RB1 86	1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	36, 63

Hoạt tính kháng khối u của kháng thể đặc hiệu đôi được thể hiện ở sự thay đổi về kích thước khối u (mm^3) theo thời gian (Hình 25).Việc điều trị I3RB186 với liều 1 µg đã ức chế đáng kể sự tăng trưởng khối u ($p<0,001$) so với khối u của các con vật được điều trị bằng kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng và PBS.

Vào ngày 36 sau khi cấy ghép khối u, máu ngoại vi được thu thập để phân tích FACS về PBMC người tuần hoàn. Không giống như nghiên cứu đầu tiên, không có sự chênh lệch về tần suất của PBMC CD45+ của người (a) hoặc tần suất lympho bào T CD8+ và CD4+ (b) ở các con được điều trị bằng I3RB186 so với điều trị bằng PBS và I3RB191 (Hình 26). Các tế bào CD45+, CD8+, và CD4+ có tần suất thấp hơn ở các con không mang khối u và mang khối u được điều trị bằng I3RB192, kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng nhánh bất hoạt CD123.

Vào ngày 63 sau khi cấy ghép khối u, máu ngoại vi được thu thập để phân tích FACS về PBMC người tuần hoàn. Đối với các con vật mang khối u, chỉ những con được điều trị bằng I3RB186 với lượng 1 µg là còn tồn tại (Hình 27).Có sự gia tăng tần suất của PBMC CD45+ của người (a) và lympho bào T CD8+ (b) ở các con mang khối u được điều trị với 1 µg I3RB186, so với các con vật không mang khối y được điều trị với PBS hoặc 1 µg I3RB186 (Hình 25). Các lympho bào T CD4+ có cùng tần suất trong toàn bộ các nhóm còn lại. Chuột không mang khối u được điều trị với PBS và 1 µg I3RB186 có tần suất tế bào CD45+, CD8+ và CD4+ rất thấp.

Hình 28 trình bày sự thay đổi trọng lượng cơ thể trung bình của nhóm điều trị theo thời gian. Theo mô tả trước, sự sụt giảm trọng lượng cơ thể tương quan với sự khởi phát và tính nghiêm trọng của GVHD do tế bào T hoạt hóa gây ra. Ở chuột mang khối u, có sự sụt giảm trọng lượng cơ thể lớn hơn khi điều trị với 1 µg kháng thể đặc hiệu đôi, so với tất cả nhóm khác. Điều này mâu thuẫn với nghiên cứu đầu, trong đó chuột mang khối u được điều trị với 1 µg kháng thể đặc hiệu đôi không bị sụt giảm

trọng lượng cơ thể nghiêm trọng. Các lympho bào T có mặt vào ngày 63 sau khi cấy ghép khối u (Hình 27), tuy nhiên tính hiệu quả của liều 1 µg không được như tuyên bố trong nghiên cứu đầu tiên (Hình 21, 25).

Ví dụ 19. Điều chế kháng thể theo dạng đặc hiệu đôi trong IgG4 S228P, F234A, L235A

Một số kháng thể CD3 và CD123 đơn đặc hiệu được biểu hiện dưới dạng IgG4 có các thay thế Fc S228P, F234A, và L235Ax (nhánh CD123) hoặc S228P, F234A, L235A, F405L, và R409K (nhánh CD3) (đánh số theo chỉ mục EU) trong vùng Fc của chúng. Các kháng thể đơn đặc hiệu được biểu hiện trong các dòng tế bào CHO dưới các vùng khởi động CMV.

Kháng thể kháng CD3 đơn đặc hiệu CD3B219 được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 184 và VL có SEQ ID NO: 190 và vùng hằng định IgG4 với các thay thế S228P, F234A, L235A, F405L, và R409K. Kháng thể kháng CD3 đơn đặc hiệu CD3B217 được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 186 và VL có SEQ ID NO: 188 và vùng hằng định IgG4 với các thay thế S228P, F234A, L235A, F405L, và R409K. Kháng thể kháng CD3 đơn đặc hiệu CD3B218 được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 186 và VL có SEQ ID NO: 190 và vùng hằng định IgG4 với các thay thế S228P, F234A, L235A, F405L, và R409K. Kháng thể kháng CD3 đơn đặc hiệu CD3B220 được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 187 và VL có SEQ ID NO: 188 và vùng hằng định IgG4 với các thay thế S228P, F234A, L235A, F405L, và R409K.

Kháng thể kháng CD123 đơn đặc hiệu I3RB218 được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL của kháng thể I3RB2 kháng CD123 có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 120 và VL có SEQ ID NO: 165 và vùng hằng định IgG4 với sự thay thế S228P, F234A và L235A. Kháng thể kháng CD123 đơn đặc hiệu I3RB217 được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL của kháng thể I3RB18 kháng CD123 có VH có SỐ ID TRÌNH TỰ: 136 và VL có SEQ ID NO: 168 và vùng hằng định IgG4 với sự thay thế S228P, F234A và L235A.

Với vai trò là một đối chứng, kháng thể kháng RSV đơn đặc hiệu, có nguồn gốc từ B21 M, được tạo ra bao gồm các vùng VH và VL có VH có SỐ ID TRÌNH

TỰ: 191 và VL có SEQ ID NO: 192 và vùng hằng định IgG4 với S228P, F234A, L235A hoặc F234A, L235A, R409K, F405 để kết hợp với vai trò là nhánh bất hoạt với nhánh CD3 hoặc CD123 của kháng thể đặc hiệu đôi.

Các kháng thể đặc hiệu đôi được tinh chế, và các kháng thể CD123 và kháng CD3 đặc hiệu đơn được trộn với nhau để trao đổi nhánh Fab trong ống nghiệm trong ma trận (Bảng 12) theo mô tả trên trong Ví dụ 15 và được đặc trưng hóa trong các xét nghiệm khác nhau. Kháng thể đặc hiệu đôi -Ab 7959 bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B219 -F405L, R409K và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB217 -R409. Kháng thể đặc hiệu đôi Ab 3978 bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B217 -F405L, R409K và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB217 -R409. Kháng thể đặc hiệu đôi Ab 7955 bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B218 -F405L, R409K và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB217 -R409. Kháng thể đặc hiệu đôi 9958 Ab bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B220 -F405L, R409K và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB217 -R409. Kháng thể đặc hiệu đôi Ab 8747 bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B219 -F405L, R409K và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB218 -R409. Kháng thể đặc hiệu đôi Ab 8876 bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B217 -F405L, R409K và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB218 -R409. Kháng thể đặc hiệu đôi Ab 4435 bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B218 -F405L, R409K và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB218 -R409. Kháng thể đặc hiệu đôi Ab 5466 bao gồm nhánh liên kết CD3 của kháng thể đơn dòng CD3B220 -F405L, R409K và nhánh liên kết CD123 của kháng thể đơn dòng I3RB218 -R409.

Đối với các kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng, B2 M1 dưới dạng IgG4 PAA được tạo ra, được tinh chế và kết hợp với nhánh CD3 hoặc các nhánh CD123 trong ma trận sau trong bảng 17 bên dưới.

Bảng 17 Ma trận của kháng thể đặc hiệu đôi IgG4

	CD3B219 (I3RB146) SỐ ID TRÌNH	CD3B217 (I3RB151) SỐ ID TRÌNH	CD3B218 (I3RB154) SỐ ID TRÌNH	CD3B220 (I3RB155) SỐ ID TRÌNH	B21 M IgG4, F045L CD3 bất hoạt

	TỰ:210, 211	TỰ:212, 213	TỰ:214, 215	TỰ:216, 217	
I3RB217 (I3RB18) SỐ ID TRÌNH TỰ:218, 219	7959	3978	7955	9958	CD3 bất hoạt 1 (4309)
I3RB218 (I3RB2) SỐ ID TRÌNH TỰ:220, 221	8747	8876	4435	5466	CD3 bất hoạt 2 (6601)
B21 M IgG4, K409R CD123 bất hoạt	CD123 bất hoạt 1	CD123 bất hoạt 2	CD123 bất hoạt 3	CD123 bất hoạt 4	CD123 CD3 bất hoạt (3244)

Chuỗi nặng và nhẹ cho các kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 được trình bày trong Bảng 18.

Bảng 18. Trình tự chuỗi nặng và nhẹ cho các kháng thể đặc hiệu đôi IgG4-PAA

Kháng thể	Chuỗi	Trình tự axit amin
7959	Chuỗi nặng 1 CD3B219 (I3RB146)SỐ ID TRÌNH TỰ:210	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAASVKGRFTISRDD SKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC PPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	Chuỗi nhẹ 1 CD3B219 (I3RB146) SỐ ID TRÌNH TỰ:211	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQ QKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLS GVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	Chuỗi nặng 2 I3RB217 (I3RB18)SỐ ID TRÌNH TỰ:218,	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWISWVRQ MPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTA YLQWSSLKASDTAMYYCARGDGSTDLDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP

		SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLGK
	Chuỗi nhẹ 2 I3RB217 (I3RB18) SỐ ID TRÌNH TỰ:219	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQDYGFPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
3978	Chuỗi nặng 1 CD3B217 (I3RB151)SỐ ID TRÌNH TỰ:212	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC PPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	Chuỗi nhẹ 1 CD3B217 (I3RB151) SỐ ID TRÌNH TỰ:213	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKA APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	Chuỗi nặng 2 I3RB217 (I3RB18)SỐ ID TRÌNH TỰ:218,	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWISWVRQ MPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTA YLQWSSLKASDTAMYYCARGDGSTDLDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLGK
	Chuỗi nhẹ 2 I3RB217 (I3RB18) SỐ ID TRÌNH TỰ:219	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQDYGFPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
7955	Chuỗi nặng	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVR

	1 CD3B218 (I3RB154)SỐ ID TRÌNH TỰ:214	QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC PPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	Chuỗi nhẹ 1 CD3B218 (I3RB154) SỐ ID TRÌNH TỰ:215	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQ QKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLS GVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	Chuỗi nặng 2 I3RB217 (I3RB18)SỐ ID TRÌNH TỰ:218,	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWISWVRQ MPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTA YLQWSSLKASDTAMYYCARGDGSTDLDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLGK
	Chuỗi nhẹ 2 I3RB217 (I3RB18) SỐ ID TRÌNH TỰ:219	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQDYGFPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
9958	Chuỗi nặng 1 CD3B220 (I3RB155)SỐ ID TRÌNH TỰ:216	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVR QASGKGLEWVGRIRSKYNAYATYYAASVKGRFTISRDD SKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC PPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGN

		VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	CD3B220 (I3RB155) SEQ ID NO:217	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKA APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	Chuỗi nặng 2 I3RB217 (I3RB18)SỐ ID TRÌNH TỰ:218,	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWISWVRQ MPGKGLEWMGIIDPSDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTA YLQWSSLKASDTAMYYCARGDGSTDLDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLGK
	Chuỗi nhẹ 2 I3RB217 (I3RB18) SỐ ID TRÌNH TỰ:219	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQDYGFPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
8747	Chuỗi nặng 1 CD3B219 (I3RB146) SỐ ID TRÌNH TỰ:210	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAASVKGRFTISRDD SKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC PPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	Chuỗi nhẹ 1 CD3B219 (I3RB146) SỐ ID TRÌNH TỰ:211	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQ QKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLS GVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	Chuỗi nặng 2 I3RB218 (I3RB2)SỐ	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYWMHWVR QAPGKGLEWVSAIRSDGSSKYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGVIEDTFDYWGQGTL

	ID TRÌNH TỰ:220	VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSLGK
	Chuỗi nhẹ 2 I3RB218 (I3RB2) SỐ ID TRÌNH TỰ:221	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPE DFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
8876I	Chuỗi nặng 1 CD3B217 (I3RB151)SỐ ID TRÌNH TỰ:212	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC PPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	Chuỗi nhẹ 1 CD3B217 (I3RB151) SỐ ID TRÌNH TỰ:213	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKA APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	Chuỗi nặng 2 I3RB218 (I3RB2)SỐ ID TRÌNH TỰ:220	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYWMHWVR QAPGKGLEWVSAIRSDGSSKYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGVIEDTFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSLGK
	Chuỗi nhẹ 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP

	I3RB218 (I3RB2) SỐ ID TRÌNH TỰ:221	GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPE DFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
4435	Chuỗi nặng 1 CD3B218 (I3RB154) SỐ ID TRÌNH TỰ:214	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC PPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	Chuỗi nhẹ 1 CD3B218 (I3RB154) SEQ ID NO:215	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQ QKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLS GVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	Chuỗi nặng 2 I3RB218 (I3RB2) SEQ ID NO:220	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYWMHWVR QAPGKGLEWVSAIRSDGSSKYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGVIEDTFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSLGK
	Chuỗi nhẹ 2 I3RB218 (I3RB2) SEQ ID NO:221	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPE DFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
5466	Chuỗi nặng 1 CD3B220 (I3RB155) SEQ ID	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVR QASGKGLEWVGRIRSKYNAYATYYAASVKGRFTISRDD SKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNFGNSYVSWFA YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS

	NO:216	VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPC PPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	CD3B220 (I3RB155) SEQ ID NO:217	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKA APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	Chuỗi nặng 2 I3RB218 (I3RB2) SEQ ID NO:220	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYWMHWVR QAPGKGLEWVSAIRSDGSSKYYADSVKGRFTISRDNSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGVIEDTFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSLGK
	Chuỗi nhẹ 2 I3RB218 (I3RB2) SEQ ID NO:221	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKP GQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPE DFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC

Ví dụ 20. Ái lực đơn trị CD123 của kháng thể đặc hiệu đôi dưới dạng IgG4-PAA sử dụng kháng nguyên tái tổ hợp

Thí nghiệm cộng hưởng Plasmon bề mặt (SPR) được thực hiện để xác định động lực học và ái lực để liên kết các kháng thể đặc hiệu đôi CD3XCD123 với ECD CD123 SP1 và ECD CD123 SP2 người.

Các ái lực của các kháng thể đặc hiệu đôi kháng CD123 xCD3 3978, 7955, 7959, 9958 8876, 8747, 5466 đối với CD123 SP1 người tái tổ hợp và ECD CD123 SP2 người tái tổ hợp được đo bởi cộng hưởng Plasmon bề mặt (SPR) bằng thiết bị Biacore. Các nghiên cứu động lực học được thực hiện ở 25°C bằng Biacore

T200(BIAcore, Inc., hiện thuộc GE Healthcare). Kháng thể đặc hiệu kháng IgG (Fc) người từ dê (Jackson ImmunoResear laboratories Prod # 109-005-098) được liên kết cộng hóa trị với bề mặt vàng được phủ metylcarboxy dextran của chip cảm biến CM-5 (GE Healthcare). Các nhóm metylcarboxy của dextran được hoạt hóa với N-Ethyl-N′-(3-Đimetylaminopropyl)carbođiimit (EDC) và N-hyđroxysuxinimit (NHS). Kháng thể kháng Fc được ghép cặp trong natri axetat 10 mM, độ pH 4,5. Các vị trí phản ứng còn lại trên bề mặt được ngăn chặn bởi phản ứng với etanolamin. Để đo lường liên kết động lực học, thu các kháng thể kháng CD123 trên kháng thể đặc hiệu kháng Fc□ người. Thu được 40-70 RU kháng thể. Sau khi thu được kháng thể, tiêm CD123 SP1 người hoặc CD123 SP2 người với hàm lượng trong khoảng 0,4 nM và 400 nM với lượng 40 µL/phút. Dữ liệu kết hợp được thu thập trong 2 phút, tiếp theo là 10 phút đối với dữ liệu phân ly. Bề mặt được tái tạo với 30 µL H3PO4 100 mM với lượng 100 µL/phút, tiếp theo là NaOH 50 mM. Các mẫu dành cho phân tích động lực học được điều chế trong dung dịch đệm nền PBS (D-PBS chứa 3 mM EDTA và 0,005% chất hoạt động bề mặt P20). Dữ liệu được báo cáo có sự khác biệt về tín hiệu SPR giữa tế bào dòng chảy có chứa kháng thể thu được và tế bào tham chiếu không chứa kháng thể thu được. Sự đóng góp bổ sung của thiết bị vào tín hiệu được loại bỏ bằng cách trừ dữ liệu từ việc tiêm blank (không có kháng thể đang thử nghiệm) từ tín hiệu đã trừ tham chiếu. Dữ liệu được phân tích theo các pha kết hợp và phân ly phù hợp ở tất cả hàm lượng (phù hợp toàn bộ) với mẫu liên kết 1:1 bằng cách sử dụng phần mềm BIAevaluation (BIAcore, Inc.). Bảng 20 và 21 tóm tắt các kết quả động lực học và ái lực thu được bằng Biacore. Cả hai bảng đều trình bày dữ liệu thu được trong 3 thí nghiệm độc lập hoặc nhiều hơn.

Dữ liệu Biacore cho thấy rằng trong cùng họ, kháng thể đặc hiệu đôi dẫn xuất từ I3RB18 và các kháng thể đặc hiệu đôi dẫn xuất từ I3RB2 liên kết với cùng ái lực với CD123 SP1 (Bảng 19) và với cùng ái lực với CD123 SP2 (Bảng 20), các kháng thể đặc hiệu đôi dẫn xuất từ I3RB18 liên kết với CD123 SP1 tái tổ hợp chặt hơn > 10 lần so với các kháng thể đặc hiệu đôi dẫn xuất từ I3RB2 có các ái lực lần lượt là ~1 nM và 14 nM. Khi liên kết với CD123 SP2 tái tổ hợp, các kháng thể đặc hiệu đôi dẫn xuất từ I3RB18 liên kết chặt hơn > 5 lần so với các kháng thể đặc hiệu đôi dẫn

xuất từ I3RB2 có các ái lực lần lượt là ~ 0,3 nM và 1,7 nM. Độ lệch chuẩn trong Bảng 19 và 20 cho thấy dữ liệu rất dễ tái lập.

Bảng 19 Dữ liệu động lực học và ái lực Biacore về sự liên kết của các kháng thể đặc hiệu đôi với CD123 SP1 người tái tổ hợp.

ID mẫu	Tên chung	k_{on} trung bình ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{on} STDEV ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{off} trung bình (s^{-1})	k_{off} STDEV (s^{-1})	K_D trung bình (nM)	K_D STDEV (nM)
3978	CD123(B18) x CD3(B151)	5,64E+05	3,82E+04	8,30E-04	4,70E-05	1,47	0,129
7955	CD123(B18) x CD3(B154)	5,62E+05	4,53E+04	8,40E-04	5,30E-05	1,49	0,153
7959	CD123(B18) x CD3(B146)	5,79E+05	3,55E+04	8,80E-04	5,40E-05	1,53	0,132
9958	CD123(B18) x CD3(B155m)	5,87E+05	4,57E+04	7,90E-04	5,00E-05	1,34	0,135
8876	CD123(B2) x CD3(B151)	3,43E+05	1,10E+04	4,90E-03	1,20E-04	14,4	0,583
4435	CD123(B2) x CD3(B154)	3,37E+05	1,25E+04	4,80E-03	1,60E-04	14,3	0,713
8747	CD123(B2) x CD3(B146)	3,37E+05	1,25E+04	4,80E-03	2,10E-04	14,3	0,821
5466	CD123(B2) x CD3(B155m)	3,71E+05	6,43E+03	5,10E-03	6,70E-05	13,7	0,298
3244	B21 M x B21 M	NB	NB	NB	NB	NB	NB
I3RB18	Mab đối với Fab I3RB119	7,73E+05	5,68E+04	7,20E-04	3,60E-05	0,935	0,083

NB – không liên kết

Bảng 20. Dữ liệu động lực học và ái lực Biacore về sự liên kết của các kháng thể đặc hiệu đôi kháng CD123 với CD123 SP2 người tái tổ hợp

ID mẫu	Tên chung	k_{on} trung bình ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{on} STDEV ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{off} trung bình (s^{-1})	k_{off} STDEV (s^{-1})	K_D trung bình (nM)	K_D STDEV (nM)
3978	CD123(B18) x CD3(B151)	3,12E+06	6,34E+05	1,10E-03	5,30E-05	0,356	0,074
7955	CD123(B18) x CD3(B154)	3,33E+06	9,37E+05	1,10E-03	2,90E-05	0,344	0,097
7959	CD123(B18) x	3,78E+06	5,43E+05	1,30E-03	1,30E-04	0,335	0,06

	CD3(B146)						
9958	CD123(B18) x CD3(B155m)	3,57E+06	9,82E+05	1,10E-03	6,90E-05	0,311	0,088
8876	CD123(B2) x CD3(B151)	2,83E+06	4,07E+05	5,00E-03	1,30E-04	1,75	0,255
4435	CD123(B2) x CD3(B154)	2,88E+06	5,51E+05	5,00E-03	3,20E-04	1,74	0,349
8747	CD123(B2) x CD3(B146)	3,19E+06	1,05E+06	5,20E-03	4,50E-04	1,63	0,558
5466	CD123(B2) x CD3(B155m)	2,88E+06	2,86E+05	4,90E-03	2,80E-04	1,69	0,193
3244	B21 M x B21 M	NB	NB	NB	NB	NB	NB

NB – không liên kết

Ví dụ 21. Ái lực đơn trị CD123 của kháng thể đặc hiệu đôi dưới dạng IgG4-PAA với kháng nguyên biểu hiện trên bề mặt tế bào theo phương pháp MSD-CAT

Ái lực đơn trị của kháng thể đặc hiệu đôi kháng CD123 đã chọn với CD123 SP1 và SP2 người được biểu hiện trên bề mặt tế bào được thực hiện bằng phương pháp kỹ thuật ái lực tế bào MSD (MSD-CAT). MSD-CAT được phát triển nội bộ như một phương pháp không gắn nhãn để xác định ái lực bằng cách sử dụng các tế bào nguyên vẹn dưới dạng thông lượng cao. Các thí nghiệm này được thực hiện để đánh giá ái lực và tính đặc hiệu liên kết của ứng viên kháng CD123 với CD123 SP1 và SP2 người trên bề mặt tế bào. Các dòng tế bào được sử dụng là CD123SP1 pDisplay và CD123SP2 pDisplay người. Kháng thể đối chứng âm được sử dụng để thử nghiệm xem giàn giáo kháng thể đặc hiệu đôi có liên kết không đặc hiệu với các tế bào hay không và có phân biệt liên kết không đặc hiệu so với liên kết đặc hiệu với CD123 hay không. Để đo ái lực của các tương tác này bằng phương pháp MSD-CAT, hàng loạt hỗn hợp với hàm lượng cố định của kháng thể kháng CD123 (800, 160, 32 và 6 pM) và hàm lượng thay đổi của tế bào (20 triệu đến 1016 tế bào/mL) được điều chế và được cho đạt đến sự cân bằng bằng cách quay đĩa trong 24 giờ ở 4°C. Các mẫu này được điều chế trong môi trường DMEM Glutamax chứa azit 0,05%, BSA 1%, EDTA 3 mM. Số lượng thụ thể (0,29-1,08) X 10^6 CD123 SP1 người/tế bào và (0,57-1,5) x 10^6 CD123 SP2 người/tế bào được

chuyển hóa thành hàm lượng thụ thể M trong hỗn hợp dựa trên thể tích phản ứng, mật độ tế bào (tế bào/L) và số Avogadro. Việc này dẫn đến khoảng hàm lượng từ 35 nM đến 0,5 pM đối với CD123 SP1 người; và 49 nM đến 0,97 pM đối với CD123 SP2 người. Sau khi cân bằng, đĩa được quay ly tâm trong 5 phút ~1000 vòng/phút và kháng thể kháng CD3 tự do được tìm thấy trên lớp bề mặt. Kháng thể kháng CD123 tự do trong hỗn hợp được tìm thấy bằng điện hóa phát quang (ECL) bằng thiết bị đọc Mesoscale Discovery (MSD). Để phát hiện kháng thể kháng CD123 tự do trong hỗn hợp được cân bằng bằng Xét nghiệm miễn dịch điện hóa phát quang (ECL), các đĩa phát hiện được chuẩn bị. Để chuẩn bị đĩa phát hiện (kháng nguyên bám vào đĩa trên các đĩa SA-MSD), các đĩa Tiêu chuẩn MSD Streptavidin được lấp đầy với 50 µL/lỗ dung dịch đệm xét nghiệm (PBS, (Life Sciences GIBCO 14190-136), Tween 20 0,05%, BSA 0,2%) trong 5 phút. Chất đệm xét nghiệm được loại bỏ mà không rửa và 50 µL/lỗ kháng nguyên được biotin hóa có hàm lượng 0,7 µg/mL trong dung dịch đệm xét nghiệm được bổ sung vào đĩa MSD và được ủ qua đêm (~16 giờ ở4°C). Sau khi ủ qua đêm, đĩa được lấp đầy với 150 uL/lỗ dung dịch đệm xét nghiệm mà không loại bỏ kháng nguyên bao phủ, được ủ trong ~1 giờ ở nhiệt độ phòng và được rửa 5 lần bằng dung dịch đệm rửa (dung dịch đệm xét nghiệm không có BSA). 50 uL/lỗ lớp bề mặt từ các đĩa mẫu được chuyển sang các đĩa được phủ kháng nguyên, được ủ trong 60 phút và sau đó được rửa 3 lần bằng dung dịch đệm rửa. Sau đó, 50 µL kháng thể phát hiện được gắn nhãn ruteni được cho vào mỗi lỗ (kháng H+L người) và được ủ trong 1 giờ. Sau 1 giờ, các đĩa được rửa bằng dung dịch đệm và 150 µL dung dịch đệm đọc MSD ((Read Buffer T 4X, R92TD-2, MSD) được bổ sung vào mỗi lỗ. Các đĩa được đọc ngay trên Thiết bị đọc MSD Sector Imager 6000ä về các mức phát quang. Tín hiệu ECL được MSD phát hiện đã được biểu hiện dưới dạng % kháng thể tự do trong hỗn hợp và dữ liệu được phân tích để xác định ái lực sử dụng phương trình xác định bởi người dùng (bắt nguồn từ định luật tác dụng khối lượng) được giới thiệu trong phần mềm Prism. Các kết quả của các thí nghiệm MSD-CAT được trình bày trong Bảng 21.

Bảng 21. Dữ liệu ái lực MSD-CAT cho thấy sự liên kết của các phân tử kháng CD123 với CD123 SP1 người và CD123 SP2 người trên bề mặt tế bào. Dữ liệu phù hợp với việc sử dụng phân tích bình phương nhỏ nhất phi tuyến tính với mẫu liên kết 1:1.

ID mẫu	K_D [pM] của người Tế bào CD123 SP1	K_D [pM] của người Tế bào CD123 SP2
3978	153 ± 124	528 ± 296
7955	136 ± 105	436 ± 255
7959	149 ± 98	461 ± 290
9958	121 ± 80	538 ± 430
8876	1291 ± 556	2450 ± 2104
4435	**1531 ± 1093**	**3701 ± 1898**
8747	**1761 ± 1337**	**2211 ± 1003**
5466	**2431 ± 1222**	**1722 ± 1638**
3244	**Không liên kết**	**Không liên kết**
Kháng thể đơn dòng I3RB18	***47 ± 14**	***49 ± 36**
Kháng thể đơn dòng I3RB2	**Không áp dụng**	***36 ± 20**

NA = không áp dụng; xét nghiệm không được thực hiện

Ái lực MSD-CAT của kháng thể đặc hiệu đôi đối với CD123 SP1 trên bề mặt tế bào chặt hơn >6 lần so với dữ liệu SPR đối với CD123 SP1 tái tổ hợp; Tuy nhiên, ái lực đối với CD123 SP1 bề mặt tế bào tương đương với CD123 SP2 tái tổ hợp (chênh lệch < 2 lần). Sự chênh lệch giữa ái lực SPR so với ái lực MSD-CAT đối với CD123 SP1 rất có thể do sự hiện diện của kháng nguyên trên bề mặt tế bào khi so sánh với kháng nguyên tái tổ hợp. MSD-CAT cho thấy kháng thể đặc hiệu đôi dẫn xuất từ I3RB18 (3978, 7955, 7959, 9958) là các chất liên kết chặt chẽ nhất với CD123 SP1 người và CD123 SP2 người trên bề mặt tế bào với ái lực pM. Các ái lực dẫn xuất từ I3RB18 chặt chẽ hơn khoảng 10 lần và khoảng 5 lần so với ái lực của các kháng thể đặc hiệu đôi dẫn xuất từ I3RB2 lần lượt với CD123 SP1 và CD123 SP2 trên bề mặt tế bào. Các ái lực như nhau đối với các kháng thể đặc hiệu đôi trong cùng họ.

Tóm lại, các phân tích sự tương tác phân tử bằng Biacore và MSD-CAT đều thống nhất cho thấy rằng các kháng thể đặc hiệu đôi dẫn xuất từ I3RB18 liên kết chặt chẽ hơn với CD123 (SP1 và SP2) người trên bề mặt tế bào và tái tổ hợp so với các kháng thể đặc hiệu đôi dẫn xuất từ I3RB2.

Ví dụ 22. Ái lực đơn trị CD123 của kháng thể đặc hiệu đôi dưới dạng IgG4-PAA với kháng nguyên biểu hiện trên bề mặt tế bào theo phương pháp đếm và đo tế bào theo dòng

Phương pháp đếm và đo tế bào theo dòng được sử dụng để đo các giá trị ái lực của một số kháng thể đặc hiệu đôi CD123xCD3 đối với CD3 trên tế bào T người (Biological Specialty, Colmar, Hoa Kỳ) và tế bào T khỉ đuôi dài (khỉ) (Zen Bio, Triangle Research Park, Hoa Kỳ). Phương pháp về liên kết cạnh tranh sử dụng hàm lượng cố định của kháng thể đơn dòng kháng CD3 được gắn nhãn có ái lực đã biết và hàm lượng gia tăng của kháng thể thử nghiệm không gắn nhãn (Ashkenazi A và cộng sự PNAS: 88:10535, 1991.). Kháng thể đơn dòng kháng CD3 được sử dụng là kháng thể IgG1-AlaAla F405L CD3B146 của người có giá trị ái lực tương đương với SP34-2. Kd cho SP34-2 được xác định bằng cách sử dụng liên kết bão hòa và qua các ví dụ về đường cong liên kết tế bào T người và khỉ được trình bày trong Hình 29. Hình 30 trình bày sự liên kết cạnh tranh với B146 được gắn nhãn và các hàm lượng khác nhau của các kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 không gắn nhãn thu được đối với các tế bào T người (Hình 30 A) và khỉ (Hình 30 B). Thu được các giá trị có thể so sánh của các tế bào T của người và khỉ đuôi dài. Có vẻ có 3 nhóm ái lực CD3 trong số các mẫu được phân tích: cao (9-15 nM), trung bình (25-50 nM) và thấp (110-270 nM) được tổng hợp trong Bảng 22.

BẢNG 22. Các giá trị ái lực (Kd) của các kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 với các tế bào T người hoặc khỉ – liên kết cạnh tranh sử dụng B146 được gắn nhãn và gia tăng hàm lượng các kháng thể không gắn nhãn

	Tế bào T người	Tế bào T khỉ
kháng thể đặc hiệu đôi	Kd (nM)	Kd (nM)
3978	241,2 +/- 57,3	215,0 +/- 17,1
8876	169,2 +/- 27,9	109,6 +/- 4,8
CD123 bất hoạt 2	266 +/- 78,0	217 +/- 18,0
7955	209,6 +/- 31,8	169,1 +/- 8,8
4435	173,6 +/- 48,6	138,9 +/- /2,8
CD123 bất hoạt 3	200,5 +/- 67,3	236,7 +/- 16,4

7959	11,0 +/- 4,3	11,2 +/- 0,3
8747	9,6 +/- 1,5	9,5 +/- 0,1
CD123 bất hoạt 1	13,2 +/- 3,0	13,4 +/- 0,3
9958	43,0 +/- 10,6	29,1 +/- 1,2
5466	27,9 +/- 9,3	25,3 +/- 1,1
CD123 bất hoạt 4	48,6 +/- 14,8	36,8 +/- 0,5
CD3B146	3,2 +/- 1,2	1,1 +/-/0,1

Ví dụ 23 Đánh giá các kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 IgG4-PAA trong xét nghiệm tiêu diệt tế bào chức năng

Xét nghiệm về cơ chế gây độc tế bào qua trung gian tế bào T được mô tả trong Ví dụ 16 được sử dụng để đánh giá các kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 về sự ly giải tế bào bằng cách sử dụng tế bào T từ 2 người hiến tặng khỏe mạnh. Đối với các xét nghiệm này, các tế bào OCI-AML5, KG-1 và JIM3 được sử dụng. JIM3 là dòng u tủy và không có biểu hiện CD123 và được sử dụng làm đối chứng. Các tế bào được xử lý trong 48 giờ bằng các kháng thể đặc hiệu đôi. Tỷ lệ E:T cho nghiên cứu này là 5:1 và 2 mg/mL chất chặn Fc được bổ sung để ngăn chặn chức năng Fc.

Các kết quả của cơ chế ly giải tế bào qua trung gian T của dòng tế bào AML OCI-AML (Hình 31), KG-1 (Hình 32) và JIM3 (Hình 33) sau khi ủ 48 giờ ở 37°C, $CO_2$5% được trình bày. MV4-11 và OCI-AML5 là các dòng tế bào biểu hiện CD123, và JIM3 biểu hiện rất ít hoặc không biểu hiện CD123. Tỷ lệ tế bào thực thi/tế bào đích cho nghiên cứu này là 5:1. Phân ước 2 mg/mL của chất chặn Fc được thêm vào để ngăn chặn chức năng Fc.

Các kết quả là tương tự với các thí nghiệm tiêu diệt tế bào trước với kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 có dạng IgG1-AA. Cả hai kháng thể I3RB217 (I3RB18) và I3RB218 (I3RB2), khi kết hợp với kháng thể kháng CD3 thành dạng đặc hiệu đôi, đều có hiệu quả khi tiêu diệt đặc hiệu các tế bào CD123+. Sự tiêu diệt tế bào chỉ đặc hiệu đối với các tế bào chứa CD123 đã được chứng minh qua việc không tác động lên tế bào JIM3. Ngoài ra, dữ liệu cho phép xếp hạng rõ ràng giữa các kháng thể đặc hiệu

đôi I3RB218 (nền I3RB2) và I3RB217 (nền I3RB18) với các kháng thể đặc hiệu đôi I3RB125 x CD3 hiệu lực hơn các kháng thể đặc hiệu đôi I3RB135 x CD3, phù hợp với dữ liệu trước về tiêu diệt tế bào.

Ví dụ 24. Đánh giá về các kháng thể đặc hiệu đôi trong xét nghiệm dị đime hóa thụ thể

Xét nghiệm dị đime hóa thụ thể DiscoveRx đối với IL3RA/CD131 (DiscoveRx 93-0969-C1) được sử dụng để đánh giá khả năng kháng thể CD123 ngăn chặn sự dị đime hóa cảm ứng IL-3 đối với IL3Rα(CD123)/IL3Rβ(CD131). CD123 và CD131 được gắn nhãn ProLink™ (PK) hoặc Chất nhận enzym (EA). Ngay khi hoạt hóa cảm ứng IL3, các protein dị đime hóa để tạo ra thụ thể IL3, buộc 2 thành phần β-gal bổ sung và tạo ra enzym hoạt hóa. β-gal hoạt hóa tạo ra tín hiệu phát quang hóa học khi có mặt cơ chất. Các kháng thể kháng CD123 hoặc các kháng thể đặc hiệu đôi thể hiện tín hiệu giảm cùng với hàm lượng kháng thể tăng là các kháng thể dương tính với việc ngăn chặn sự dị đime hóa.

Các tế bào được thử nghiệm về sự gia tăng hoạt tính enzym khi phối tử IL-3 hiện diện bằng cách sử dụng Thuốc thử phát hiện PathHunter® (DiscoveRx) theo quy trình của nhà sản xuất. Các dòng tế bào HEK293 IL3RA-PK / CSF2RB-EA được đặt trong 20 uL môi trường xét nghiệm trên bộ bốn đĩa 384 lỗ với 5.000 tế bào / lỗ. Lượng nguyên liệu kháng thể được pha loãng tuần tự trong BSA / PBS 0,1% sao cho hàm lượng cao của hỗn hợp là 10 ug / mL. Liều cao được pha loãng tuần tự theo tỷ lệ 1:3 với 11 liều được thử nghiệm. 5 µl kháng thể pha loãng được thêm vào các lỗ. Các tế bào được ủ trong 1 giờ ở 37°C. Dung dịch gốc IL-3 người tái tổ hợp với lượng 100 µg / mL được pha loãng để5 µl dung dịch pha loãng IL-3 với hàm lượng 60 ng / mLđược thêm vào mỗi lỗ. Hàm lượng cuối dùng của IL-3 được sử dụng là 10 ng / mL. Các tế bào được ủ thêm 6 giờ ở 37°C. Thuốc thử phát hiện nhanh PathHunter có chứa dung dịch đệm ly giải và cơ chất enzym được thêm vào các tế bào, được ủ trong 30 phút ở nhiệt độ phòng và được đọc trên thiết bị đo cường độ ánh sáng Envision. Dữ liệu được phân tích bằng GraphPad Prism 6. Các đường cong phù hợp khi sử dụng đáp ứng liều sigma với độ dốc thay đổi (bốn tham số) không giới hạn; phương pháp khớp hàm= bình phương nhỏ nhất (khớp hàm chuẩn).

Các kháng thể đặc hiệu đôi IgG4 PAA 8747 và 7959, cũng như các kháng thể mẹ I3RB218 và I3RB217 được chạy trong xét nghiệm. Xét nghiệm được chạy hai lần độc lập với sự có mặt của IL-3 10 ng/ml và kháng thể CD123 đối chứng dương 7G3 được sử dụng làm mẫu so sánh trong xét nghiệm. Các kháng thể có trình tự I3RB18 nhánh kháng CD123, I3RB217 và 7959 (Hình 34 C và D) có thể ngăn chặn sự hình thành thụ thể IL-3 hoạt động khi có mặt phối tử IL-3. Các kháng thể có trình tự I3RB2 nhánh kháng CD123, I3RB218 và 8747 (Hình 34 A và B) không thể ngăn chặn sự hình thành thụ thể IL-3 hoạt động trong xét nghiệm này. Điều này tương quan với dữ liệu trước cho biết I3RB18 có thể ức chế việc phát tín hiệu phía hạ nguồn liên quan đến với thụ thể IL-3 hoạt động.

Ví dụ 24. Đánh giá một số kháng thể đặc hiệu đôi trong mẫu mang khối u KG-1

Một số kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 được đánh giá về tính hiệu lực trong mẫu chuột AML KG-1 theo mô tả trên. Quy trình giống nhau đối với nghiên cứu này như trong Ví dụ 16 và 17, ngoại trừ các lọ tế bào đơn nhân máu ngoại vi phân lập được làm đông ($100x10^6$ tế bào cho mỗi lọ, Danh mục PB009-3) lấy từ HemaCare (Van Nuys, CA) được sử dụng để thử nghiệm các kháng thể đặc hiệu đôi IgG4. Chuột NSG được cấy dưới da các tế bào KG-1, và sau đó được ghép bằng đường tĩnh mạch các PBMC người khi khối u được thiết lập (thể tích khối u trung bình = 135,7 +/- 4,7 mm3). Sau đó chuột được cho sử dụng liều kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 IgG4 PAA có các ái lực khác nhau và kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng tương ứng với khoảng liều lượng theo mô tả trong Bảng 23.

Bảng 23. Lịch cho liều của nghiên cứu trong cơ thể sống lần thứ 3

Nhóm	N	Khối u	PBMC	Điều trị	Liều lượng (µg/con)	Đường dùng thuốc	Lịch cho liều (Số ngày sau khi cấy ghép khối u)	Lấy mẫu máu (Số ngày sau khi cấy ghép khối u)
1	10	+	+	PBS	0	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
2	10	+	+	7959	0,1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
3	10	+	+	7959	1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
4	10	+	+	9958	0,1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
5	10	+	+	9958	1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
6	10	+	+	8747	0,1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
7	10	+	+	8747	1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
8	10	+	+	8747	10	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
9	10	+	+	3978	0,1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
10	10	+	+	3978	1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31

11	10	+	+	3978	10	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
12	10	+	+	8876	0,1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
13	10	+	+	8876	1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
14	10	+	+	8876	10	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
15	10	+	+	CD3 bất hoạt 1	0,1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
16	10	+	+	CD3 bất hoạt 1	1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
17	10	+	+	CD3 bất hoạt 1	10	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
18	10	+	+	CD3 bất hoạt 2	0,1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
19	10	+	+	CD3 bất hoạt 2	1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
20	10	+	+	CD3 bất hoạt 2	10	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
21	10	+	+	CD123 bất hoạt 1	0,1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
22	10	+	+	CD123 bất hoạt 1	1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
23	10	+	+	CD123 bất hoạt 1	10	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
24	10	+	+	CD123 bất hoạt 2	0,1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
25	10	+	+	CD123 bất hoạt 2	1	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31
26	10	+	+	CD123 bất hoạt 2	10	i.v.	14, 16, 18, 21, 23	31

Các kết quả nghiên cứu về tính hiệu quả trong cơ thể sống với nhiều kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 được trình bày trong Hình 35 - 42. Hình 35 - 38 trình bày tính hiệu quả của kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 IgG4-PAA ở các mức ái lực và các liều khác nhau trong mẫu ghép ngoại lai AML người KG-1. Trong Hình 35, các kháng thể đặc hiệu đôi với các nhánh CD123 và CD3 ái lực cao có hiệu quả đáng kể so với các kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng và PBS từ ngày 25 đến ngày 36 sau khi cấy ghép khối u ($p<0,001$). Kháng thể đặc hiệu đôi 9958 với liều 1 µg có hiệu quả đáng kể so với liều 0,1 µg, và cả hai liều kháng thể đặc hiệu đôi 7959 vào ngày 36 sau khi cấy ghép khối u ($p<0,01$). Điều này biểu thị các nhánh CD123 và CD3 ái lực cao là cần thiết để mang lại tính hiệu quả được công bố trong mẫu này.

Trong Hình 36, kháng thể đặc hiệu đôi 3978 với liều 10 µg có hiệu quả đáng kể so với các kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng và PBS từ ngày 28 ($p<0,05$) đến ngày 36 ($p<0,001$) sau khi cấy ghép khối u, liều 1 µg từ ngày 32 ($p<0,05$) đến ngày 36 ($p<0,01$) sau khi cấy ghép khối u, và liều 0,1 µg từ ngày 32 ($p<0,01$) đến ngày 36 ($p<0,001$) sau khi cấy ghép khối u. Có sự đáp ứng phụ thuộc liều lượng với kháng thể đặc hiệu đôi này, biểu thị nhánh CD123 ái lực cao với liều cao có thể mang lại hiệu quả trong mẫu này.

Trong Hình 37, kháng thể đặc hiệu đôi 8747 với liều 0,1 µg có hiệu quả đáng kể so với các kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng và PBS từ ngày 32 đến ngày 36 sau khi cấy ghép khối u ($p<0,001$), và so với các liều 1 và 10 µg vào ngày 36 sau khi cấy ghép khối u ($p<0,001$). Điều này cho thấy nhánh CD3 ái lực cao với liều thấp có thể mang lại hiệu quả trong mẫu này.

Trong Hình 38, kháng thể đặc hiệu đôi 8876 không có hiệu quả đáng kể so với các kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng và PBS với liều lượng bất kỳ.

Hình 39 - 42 trình bày sự thay đổi trọng lượng cơ thể trung bình của nhóm điều trị theo thời gian. Như đã mô tả ở phần trước, sự sụt giảm trọng lượng cơ thể tương quan với sự khởi phát và tính nghiêm trọng của GVHD do tế bào T hoạt hóa gây ra.

Các con vật được điều trị với kháng thể đặc hiệu đôi 7959 với liều 0,1 µg và kháng thể đặc hiệu đôi 9958 với liều 1 µg có sự sụt giảm trọng lượng cơ thể sớm hơn và nghiêm trọng hơn so với các con vật được điều trị với các kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng, PBS, và các liều kháng thể đặc hiệu đôi 7959 và kháng thể đặc hiệu đôi 9958 (Hình 39) khác. Điều này tương quan với tính hiệu quả kháng khối u đáng kể quan sát được ở kháng thể đặc hiệu đôi 9958 với liều 1 µg (Hình 35).

Các con vật được điều trị với kháng thể đặc hiệu đôi 3978 với liều 10 µg có sự sụt giảm trọng lượng cơ thể sớm hơn và nghiêm trọng hơn so với các con vật được điều trị với các kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng và PBS (Hình 40). Theo sau về mức sụt giảm trọng lượng cơ thể phụ thuộc liều lượng là chuột được điều trị với các liều 1 µg và 0,1 µg . Việc sụt giảm trọng lượng cơ thể phụ thuộc liều lượng tương quan với tính hiệu quả kháng khối u phụ thuộc liều lượng được trình bày trong Hình 36).

Các con vật được điều trị bằng kháng thể đặc hiệu đôi 8747 với liều 0,1 µg có sự sụt giảm trọng lượng cơ thể tương tự như các con vật trong nhóm được điều trị bằng PBS, tuy nhiên, chuột đã tăng trọng trở lại bắt đầu vào ngày 39 sau khi cấy ghép khối u (Hình 41). Không có sự sụt giảm trọng lượng cơ thể với các liều 1 hoặc 10 µg. Quan sát thấy sự sụt giảm trọng lượng với liều 0,1 µg tương quan với tính hiệu quả kháng khối u với liều này (Hình 37).

Các con vật được điều trị bằng kháng thể đặc hiệu đôi 8876 biểu hiện sự sụt giảm trọng lượng cơ thể không khác với sự sụt giảm trọng lượng của chuột được điều trị bằng kháng thể đặc hiệu đôi đối chứng hoặc PBS (Hình 42), tương ứng với việc không có hiệu quả kháng khối u với kháng thể đặc hiệu đôi này (Hình 38).

Tóm lại, các kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 cho thấy tính hiệu quả nhất quán trong dòng tế bào AML người biểu hiện CD123 là KG-1 chỉ khi có mặt các tế bào thực thi (lympho bào T). Sự gia tăng tế bào T được nhìn thấy ngay sau thời gian cho liều, chỉ khi xuất hiện bệnh (mẫu ghép ngoại lai KG-1). Ngoài ra, tính hiệu quả đặc hiệu đôi tương quan với sự khởi phát GVHD được đo theo sự sụt giảm trọng lượng cơ thể, cho thấy các lympho bào T hoạt hóa đã có mặt. Đồng thời, các dữ liệu này cho thấy kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 có hiệu quả kháng khối u thông qua cơ chế đã đề xuất về việc gắn kết tế bào đích và thực thi, và tiêu diệt tế bào T.

Ví dụ 24. Nghiên cứu PK *trong cơ thể sống* của chuột

Các loại kháng thể thử nghiệm được điều chế trong dung dịch muối đẳng trương đệm phosphat với lượng 0,2 mg/mL. Nồng độ được xác nhận bằng quang phổ kế Nanodrop sau đó được lọc vô trùng bằng đầu lọc với các ống tiêm 0,2 micrômet.

Động vật chuyển gen được sử dụng trong các nghiên cứu này có nguồn gốc từ chuột C57BL/6. Tg32 được Jackson Laboratory (Bar Harbor) cấp phép có gen FcRn α nội sinh bị bất hoạt và được chuyển gen với gen FcRn α của người dưới sự điều khiển của vùng khởi động gen tự nhiên của người. Tg32 bán hợp tử chỉ bán hợp tử ở chuột về gen biến đổi FcRn, gen biến đổi FcRn được dẫn xuất bằng cách lai giống chuột chuyển gen bán hợp tử với chuột đã bất hoạt FcRn □. Quan sát thấy sự tương quan đáng kể giữa PK của kháng thể ở người và PK ở loài linh trưởng với mẫu chuột bán hợp tử Tg32, và vì thế nó được sử dụng trong các nghiên cứu PK sau đây để

đánh giá thời gian bán thải của kháng thể. Tất cả chuột được gây giống tại SAGE Research Labs Boyertown, PA Facility.

Để nghiên cứu, chuột 6 tuần tuổi được sử dụng với 48 chuột cái bán hợp tử Tg32 được tiêm IV các kháng thể đặc hiệu đôi hIgG4-PAA sử dụng 5 con chuột cho mỗi nhóm. Máu sau hốc mắt được lấy ra vào cùng thời điểm.

Sau khi thu thập mẫu, tiến hành phân tích huyết thanh. Nồng độ IgG người trong các mẫu huyết thanh được xác định bằng xét nghiệm miễn dịch điện hóa phát quang với chương trình MESO Scale Discovery (MSD). Các đĩa MSD Streptavidin được bao phủ với 50 µL/lỗ kháng thể kháng IgG người của dê F(ab')2 được biotin hóa (H+L, Jackson lô 109-066-08) trong Starting Block T20 (Thermo) hàm lượng 2 µL/mL qua đêm ở 4°C. Các đĩa được rửa bằng dung dịch đệm PBS, và các mẫu được pha loãng trong huyết thanh chuột 10% (Bioreclamations, NY) trong Starting Block T20. Mỗi đĩa bao gồm đường cong chuẩn về mỗi kháng thể thử nghiệm, bắt đầu với lượng 0,1 mg/mL cùng với sự pha loãng tuần tự gấp 2 lần. Các đĩa được ủ trong 2-3 giờ, ở nhiệt độ phòng trên máy lắc, được rửa và sau đó được ủ với MSD-TAG (kháng thể kháng IgG người được gắn nhãn ruteni, R10Z8E9, MSD) hàm lượng 2 µg/mL trong 1 giờ, ở nhiệt độ phòng trên máy lắc. Các đĩa được rửa và 200 µL dung dịch đệm đọc MSD (MSD) được bổ sung và được đọc trên MSD Sector Imager 6000.

Để xác định các mẫu huyết thanh PK có hàm lượng miễn dịch đáng kể hay không để có thể tác động đến PK của các mẫu thử nghiệm, xét nghiệm ELISA được thực hiện trên các đĩa Maxisorb (Nunc) được bao phủ các kháng thể thử nghiệm tương ứng với hàm lượng 10 µg/mL và được ủ qua đêm ở 4°C. Các mẫu huyết thanh được pha loãng trong BSA-PBS 1% và được ủ trên các đĩa trong 2-3 giờ kết hợp lắc ở nhiệt độ phòng. Kháng thể kháng IgG chuột của lừa tiếp hợp với peroxyđaza ở cây cải ngựa (Jackson ImmunoResearch) được sử dụng để phát hiện kháng thể thu được; tiếp theo là bổ sung 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (Fitzgerald) để phát triển cơ chất. Các đĩa được đọc và các chỉ số quang phổ kế lớn hơn gấp ba lần dung dịch đệm hoặc các giá trị huyết thanh đối chứng được coi là dương tính. Nồng độ miễn dịch được biểu hiện theo tỷ lệ 1/dung dịch pha loãng huyết thanh. Không quan sát thấy nồng độ miễn dịch (dữ liệu không được trình bày).

Cuối cùng, dược động học về phân tử được xác định. Tính toán thời gian bán thải (t1/2) của pha loại bỏ cho các nghiên cứu PK được xác định bằng cách sử dụng mẫu phân rã dạng hàm số mũ pha 1 được điều chỉnh phù hợp theo sự hồi quy tuyến tính của hàm lượng lôgarit tự nhiên so với thời gian bằng cách sử dụng phần mềm Prism phiên bản 5.01 (GraphPad Software, Inc.). Hai mẫu của pha được loại trừ vì đối với mỗi kháng thể thử nghiệm, mẫu phù hợp nhất là mẫu phân rã dạng hàm số mũ pha 1 như đã xác định bằng kiểm định F tổng bình phương không đáng kể ($p > 0,05$) cho phần lớn động vật. Mẫu phân rã phi tuyến tính bình phương nhỏ nhất được cân theo 1/hàm lượng phù hợp. Việc tính toán thời gian bán thải của pha loại bỏ được xác định bằng công thức $t1/2 = \ln 2/\beta$, trong đó β là độ dốc của đường được điều chỉnh phù hợp bằng phân tích hồi quy bình phương nhỏ nhất bắt đầu sau liều thứ nhất.

Trong nghiên cứu PK được mô tả ở đây, giá trị thời gian bán thải đối với kháng thể được xác định bằng cách lấy giá trị trung bình của các giá trị t1/2 được tính cho mỗi con vật trong nhóm thử nghiệm. Các mẫu ngoại lai trong nghiên cứu được nhận dạng là động vật thể hiện hàm lượng kháng IgG người của chuột lớn hơn 1 đến 1000 khoảng 7 ngày sau khi cho liều hoặc giá trị huyết thanh đầu tiên thấp hơn trên 2 lần so với giá trị cho các con chuột khác trong nhóm, có lẽ do không được cho liều đầy đủ.

Các dự đoán PK của người từ dữ liệu chuột dựa trên sự chênh lệch thời gian bán thải quan sát được ở chuột biến đổi gen FcRn của người so với người của bộ gồm 8 kháng thể IgG của người có độ thanh thải được cho là không bị tác động đáng kể bởi liên kết đích ở chuột hoặc người. Dựa trên các phân tích đó, ước tính rằng thời gian bán thải ở người của kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 sẽ lâu hơn gấp 2-4 lần so với thời gian quan sát được ở chuột biến đổi gen FcRn người, phép ngoại suy cho rằng sự ảnh hưởng của liên kết đích đối với độ thanh thải là tương đương ở chuột và người. Bảng 24 tóm tắt các giá trị thời gian bán thải ở chuột quan sát đượccủa các biến thể kháng thể đặc hiệu đôi khác nhau và các giá trị ở người được dự đoán tương ứng phản ánh giả định đó. Vì phương pháp dự đoán PK của người đã biết dựa trên tỷ lệ mô hình sinh trắc trong các loài sử dụng dữ liệu PK ở chuột chưa được xác nhận , tỷ lệ mô hình sinh trắc không được sử dụng để dự đoán. Kết quả PK được trình bày trong Hình 43 với hàm lượng huyết thanh so với thời gian. Các

đường cong PK thể hiện sự suy giảm tuyến tính của hàm lượng huyết thanh qua đợt điều trị 28 ngày. Các giá trị thời gian bán thải ở chuột theo ước tính của tất cả kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 đều như nhau, trong khoảng 5,2-6,6 ngày. Quan sát thấy nồng độ miễn dịch tối thiểu (<1:40) trong tất cả các nhóm. Dữ liệu PK của chuột (với giá trị trung bình +/-độ lệch chuẩn) cùng với độ thanh thải ở người theo dự đoán và các giá trị thời gian bán thải ở người được tóm tắt trong Bảng 24. Sự dự đoán thời gian bán thải ở người đưa ra giả định rằng liên kết đích ở người không lớn hơn ở chuột.

Các kháng thể đặc hiệu đôi IgG4-PAA cho thấy các giá trị tương tự giữa các nhóm I3RB2 và I3RB18 ở chuột. Việc tính toán thời gian bán thải ở chuột của pha loại trừ được xác định bằng cách sử dụng mẫu phân rã dạng hàm số mũ pha 1 được điều chỉnh phù hợp theo sự hồi quy tuyến tính của hàm lượng lôgarit tự nhiên so với thời gian như đã mô tả. Các giá trị bán thải được tính cho 8 kháng thể đặc hiệu đôi ở chuột bán hợp tử Tg32: 3978, 6,6 +/- 0,7 ngày; 7955, 5,2 +/- 0,4 ngày; 7959, 6,6 +/- 0,6 ngày; 9958, 6,4 +/- 0,7 ngày; 8876, 4,1 +/- 0,7 ngày; 4435, 5,4 +/- 1,0 ngày; 8747, 6,4 +/- 0,4 ngày; 5466, 5,6 +/- 0,1 ngày. Sự dự đoán PK của người từ dữ liệu chuột dựa trên sự chênh lệch thời gian bán thải quan sát được ở chuột biến đổi gen FcRn người so với người. Dựa trên các phân tích đó, thời gian bán thải ước tính ở người của kháng thể đặc hiệu đôi CD123 x CD3 sẽ lâu hơn gấp 2 đến 4 lần so với thời gian quan sát được ở chuột biến đổi gen FcRn của người, giả định rằng sự ảnh hưởng của liên kết đích lên sự thanh thải là tương tự ở chuột và người. Bảng 24 tóm tắt các giá trị thời gian bán thải ở chuột quan sát được của các biến thể kháng thể đặc hiệu đôi và các giá trị ở người được dự đoán tương ứng phản ánh giả định đó.

Bảng 24. Tóm tắt về PK của các kháng thể đặc hiệu đôiCD123 x CD3 IgG4-PAA

Kháng thể đặc hiệu đôi	Động vật Số	T1/2 (ngày)	T1/2 trung bình tính được (ngày)	T1/2 ở người theo dự đoán (ngày)
3978	2 5 7 22 28	6,71 7,08 5,44 7,02 6,71	6,59±0,66	**13,2 – 26,4**
7955	1 6	4,85 4,80	5,24±0,43	**10,5 – 21,0**

	8 9 10	5,31 5,39 5,85		
7959	3 12 13 16 33	6,31 7,53 6,28 6,86 6,16	6,63±0,57	**13,2 – 26,4**
9958	4 15 18 19 20	7,15 5,60 6,88 5,77 6,40	6,36±0,68	**12,7 - 25,4**
8876	21 22 23 24 35	4,65 6,05 4,40 5,10 5,73	5,19±0,70	**10,4 – 20,8**
4435	17 27 29 30 36	5,39 3,96 5,66 5,47 6,60	5,42±0,95	**10,8 – 21,6**
8747	14 25 31 32 34	6,38 6,49 5,78 6,80 6,41	6,37±0,37	**12,7 - 25,4**
5466	26 37 38 39 40	4,81 5,68 4,53 6,61 6,54	5,64±0,96	**11,3 – 22,6**

Các kết quả nghiên cứu PK của chuột với kháng thể đặc hiệu đôi CD123XCD3 cho thấy các giá trị t1/2 quan sát được ở chuột bán hợp tử Tg32 tốt hơn so với 8 kháng thể lâm sàng được định mức theo cùng cách thức. (Tam, và cộng sự, MAbs (2013) 5(3):3987-405).

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể được phân lập, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có:

a. chuỗi nặng CDR1 có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 012, chuỗi nặng CDR2 có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 013, chuỗi nặng CDR3 có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 014, chuỗi nhẹ CDR1 có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 015, chuỗi nhẹ CDR2 có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 016, và chuỗi nhẹ CDR3 có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 017; hoặc

b. chuỗi nặng CDR1 có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 051, chuỗi nặng CDR2 có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 052, chuỗi nặng CDR3 có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 053, chuỗi nhẹ CDR1 có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 024, chuỗi nhẹ CDR2 có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 025, và chuỗi nhẹ CDR3 có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 054.

2. Kháng thể hoặc mảnh kháng nguyên theo điểm 1, trong đó chuỗi nặng của kháng thể bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 120, và chuỗi nhẹ của kháng thể bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 165.

3. Kháng thể hoặc mảnh kháng nguyên theo điểm 1, trong đó chuỗi nặng của kháng thể bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 136 và chuỗi nhẹ của kháng thể bao gồm trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168.

4. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên nói trên là lớp kháng thể IgG1 hoặc IgG4.

5. Kháng thể đặc hiệu kép hoặc mảnh liên kết kháng nguyên được phân lập CD123 (IL3-Rα) x CD3 bao gồm chuỗi nặng thứ nhất (HC1), chuỗi nặng thứ hai (HC2), chuỗi nhẹ thứ nhất (LC1) và chuỗi nhẹ thứ hai (LC2), mà HC1 và LC1 ghép đôi để tạo thành vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất mà liên kết đặc hiệu miễn dịch CD123 (IL3-Rα), và HC2 và LC2 ghép đôi để tạo thành vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai mà liên kết đặc hiệu miễn dịch CD3, hoặc mảnh liên kết đa đặc hiệu của nó CD123 (IL3-Rα) x CD3 -, trong đó:

i) HC1 và LC1 bao gồm hoặc là các cặp dưới đây:

a. SEQ ID NO: 203 và SEQ ID NO: 204, hoặc

b. SEQ ID NO: 205 và SEQ ID NO: 206, tương ứng; và

ii) HC2 và LC2 bao gồm hoặc là các cặp dưới đây:

a. SEQ ID NO: 193 và SEQ ID NO: 194,

b. SEQ ID NO: 195 và SEQ ID NO: 196,

c. SEQ ID NO: 197 và SEQ ID NO: 198,

d. SEQ ID NO: 199 và SEQ ID NO: 200, hoặc

e. SEQ ID NO: 201 và SEQ ID NO: 202, tương ứng.

6. Kháng thể đặc hiệu kép hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm 5, trong đó HC1 bao gồm SEQ ID NO: 203 và LC1 bao gồm SEQ ID NO: 204 và HC2 bao gồm SEQ ID NO: 193 và LC2 bao gồm SEQ ID NO: 194.

7. Kháng thể đặc hiệu kép hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm 5, trong đó HC1 bao gồm SEQ ID NO: 205 và LC1 bao gồm SEQ ID NO: 206 và HC2 bao gồm SEQ ID NO: 193 và LC2 bao gồm SEQ ID NO: 194.

8. Kháng thể đa đặc hiệu được phân lập CD123 (IL3-Rα) x CD3 hoặc mảnh liên kết đa đặc hiệu CD123 (IL3-Rα) x CD3 bao gồm:

a) chuỗi nặng thứ nhất (HC1);

b) chuỗi nặng thứ hai (HC2);

c) chuỗi nhẹ thứ nhất (LC1); và

d) chuỗi nhẹ thứ hai (LC2),

trong đó HC1 và LC1 ghép đôi để tạo thành vị trí liên kết kháng nguyên thứ nhất mà liên kết đặc hiệu miễn dịch CD123 (IL3-Rα), và HC2 và LC2 ghép đôi để tạo thành vị trí liên kết kháng nguyên thứ hai mà liên kết đặc hiệu miễn dịch CD3, trong đó:

a. trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được ghép nối mà liên kết đặc hiệu miễn dịch CD3, chuỗi nặng (HC2) nói trên bao gồm SEQ ID NO: 184 và chuỗi nhẹ (LC2) nói trên bao gồm SEQ ID NO: 190, và

b. trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được ghép nối mà liên kết đặc hiệu miễn dịch CD123,

i. chuỗi nặng (HC1) nói trên bao gồm SEQ ID NO: 120 và chuỗi nhẹ (LC1) nói trên bao gồm SEQ ID NO: 165, hoặc

ii. chuỗi nặng (HC1) nói trên bao gồm SEQ ID NO: 136 và chuỗi nhẹ (LC1) nói trên bao gồm SEQ ID NO: 168.

9. Tế bào được phân lập biểu hiện kháng thể hoặc mảnh kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8.

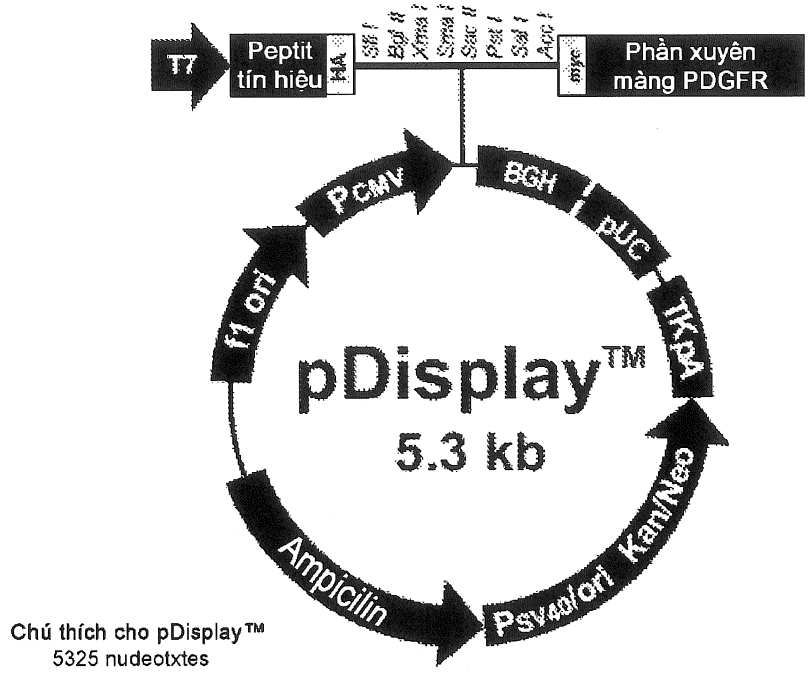
10. Dược phẩm bao gồm kháng thể đa đặc hiệu hoặc mảnh liên kết đa đặc hiệu CD123 (IL3-Rα) x CD3 theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 5 đến 8 và chất mang dược dụng.

11. Polynucleotit tổng hợp được phân lập mã hóa kháng thể hoặc mảnh kháng nguyên theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 5 đến 8.

12. Kit bao gồm kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8 và đóng gói giống nhau.

13. Kháng thể đặc hiệu kép hoặc mảnh liên kết kháng nguyên theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 5 đến 8, trong đó kháng thể đa đặc hiệu hoặc mảnh liên kết kháng nguyên nói trên liên kết miễn dịch đặc hiệu với CD123 SP2 (IL-3Ra) và CD123 SP1 (IL3Ra).

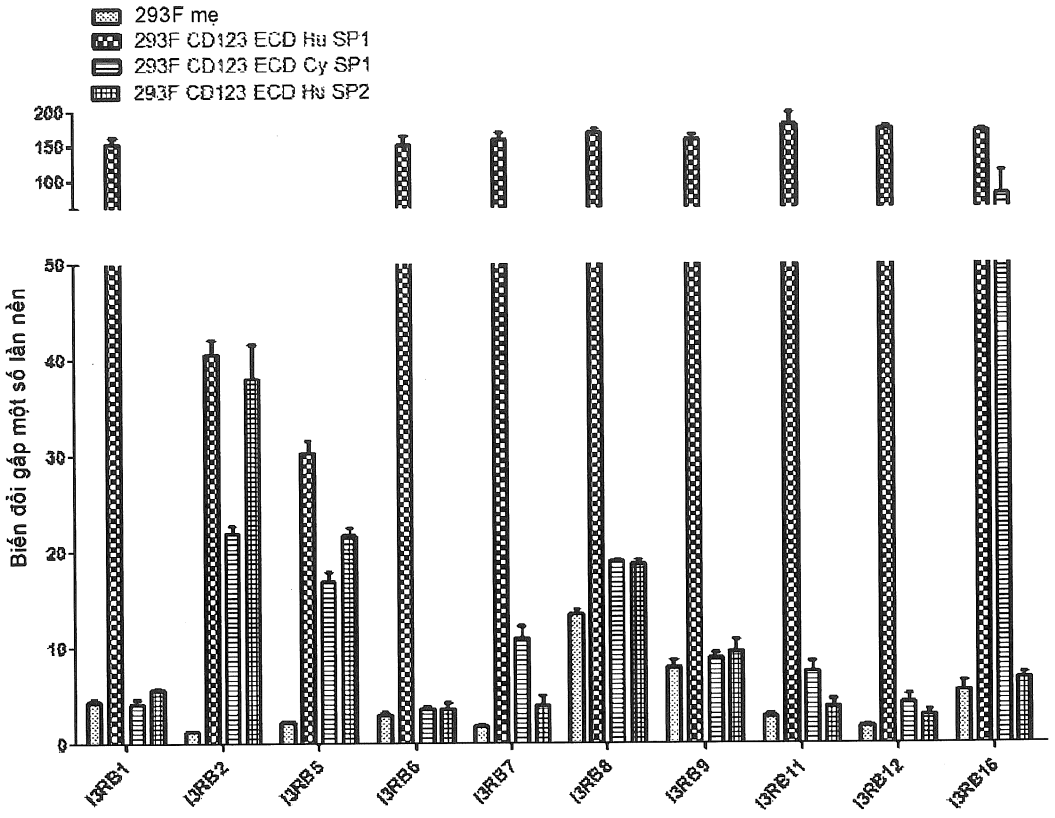
Hình 1.



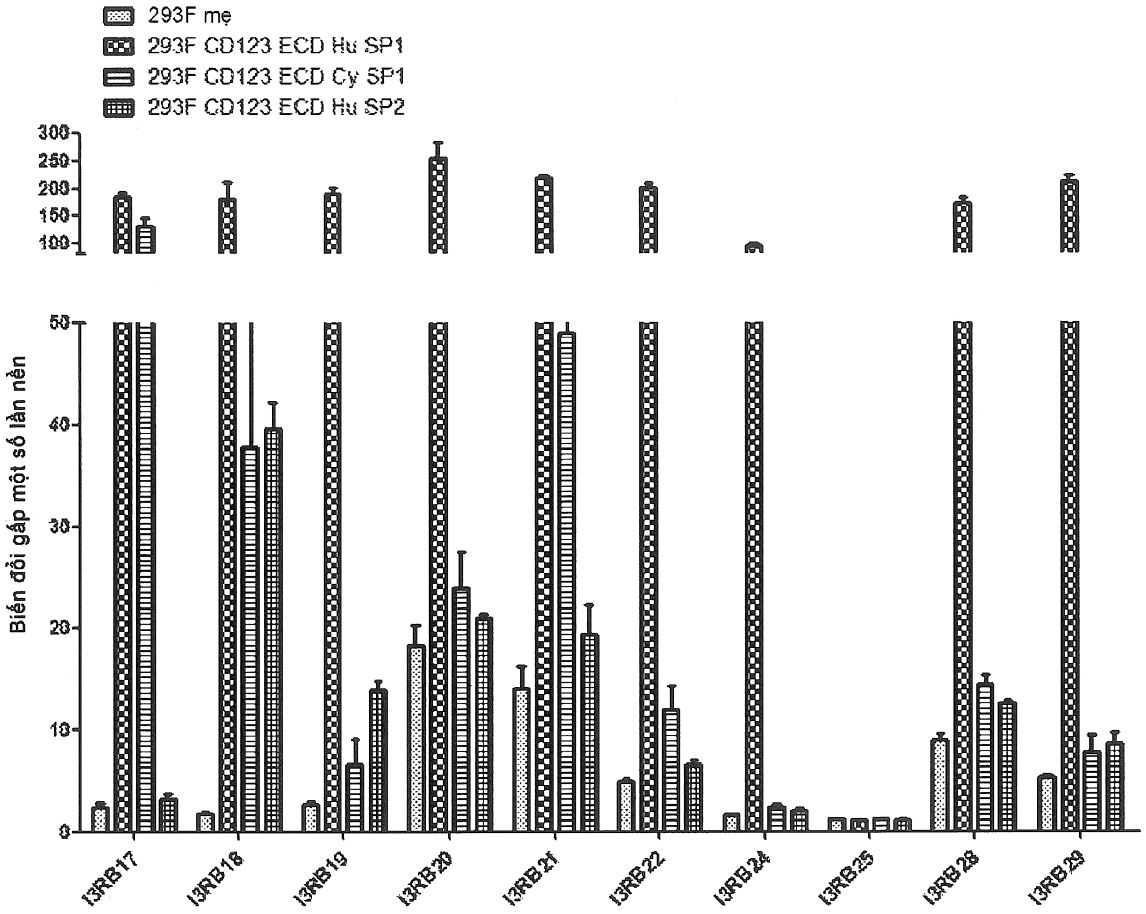
Chú thích cho pDisplay™
5325 nudeotxtes

Hình 2A)

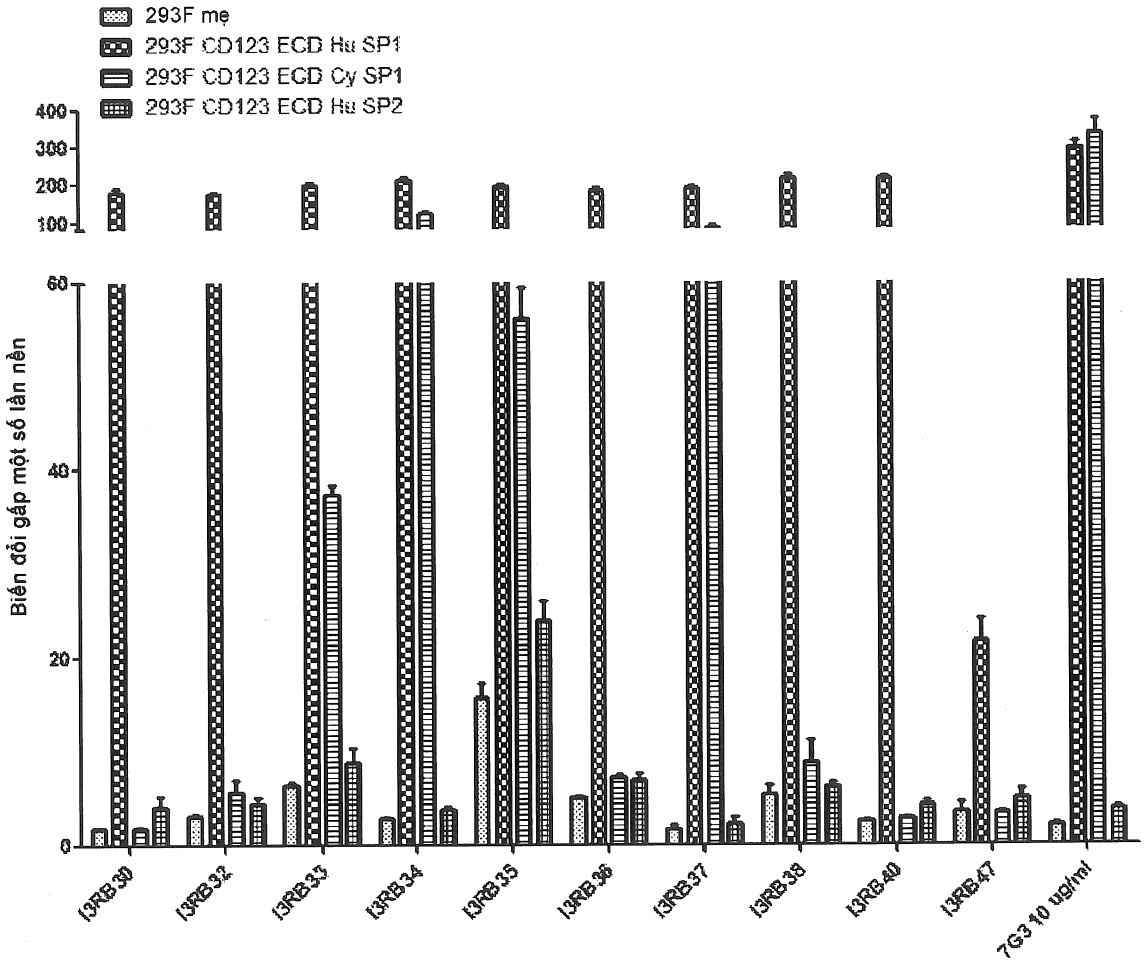
a)


293F mẹ
293F CD123 ECD Hu SP1
293F CD123 ECD Cy SP1
293F CD123 ECD Hu SP2
200
150
100
50
40
30
20
10
0
Biến đổi gấp một số lần nền
I3RB1
I3RB2
I3RB5
I3RB6
I3RB7
I3RB8
I3RB9
I3RB11
I3RB12
I3RB16

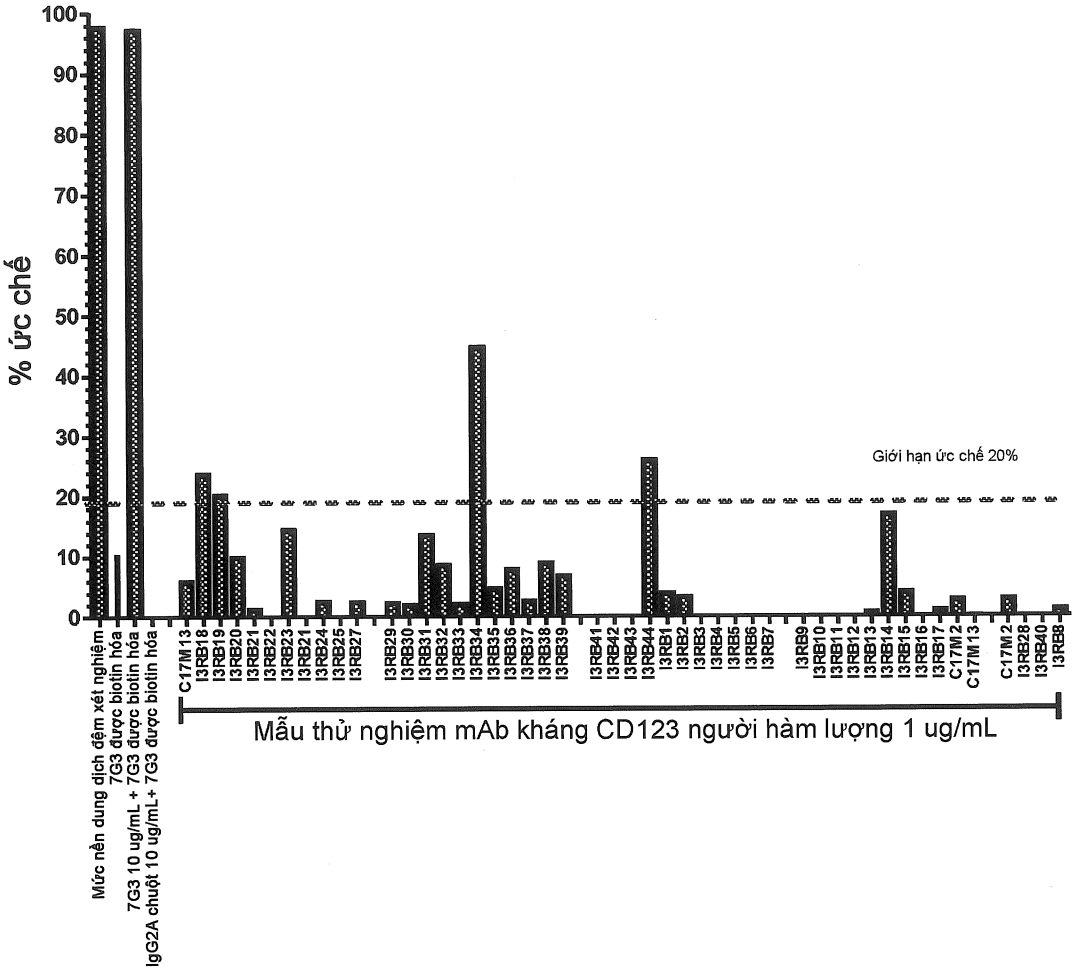
Hình 2B)


293F mẹ
293F CD123 ECD Hu SP1
293F CD123 ECD Cy SP1
293F CD123 ECD Hu SP2
300
250
200
150
100
50
40
30
20
10
0
Biến đổi gấp một số lần nền
I3RB17
I3RB18
I3RB19
I3RB20
I3RB21
I3RB22
I3RB24
I3RB25
I3RB28
I3RB29

Hình 2C)

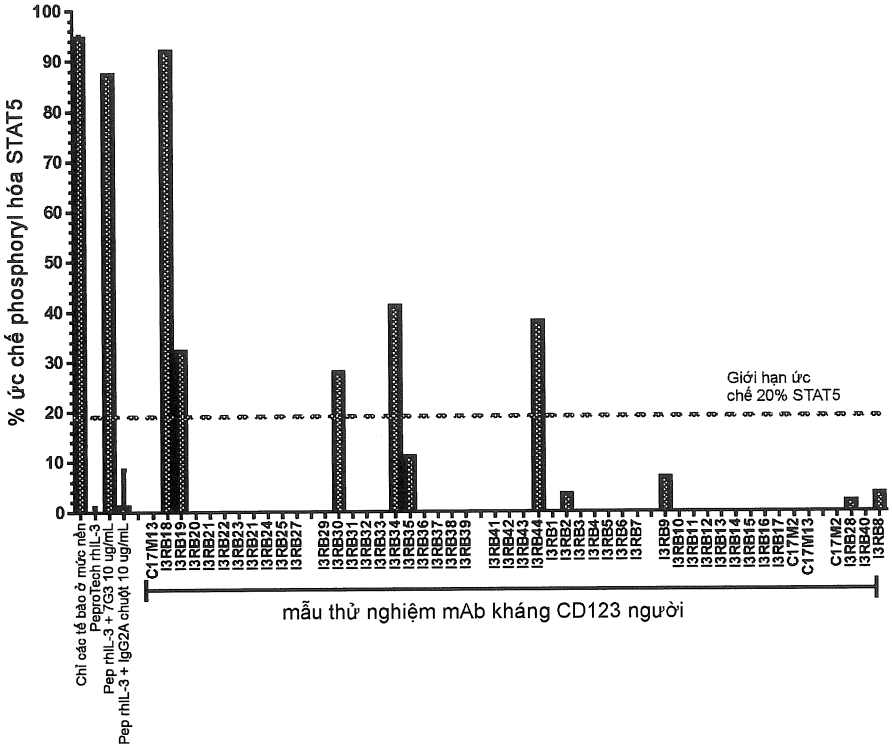

293F mẹ
293F CD123 ECD Hu SP1
293F CD123 ECD Cy SP1
293F CD123 ECD Hu SP2
400
300
200
100
60
40
20
0
Biến đổi gấp một số lần nền
I3RB30
I3RB32
I3RB35
I3RB34
I3RB33
I3RB36
I3RB37
I3RB38
I3RB40
I3RB47
7G3 10 ug/ml

Hình 3.

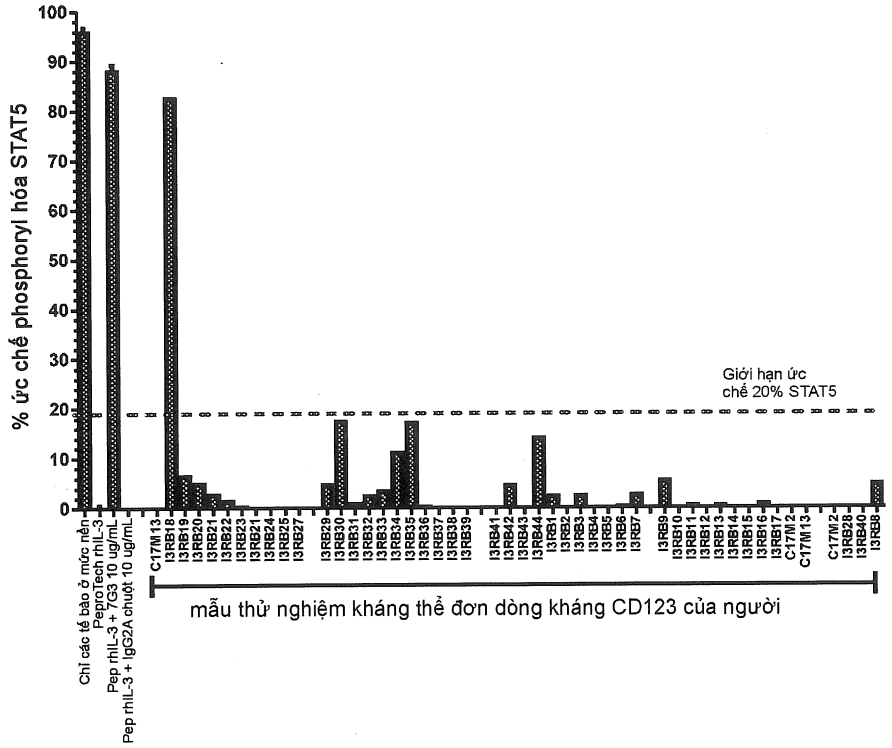

% ức chế
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
Giới hạn ức chế 20%
Mức nền dung dịch đệm xét nghiệm
7G3 được biotin hóa
7G3 10 ug/mL + 7G3 được biotin hóa
IgG2A chuột 10 ug/mL + 7G3 được biotin hóa
C17M13
I3RB18
I3RB19
I3RB20
I3RB21
I3RB22
I3RB23
I3RB21
I3RB24
I3RB25
I3RB27
I3RB29
I3RB30
I3RB31
I3RB32
I3RB33
I3RB34
I3RB35
I3RB36
I3RB37
I3RB38
I3RB39
I3RB41
I3RB42
I3RB43
I3RB44
I3RB1
I3RB2
I3RB3
I3RB4
I3RB5
I3RB6
I3RB7
I3RB9
I3RB10
I3RB11
I3RB12
I3RB13
I3RB14
I3RB15
I3RB16
I3RB17
C17M2
C17M13
C17M2
I3RB28
I3RB40
I3RB8
Mẫu thử nghiệm mAb kháng CD123 người hàm lượng 1 ug/mL

Hình 4.

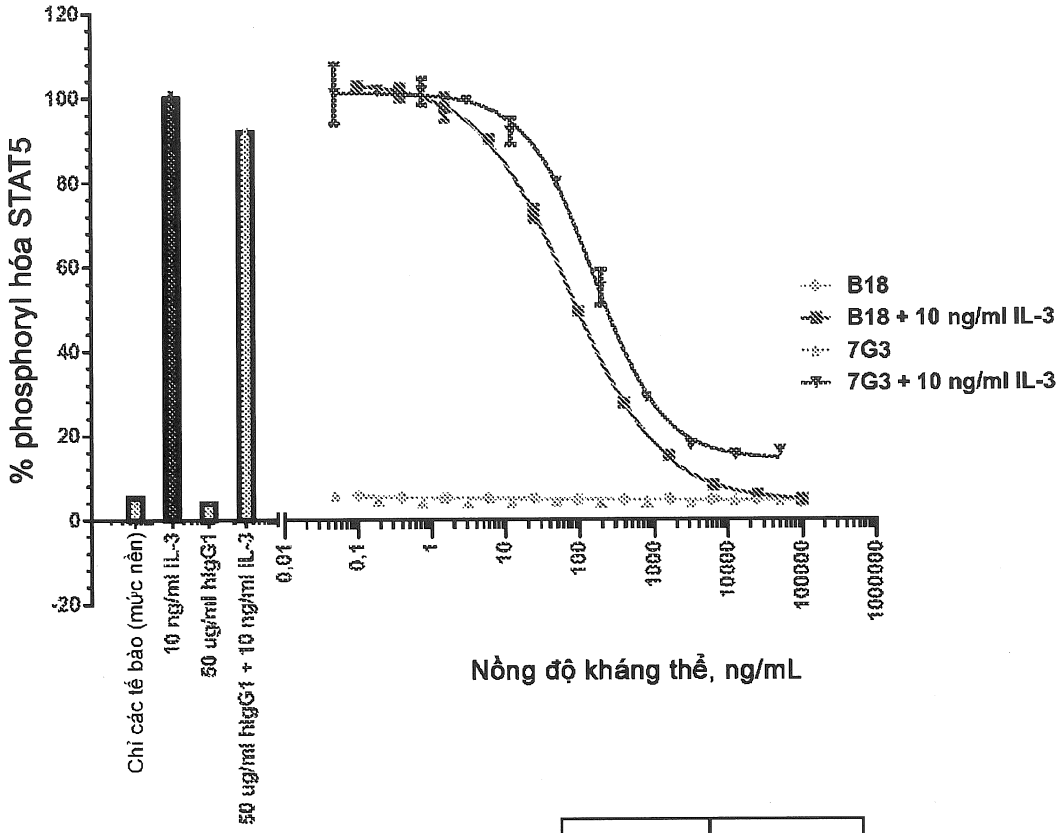
A) (Vừa đủ)



B) (1 ug/mL)

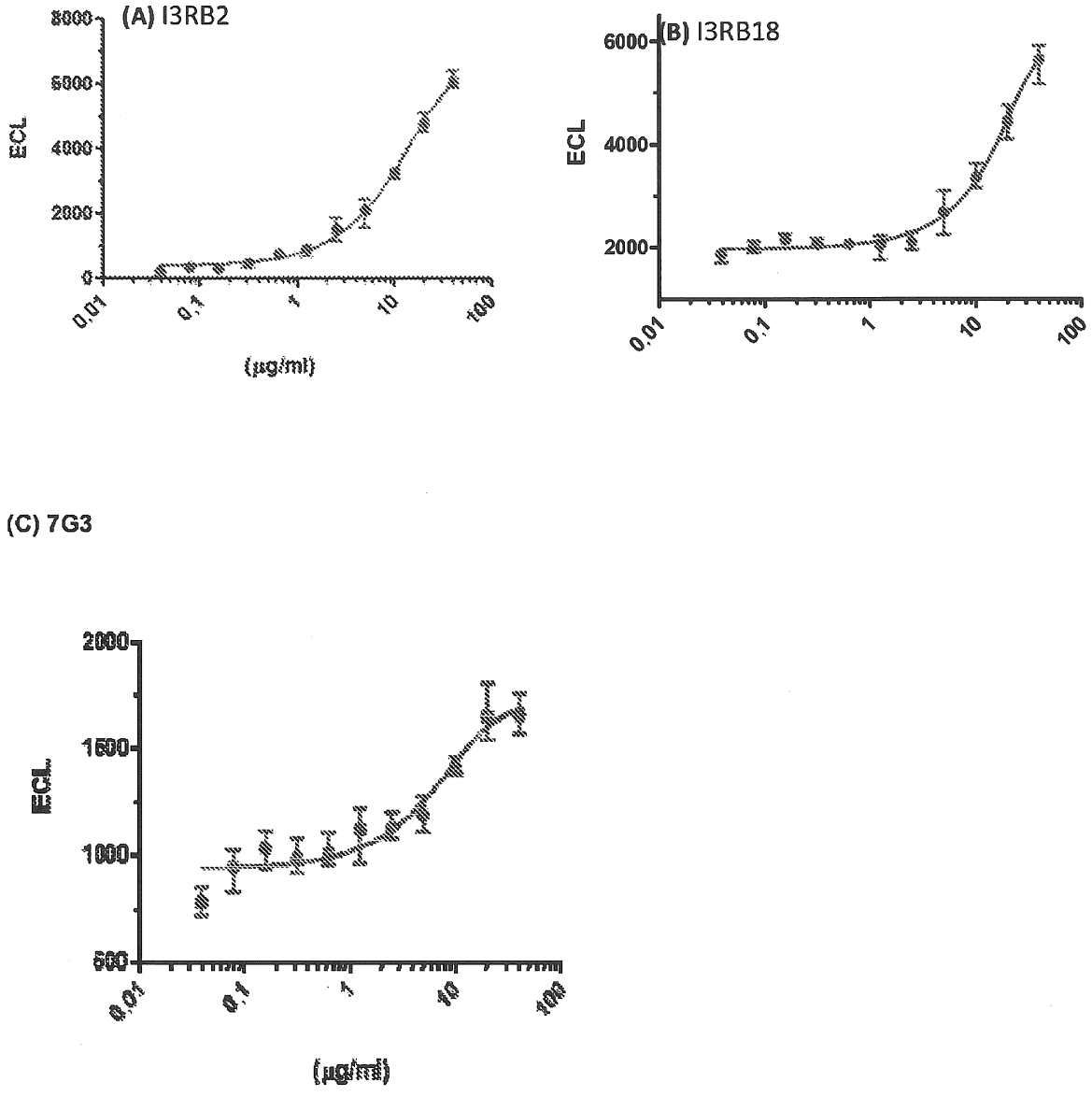


C) Phụ thuộc liều



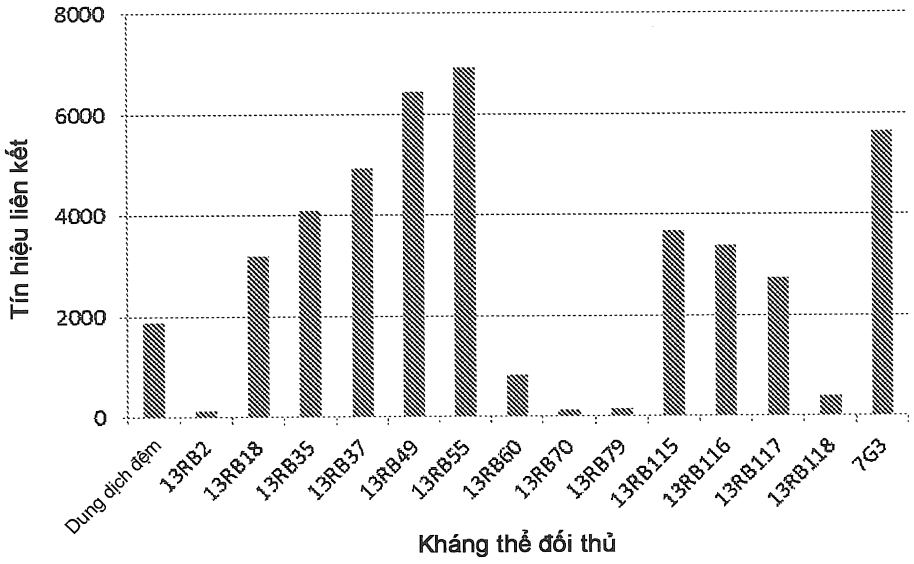
	B18 + IL-3	7G3 + IL-3
IC_{50}, ng/ml	75,39	160,3

Hình 5.

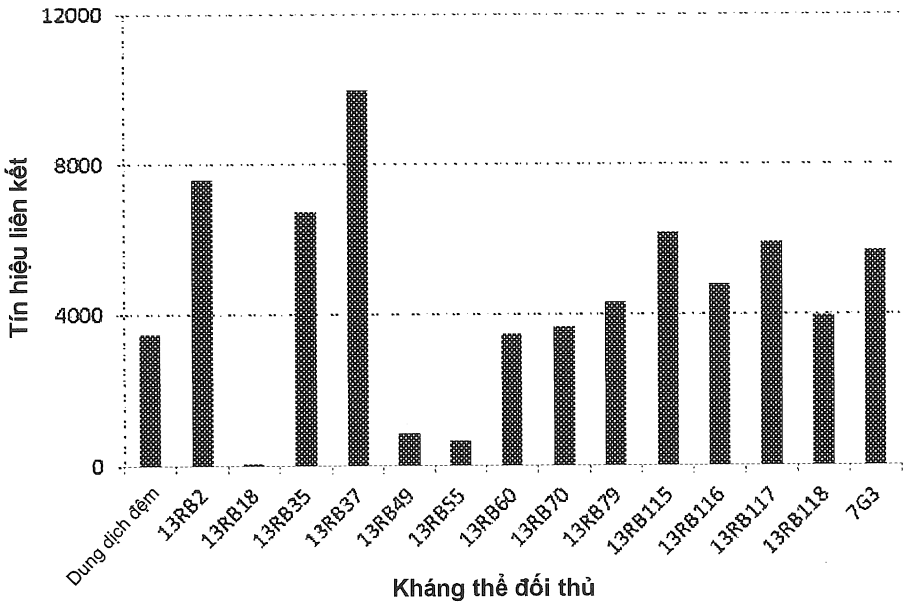

(A) I3RB2
ECL
8000
6000
4000
2000
0
0,01
0,1
1
10
100
(µg/ml)
(B) I3RB18
ECL
6000
4000
2000
0,01
0,1
1
10
100
(C) 7G3
ECL
2000
1500
1000
500
0,01
0,1
1
10
100
(µg/ml)

Hình 6.

A) I3RB2 được gắn nhãn ruteni

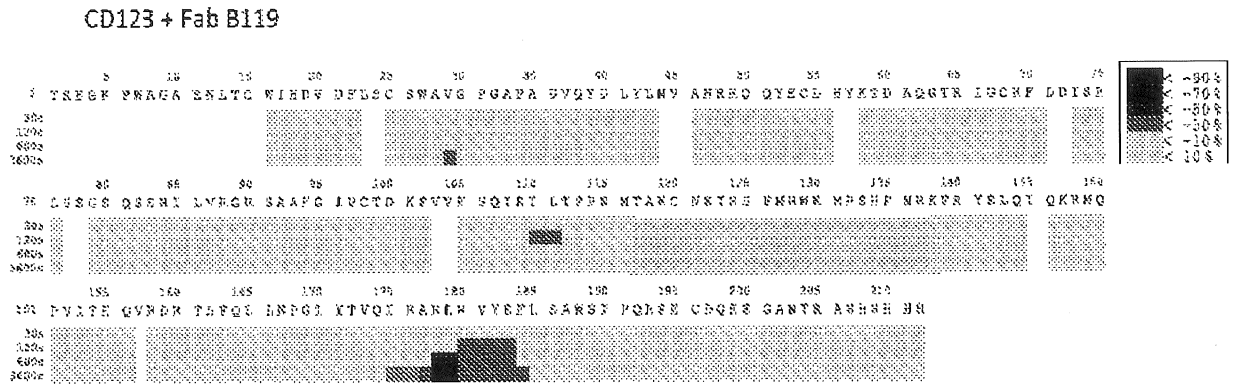


B) I3RB18 được gắn nhãn ruteni



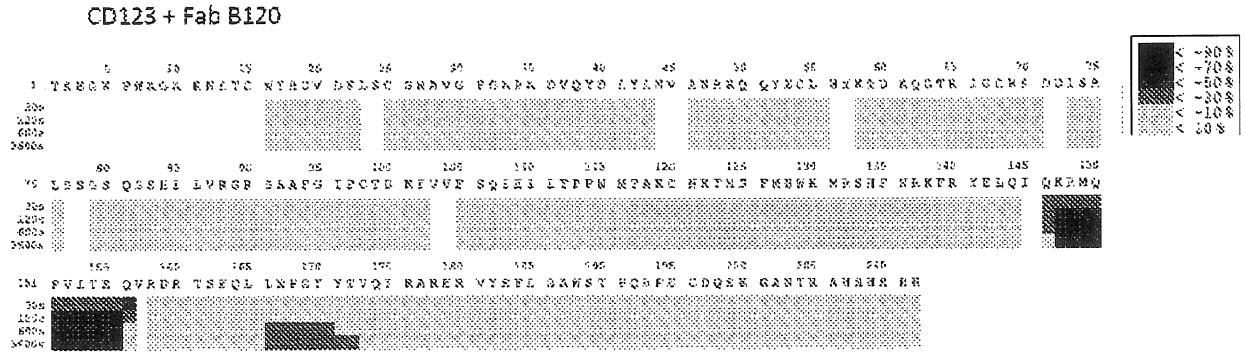
Hình 7.

A)



Đánh số bắt đầu tại axit amin 19 của SP2

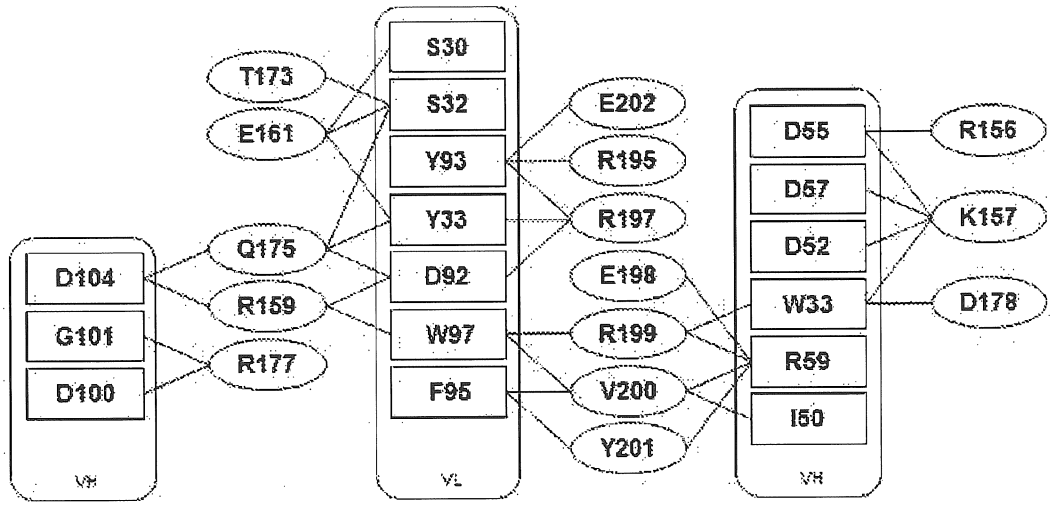
B)



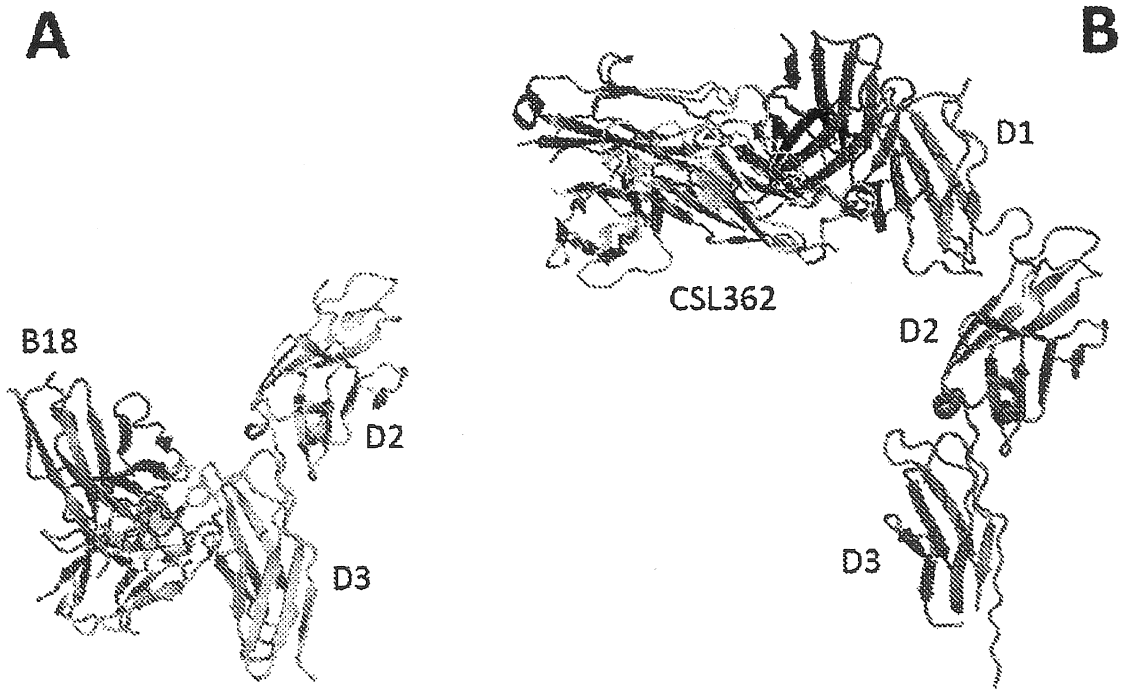
Đánh số bắt đầu tại axit amin 19 của SP2

Hình 8.

Đánh số: các hình bầu dục chỉ các gốc CD123 SP2, các hình chữ nhật chỉ các gốc có SỐ ID TRÌNH TỰ:230



Hình 9.



Hình 10.

Chuỗi nhẹ (SỐ ID TRÌNH TỰ:4)

```
        10        20        30        40        50        60
    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |
QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNKRAPGV

        70        80        90        100       110       120
    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |
PARFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKSSPSVTL

        130       140       150       160       170       180
    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |
FPPSSEELETNKATLVCTITDFYPGVVTVDWKVDGTPVTQGMETTQPSKQSNNKYMASSY

        190       200       210
    .   |    .   |    .   |    .
LTLTARAWERHSSYSCQVTHEGHTVEKSLSRADCS
```

Chuỗi nặng (SỐ ID TRÌNH TỰ:5)

```
        10        20        30        40        50        60
    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |
EVKLLESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT

        70        80        90        100       110       120
    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |
YYADSVKDRFTISRDDSQSILYLQMNNLKTEDTAMYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTL

        130       140       150       160       170       180
    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |
VTVSAATTTAPSVYPLVPGCSDTSGSSVTLGCLVKGYFPEPVTVKWNYGALSSGVRTVSS

        190       200       210       220       230       240
    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |
VLQSAFYSLSSLVTVPSSTWPSQTVICNVAHPASKTELIKRIEPRIPKPSTPPGSSCPPG

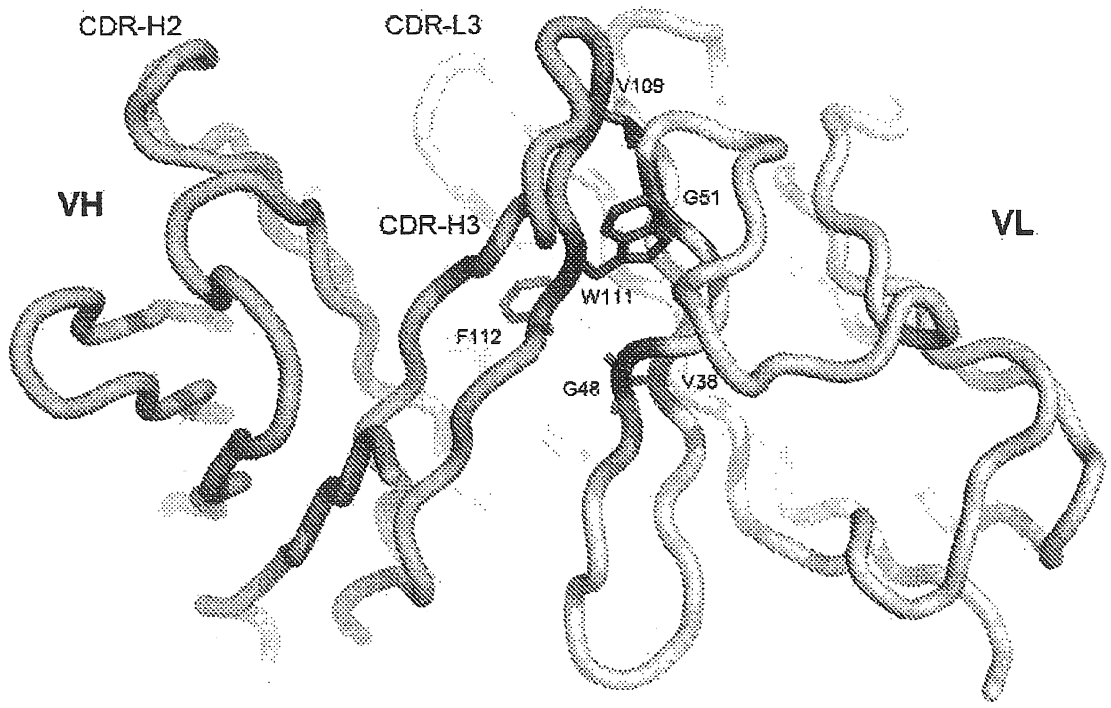
        250       260       270       280       290       300
    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |
NILGGPSVFIFPPKPKDALMISLTPKVTCVVVDVSEDDPDVHVSWFVDNKEVHTAWTQPR

        310       320       330       340       350       360
    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |
EAQYNSTFRVVSALPIQHQDWMRGKEFKCKVNNKALPAPIERTISKPKGRAQTPQVYTIP

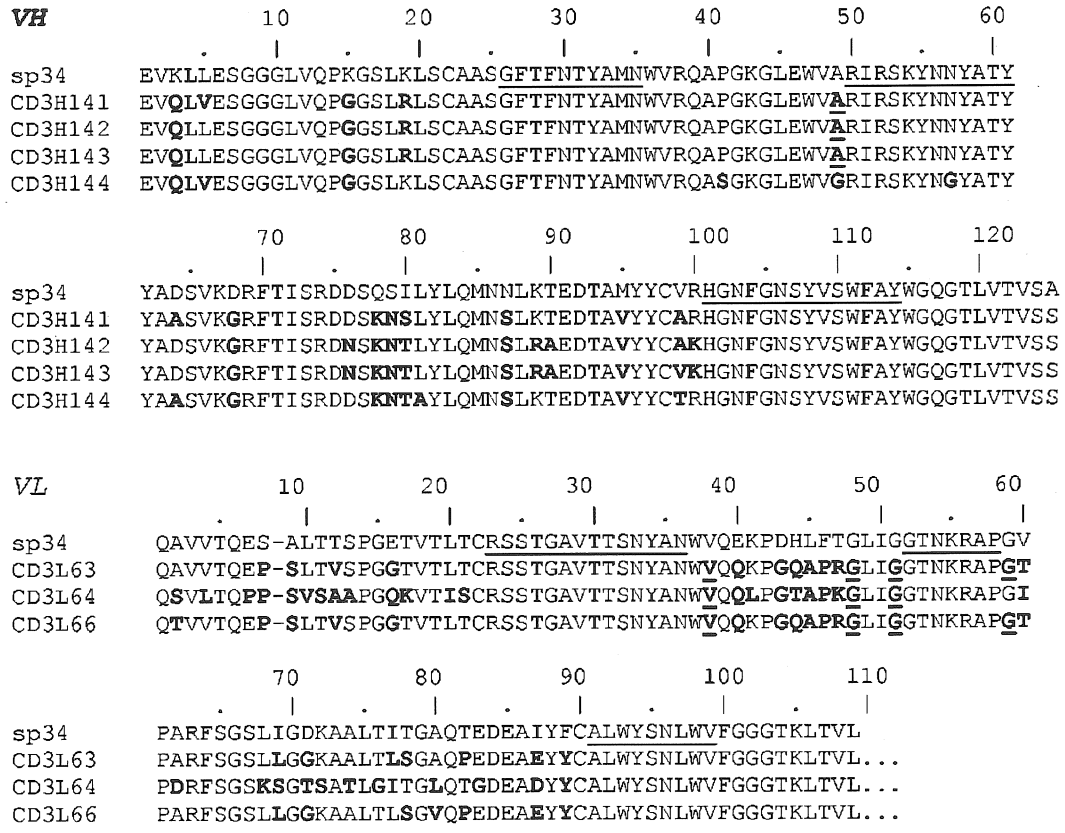
        370       380       390       400       410       420
    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |    .   |
PPREQMSKKKVSLTCLVTNFFSEAISVEWERNGELEQDYKNTPPILDSDGTYFLYSKLTV

        430       440       450
    .   |    .   |    .   |    .
DTDSWLQGEIFTCSVVHEALHNHHTQKNLSRSPGK
```

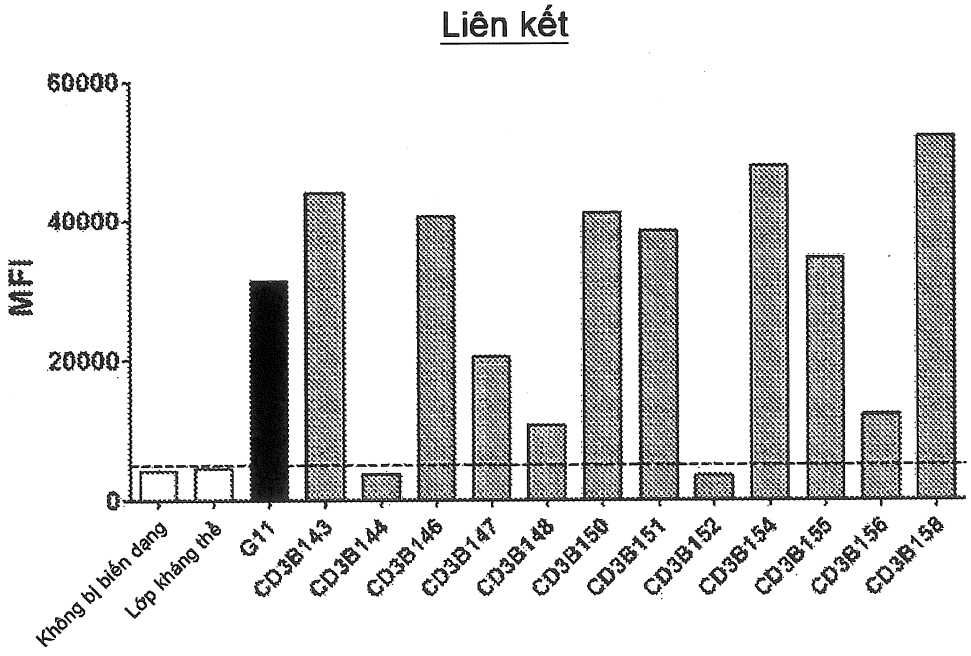
Hình 11.



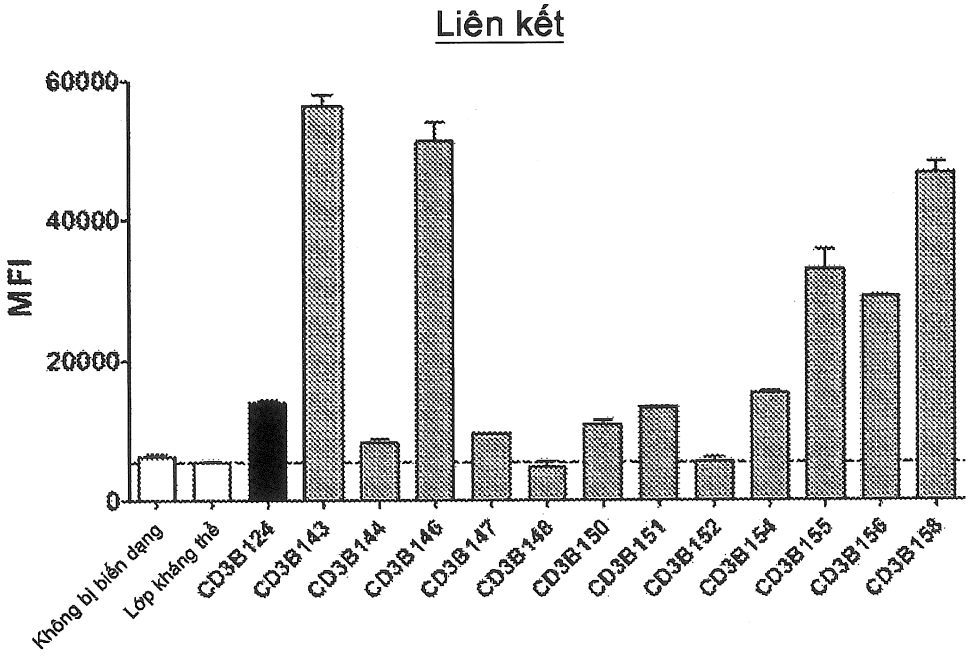
Hình 12.


VH
10 20 30 40 50 60
sp34 EVKLLESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATY
CD3H141 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATY
CD3H142 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATY
CD3H143 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATY
CD3H144 EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQASGKGLEWVGRIRSKYNGYATY
70 80 90 100 110 120
sp34 YADSVKDRFTISRDDSQSILYLQMNNLKTEDTAMYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSA
CD3H141 YAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS
CD3H142 YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS
CD3H143 YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS
CD3H144 YAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS
VL
10 20 30 40 50 60
sp34 QAVVTQES-ALTTSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNKRAPGV
CD3L63 QAVVTQEP-SLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT
CD3L64 QSVLTQPP-SVSAAPGQKVTISCRSSTGAVTTSNYANWVQQLPGTAPKGLIGGTNKRAPGI
CD3L66 QTVVTQEP-SLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT
70 80 90 100 110
sp34 PARFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNLWVFGGGTKLTVL
CD3L63 PARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL...
CD3L64 PDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL...
CD3L66 PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL...

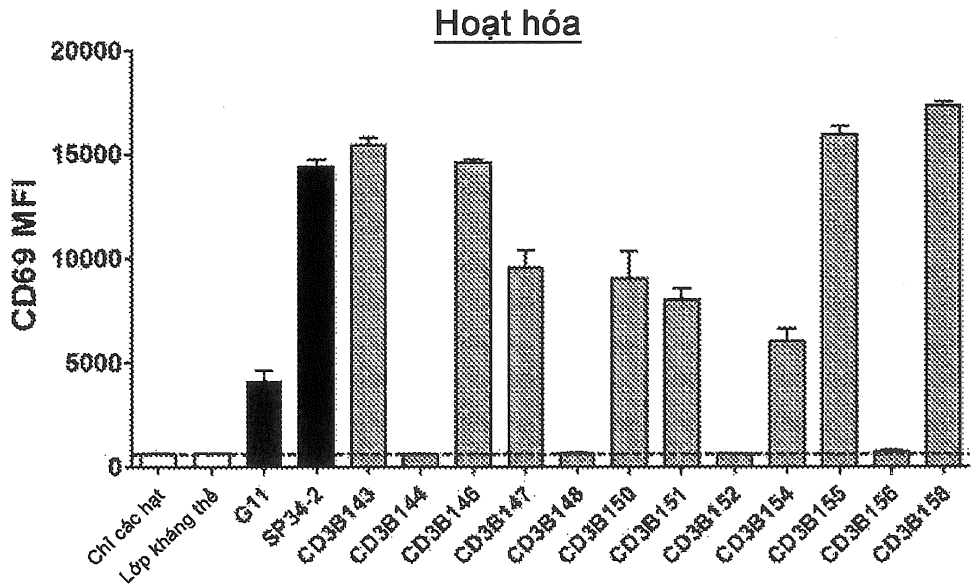
Hình 13.


Liên kết
60000
40000
20000
0
MFI
Không bị biến dạng
Lớp kháng thể
G11
CD3B143
CD3B144
CD3B146
CD3B147
CD3B148
CD3B150
CD3B151
CD3B152
CD3B154
CD3B155
CD3B156
CD3B158

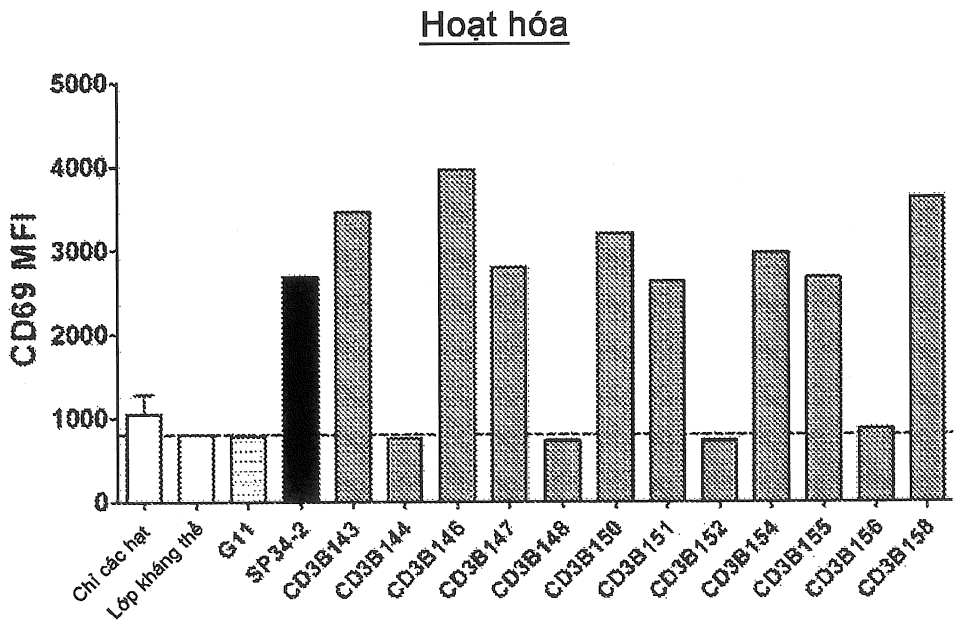
Hình 14.


Liên kết
60000
40000
20000
0
MFI
Không bị biến dạng
Lớp kháng thể
CD3B124
CD3B143
CD3B144
CD3B146
CD3B147
CD3B148
CD3B150
CD3B151
CD3B152
CD3B154
CD3B155
CD3B156
CD3B158

Hình 15.

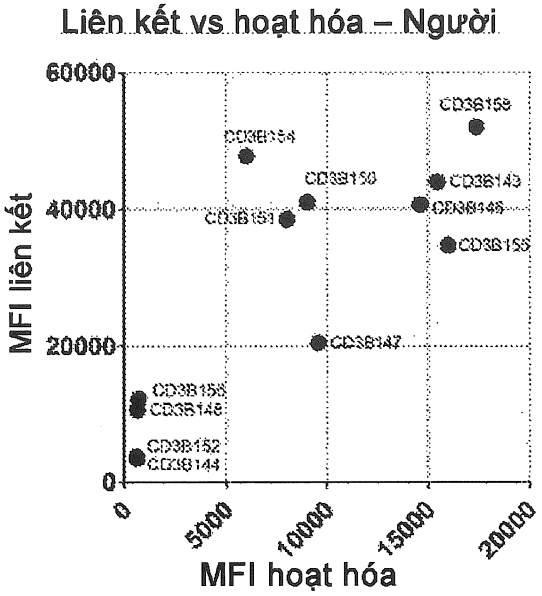

Hoạt hóa
CD69 MFI
20000
15000
10000
5000
0
Chỉ các hạt
Lớp kháng thể
G11
SP34-2
CD3B143
CD3B144
CD3B146
CD3B147
CD3B148
CD3B150
CD3B151
CD3B152
CD3B154
CD3B155
CD3B156
CD3B158

Hình 16.

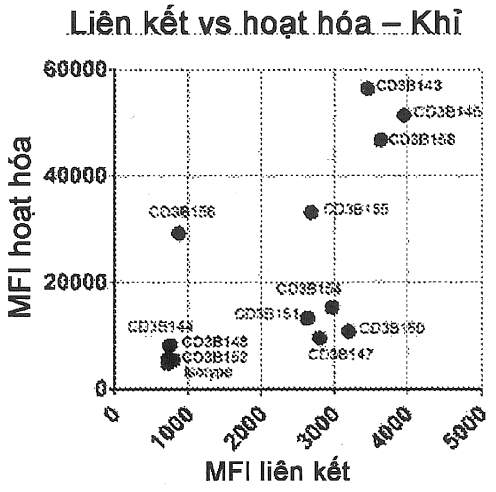

Hoạt hóa
CD69 MFI
5000
4000
3000
2000
1000
0
Chỉ các hạt
Lớp kháng thể
G1t
SP34-2
CD3B143
CD3B144
CD3B146
CD3B147
CD3B148
CD3B150
CD3B151
CD3B152
CD3B154
CD3B155
CD3B156
CD3B158

Hình 17.

A) Người

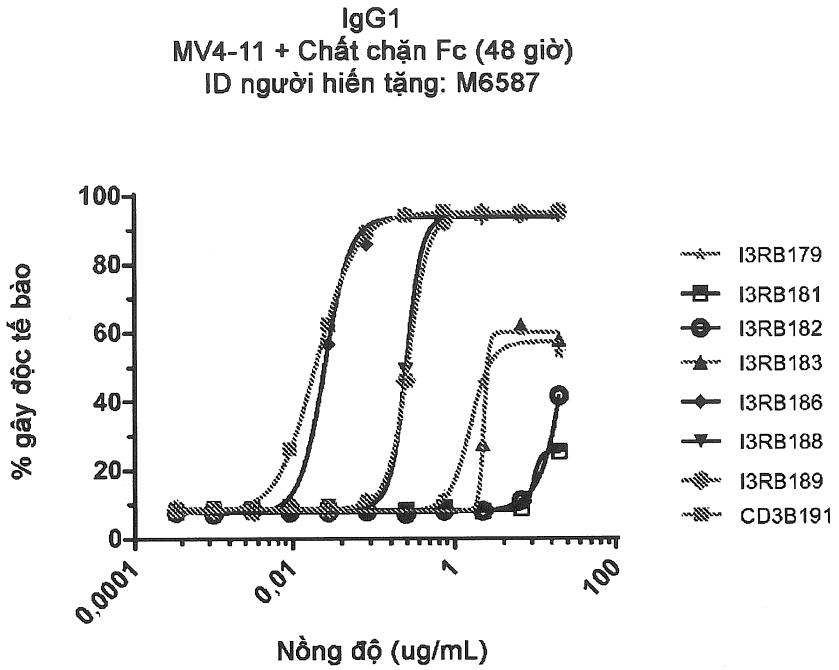


B) Khỉ đuôi dài

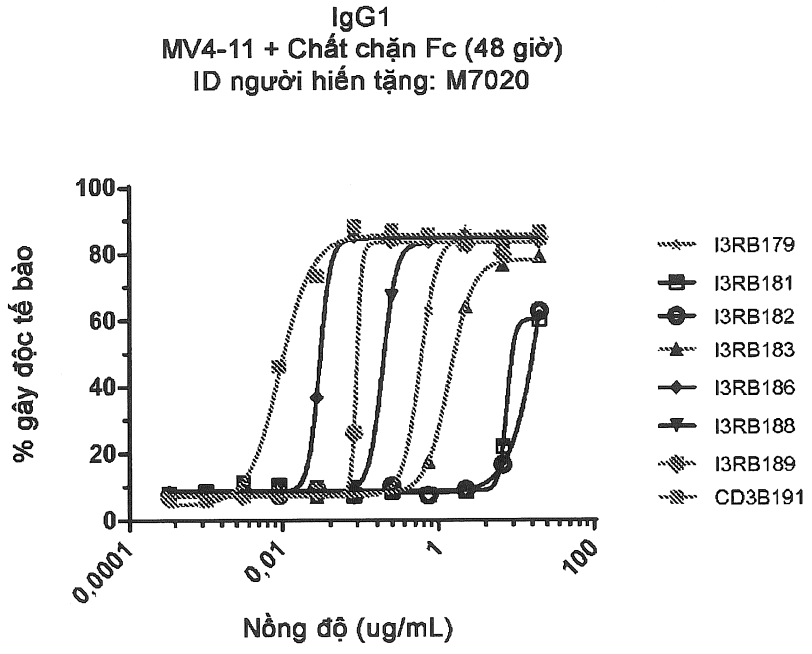


Hình 18.

A) MV4-11, người hiến tặng M6587

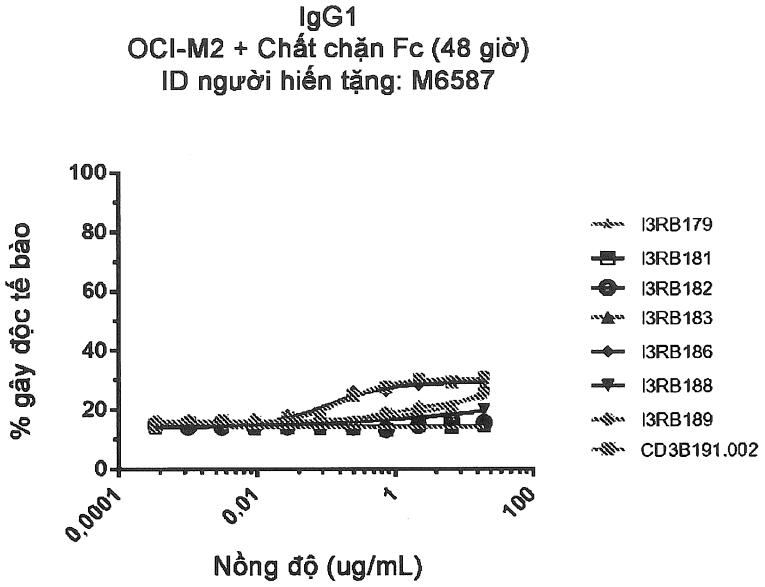


B) MV4-11, người hiến tặng M7020

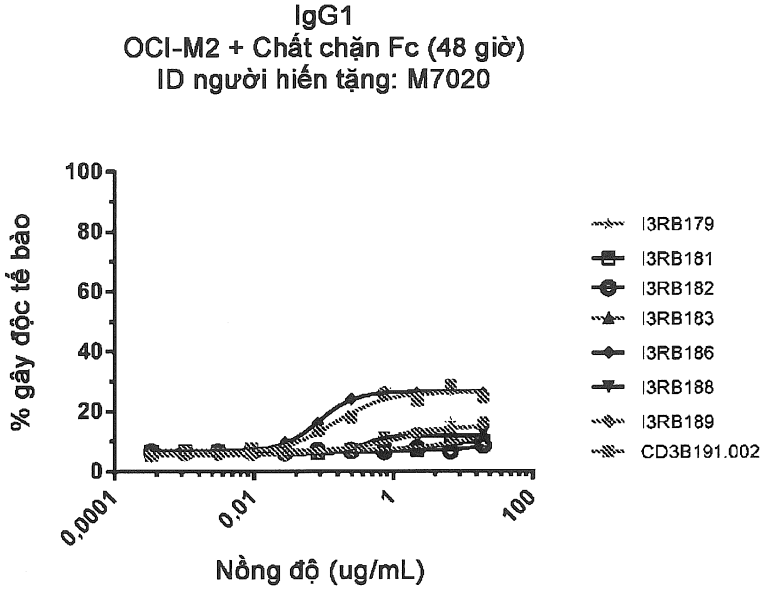


Hình 19.

A) OCI-M2, người hiến tặng M6587

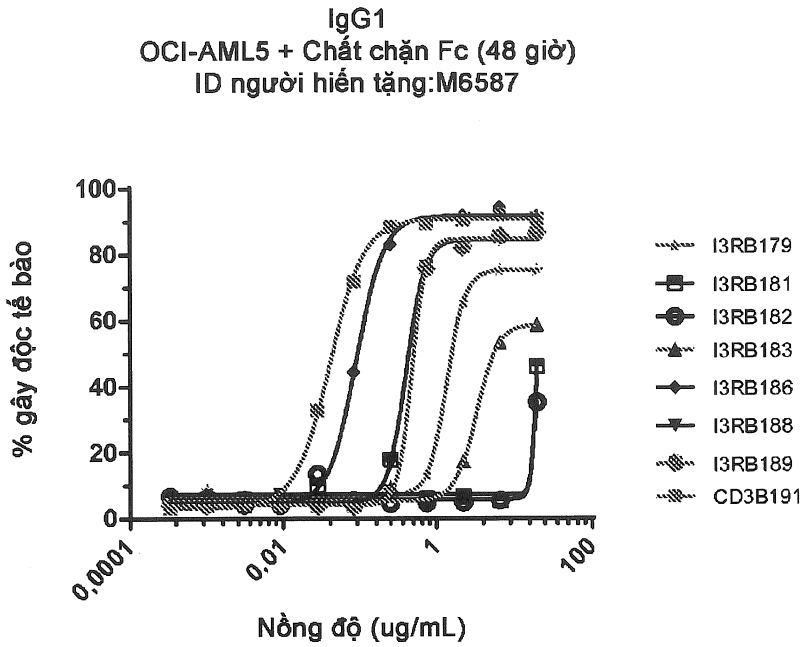


B) OCI-M2, người hiến tặng M7020

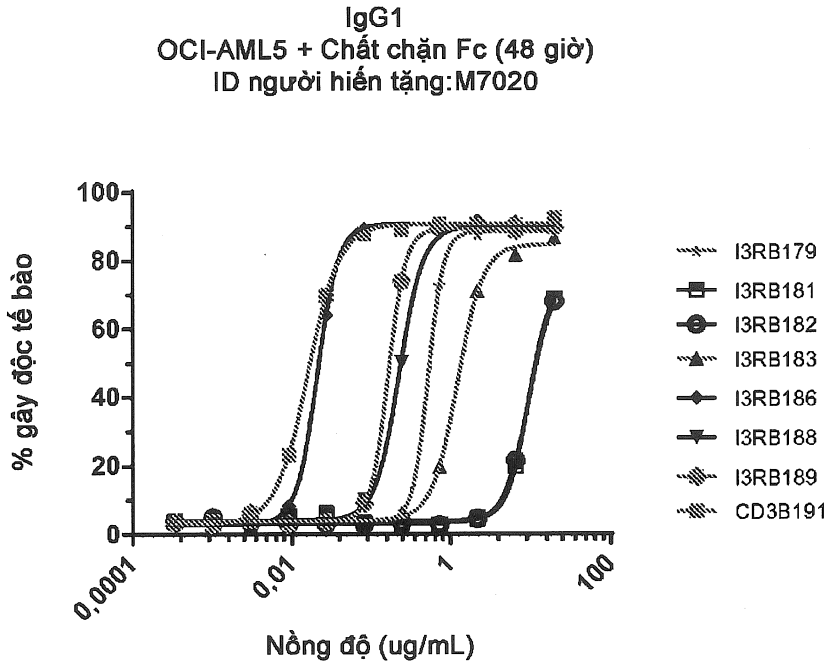


Hình 20.

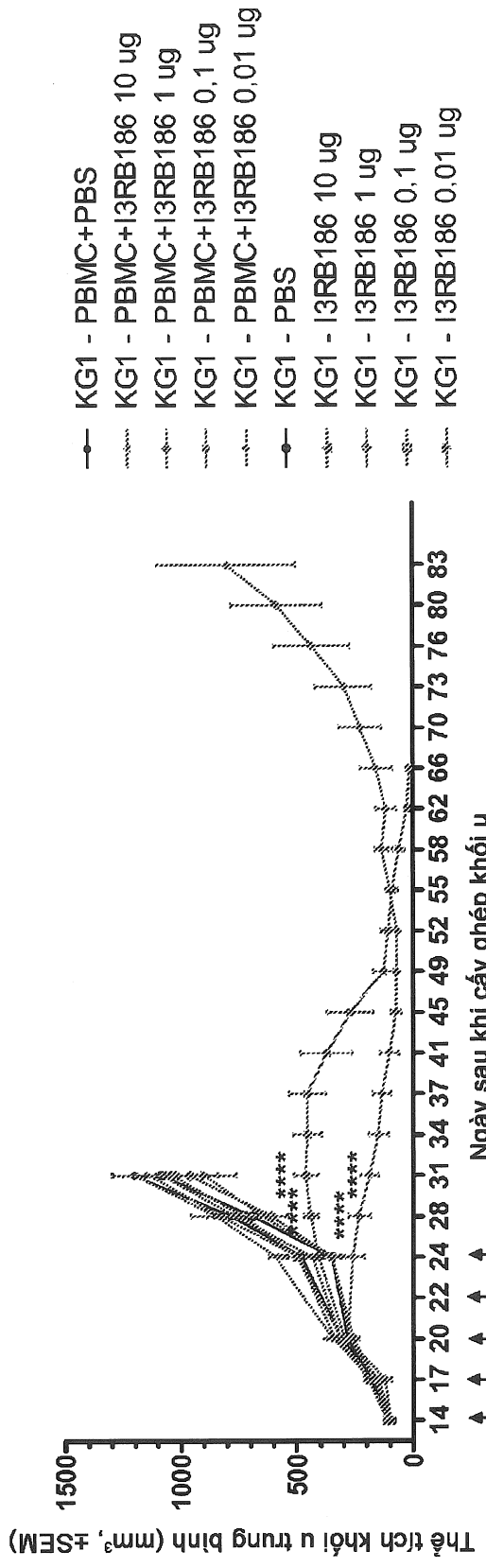
A) Dòng tế bào OCI-AML, người hiến tặng M6587



B) Dòng tế bào OCI-AML, người hiến tặng 7020

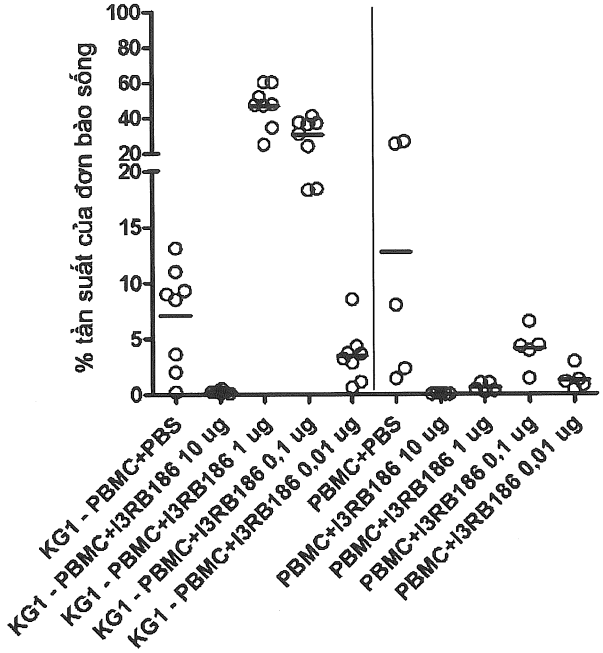


Hình 21.

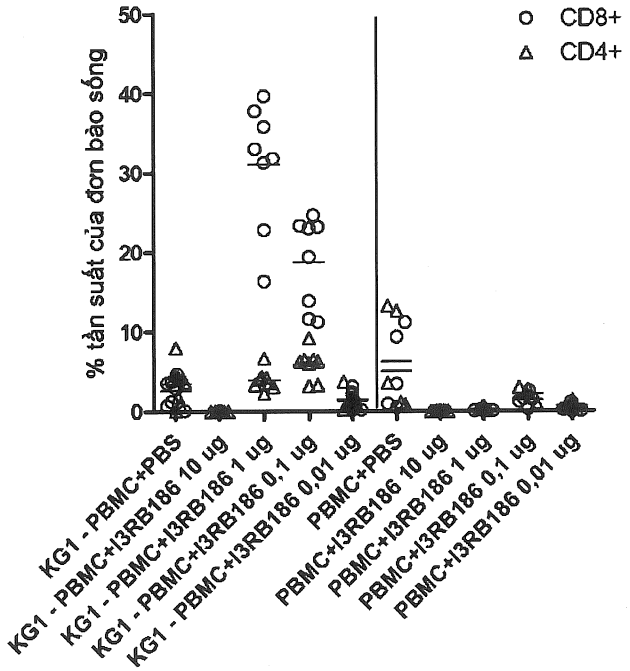

KG1 - PBMC+PBS
KG1 - PBMC+I3RB186 10 ug
KG1 - PBMC+I3RB186 1 ug
KG1 - PBMC+I3RB186 0,1 ug
KG1 - PBMC+I3RB186 0,01 ug
KG1 - PBS
KG1 - I3RB186 10 ug
KG1 - I3RB186 1 ug
KG1 - I3RB186 0,1 ug
KG1 - I3RB186 0,01 ug
Thể tích khối u trung bình (mm³, ±SEM)
1500
1000
500
0
14 17 20 22 24 28 31 34 37 41 45 49 52 55 58 62 66 70 73 76 80 83
Ngày sau khi cấy ghép khối u
****
***
****
****

Hình 22.

A) CD45+

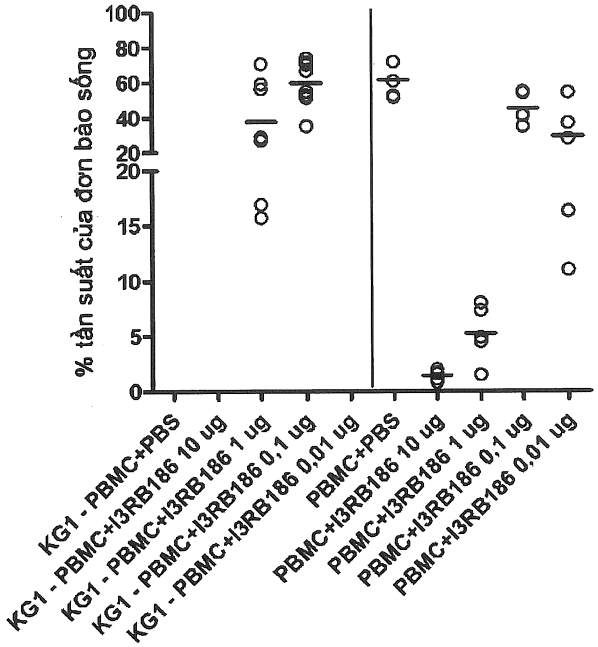


B) CD8+/CD4+

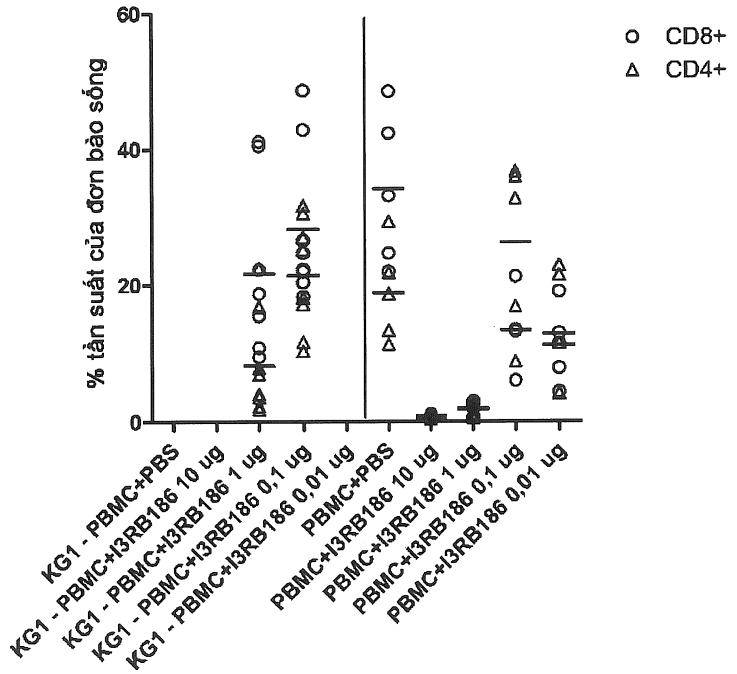


Hình 23.

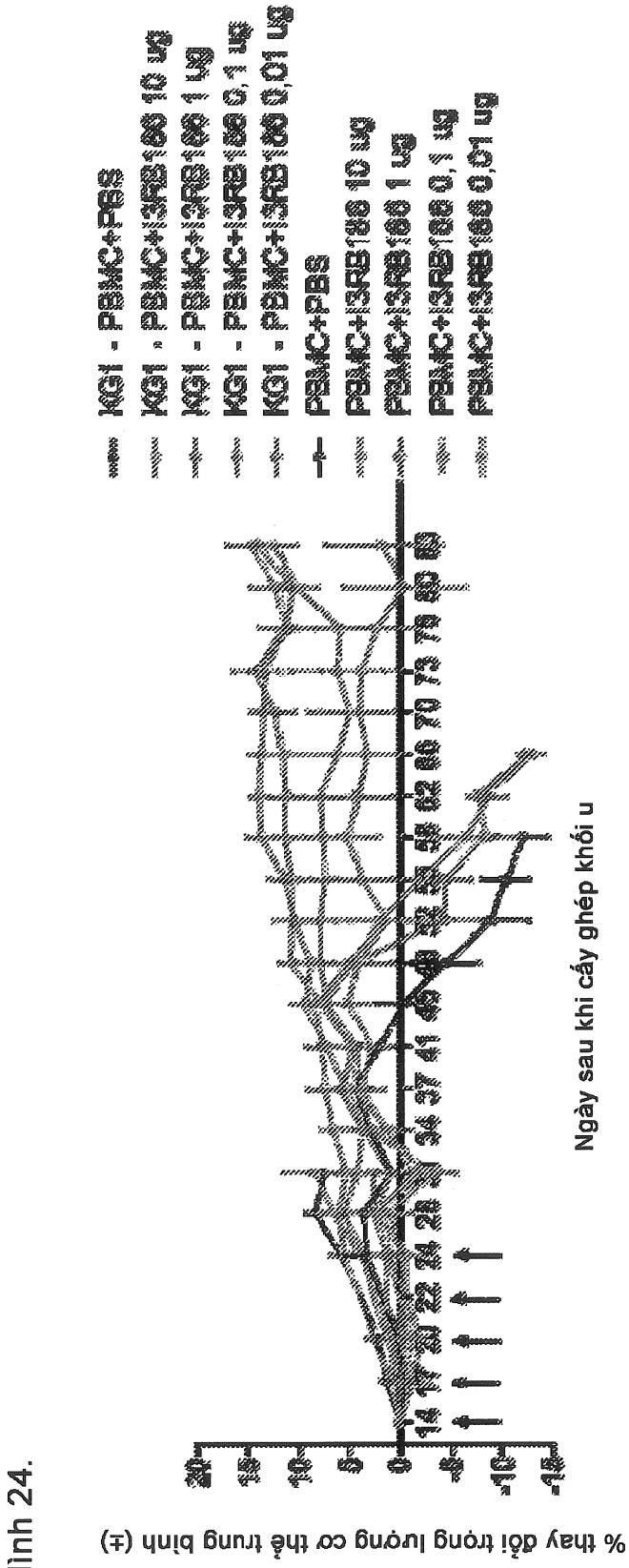
A)CD45+



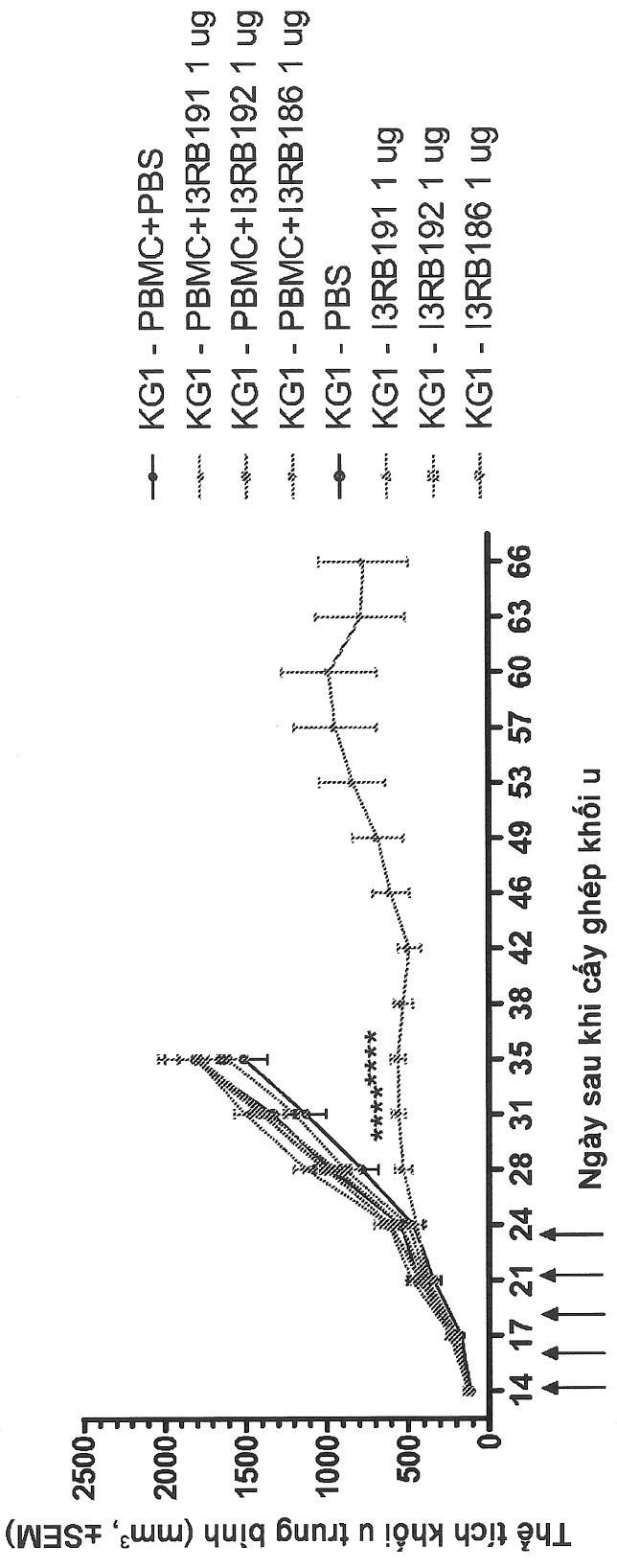
B)CD8+/CD4+



Hình 24.

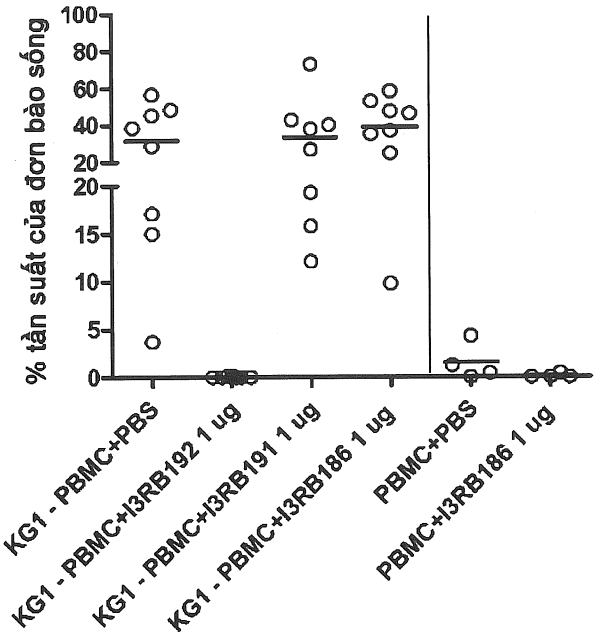

KG1 - PBMC+PBS
KG1 - PBMC+i3RB1#8 10 ug
KG1 - PBMC+i3RB1#8 1 ug
KG1 - PBMC+i3RB1#8 0,1 ug
KG1 - PBMC+i3RB1#8 0,01 ug
PBMC+PBS
PBMC+i3RB1#8 10 ug
PBMC+i3RB1#8 1 ug
PBMC+i3RB1#8 0,1 ug
PBMC+i3RB1#8 0,01 ug
% thay đổi trọng lượng cơ thể trung bình (±)
Ngày sau khi cấy ghép khối u

Hình 25.

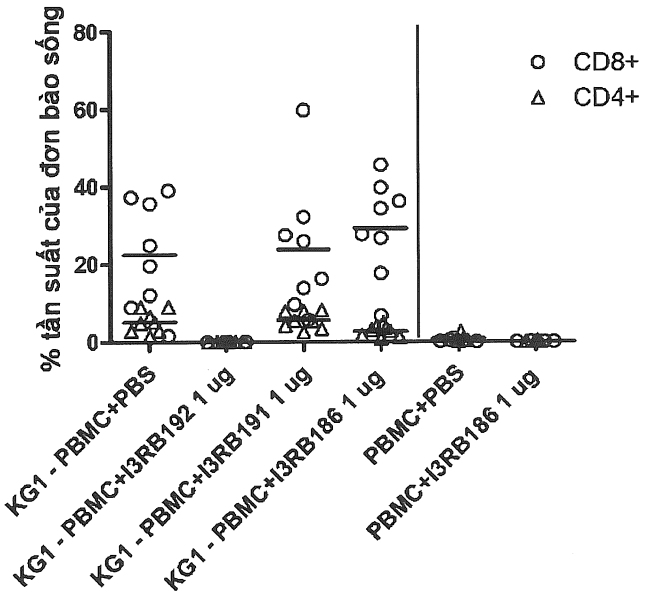

KG1 - PBMC+PBS
KG1 - PBMC+I3RB191 1 ug
KG1 - PBMC+I3RB192 1 ug
KG1 - PBMC+I3RB186 1 ug
KG1 - PBS
KG1 - I3RB191 1 ug
KG1 - I3RB192 1 ug
KG1 - I3RB186 1 ug
Thể tích khối u trung bình (mm³, ±SEM)
2500
2000
1500
1000
500
0
14 17 21 24 28 31 35 38 42 46 49 53 57 60 63 66
Ngày sau khi cấy ghép khối u
*****

Hình 26.

A. CD45 +

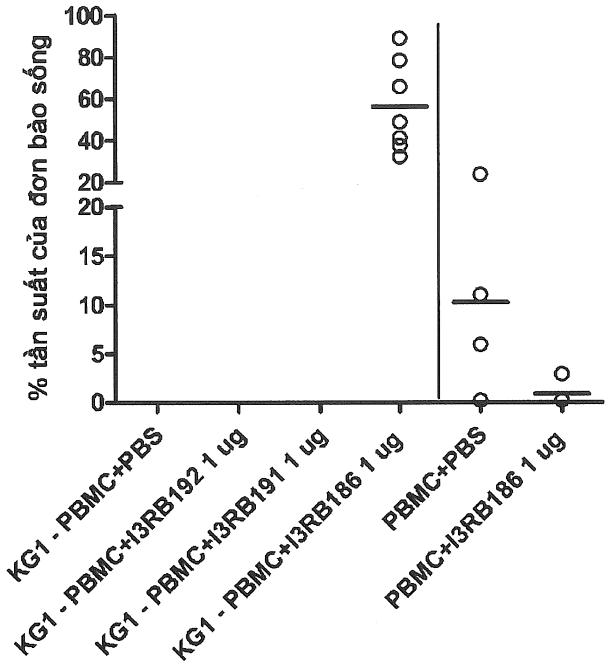


B. CD8+/CD4+

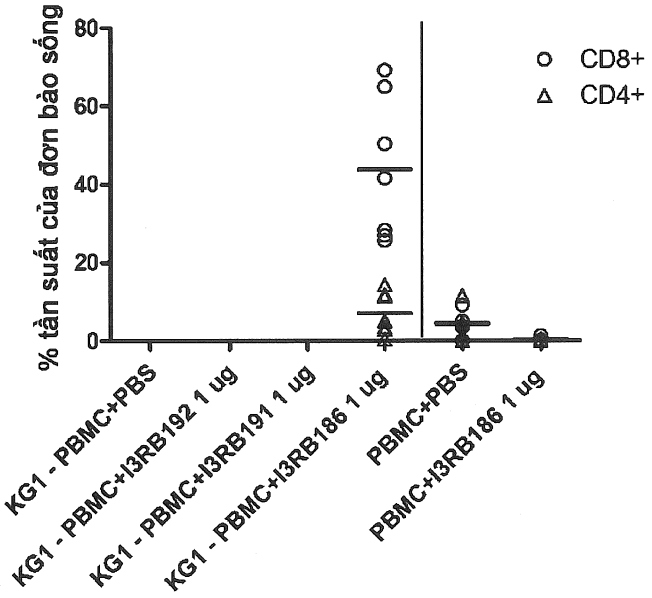


Hình 27.

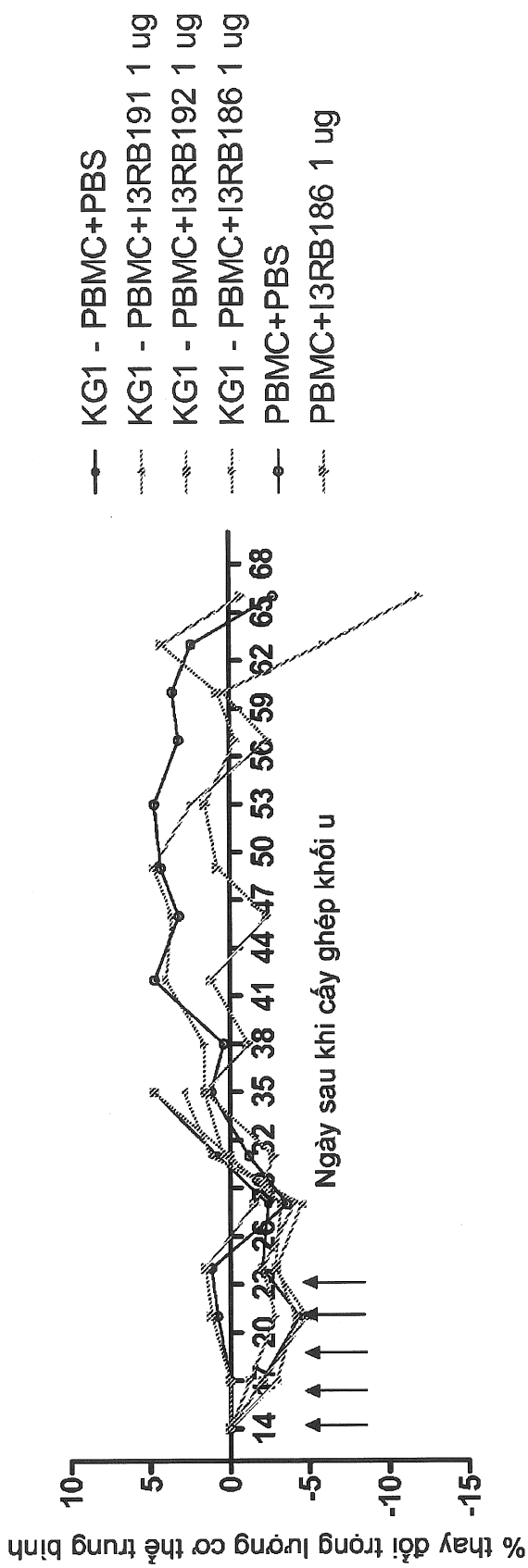
A) CD45 +



B) CD8+/CD4+

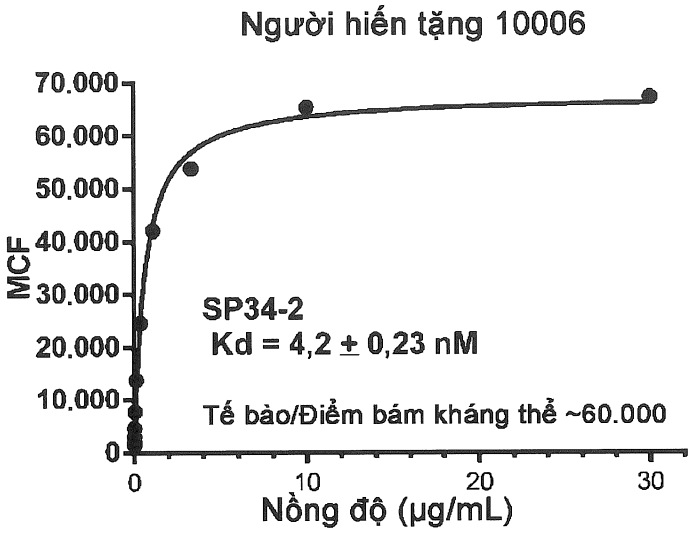


Hình 28.

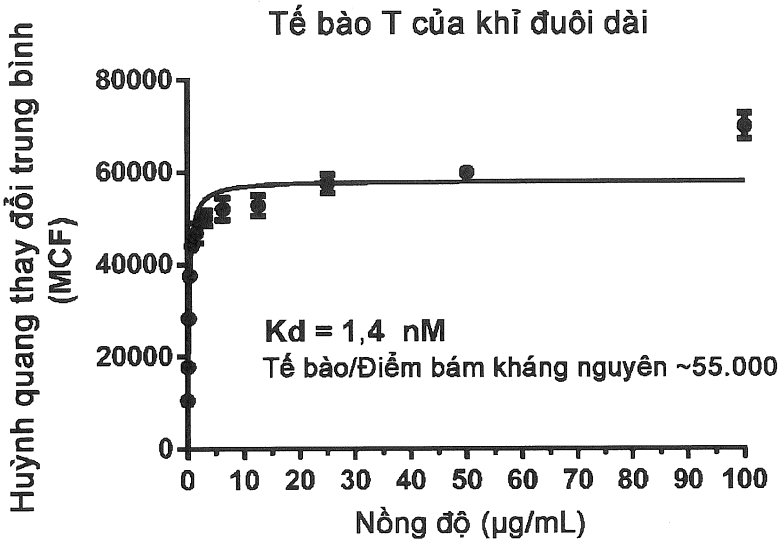

KG1 - PBMC+PBS
KG1 - PBMC+I3RB191 1 ug
KG1 - PBMC+I3RB192 1 ug
KG1 - PBMC+I3RB186 1 ug
PBMC+PBS
PBMC+I3RB186 1 ug
% thay đổi trọng lượng cơ thể trung bình
10
5
0
-5
-10
-15
14
17
20
23
26
29
32
35
38
41
44
47
50
53
56
59
62
65
68
Ngày sau khi cấy ghép khối u

Hình 29.

A)

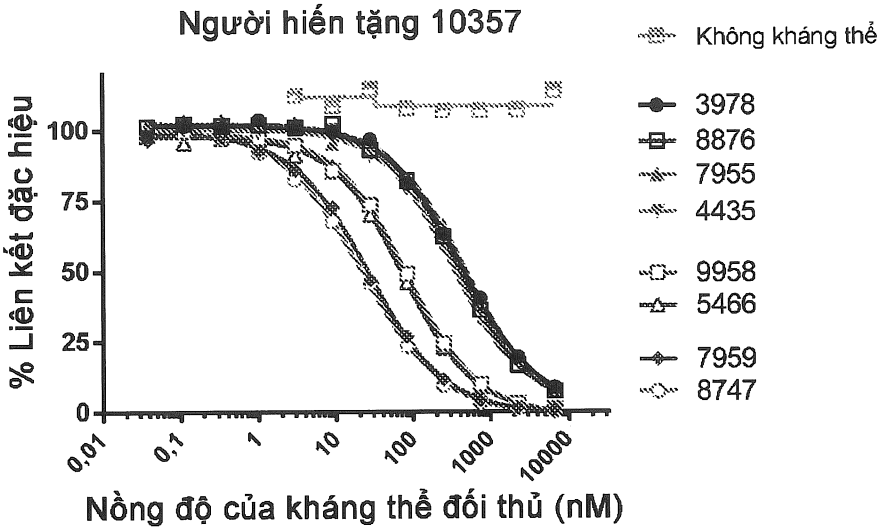

Người hiến tặng 10006
MCF
70.000
60.000
50.000
40.000
30.000
20.000
10.000
0
SP34-2
Kd = 4,2 ± 0,23 nM
Tế bào/Điểm bám kháng thể ~60.000
0
10
20
30
Nồng độ (µg/mL)

B)

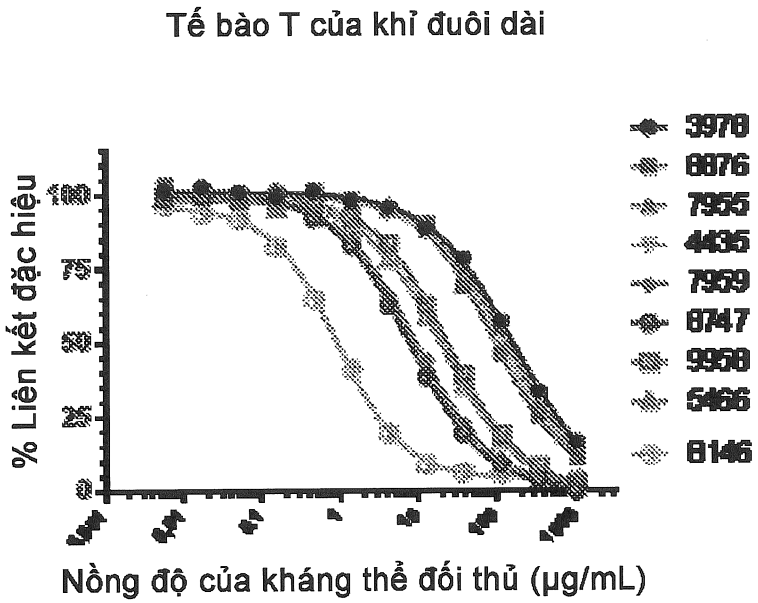

Tế bào T của khỉ đuôi dài
Huỳnh quang thay đổi trung bình (MCF)
80000
60000
40000
20000
0
Kd = 1,4 nM
Tế bào/Điểm bám kháng nguyên ~55.000
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
Nồng độ (µg/mL)

Hình 30.

A)

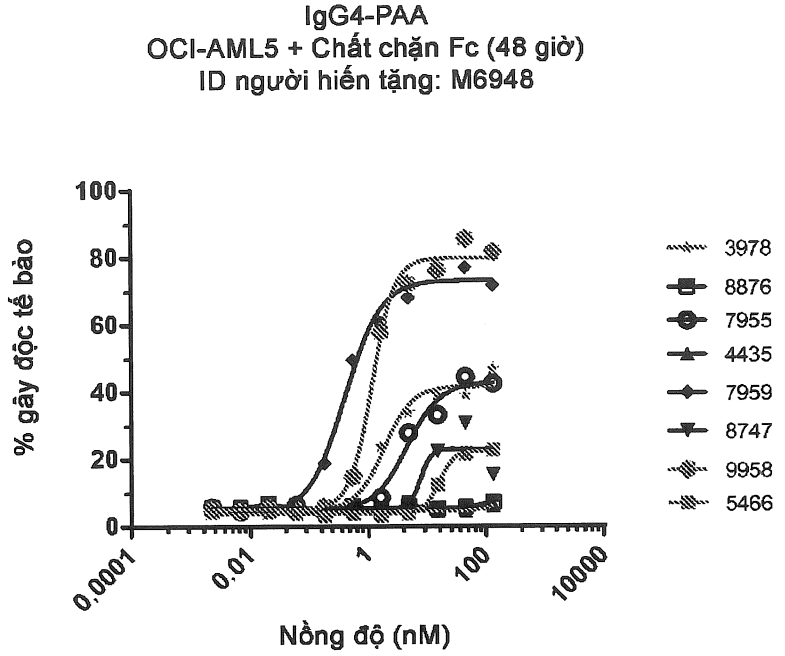

Người hiến tặng 10357
Không kháng thể
3978
8876
7955
4435
9958
5466
7959
8747
% Liên kết đặc hiệu
100
75
50
25
0
0,01
0,1
1
10
100
1000
10000
Nồng độ của kháng thể đối thủ (nM)

B)

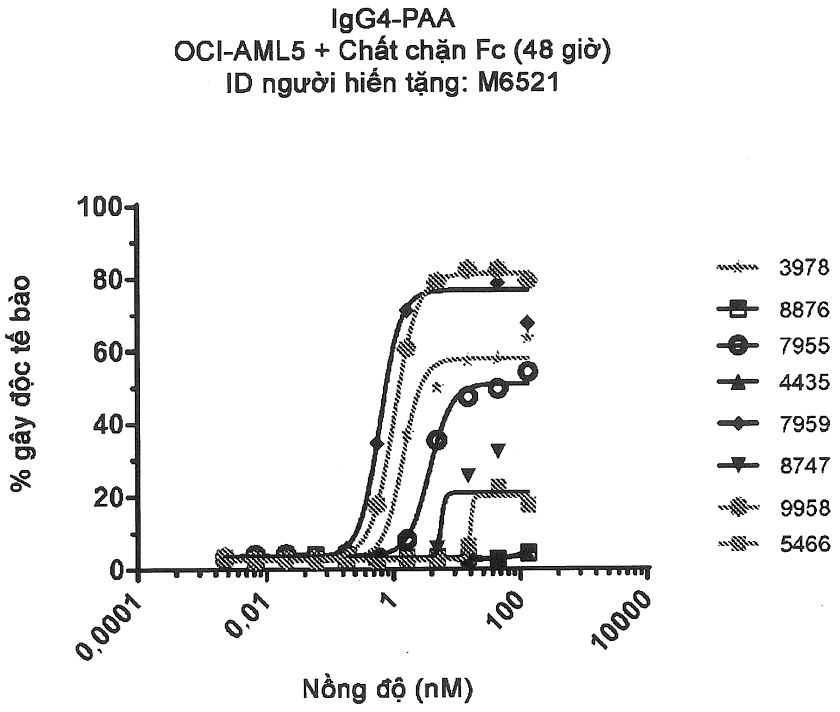

Tế bào T của khỉ đuôi dài
3978
8876
7955
4435
7959
8747
9958
5466
8146
% Liên kết đặc hiệu
Nồng độ của kháng thể đối thủ (µg/mL)

Hình 31.

A)

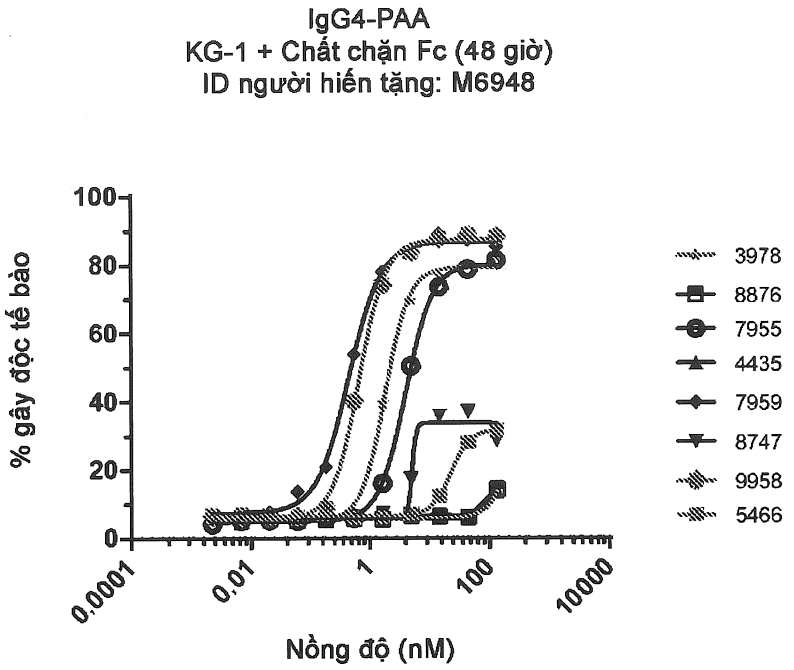

IgG4-PAA
OCI-AML5 + Chất chặn Fc (48 giờ)
ID người hiến tặng: M6948
% gây độc tế bào
100
80
60
40
20
0
0,0001
0,01
1
100
10000
Nồng độ (nM)
3978
8876
7955
4435
7959
8747
9958
5466

B)

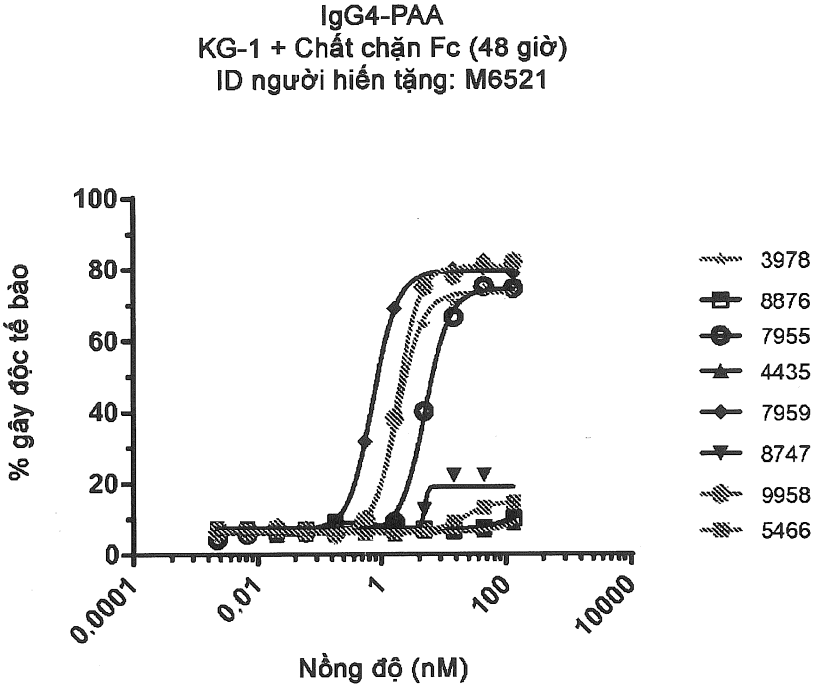

IgG4-PAA
OCI-AML5 + Chất chặn Fc (48 giờ)
ID người hiến tặng: M6521
% gây độc tế bào
100
80
60
40
20
0
0,0001
0,01
1
100
10000
Nồng độ (nM)
3978
8876
7955
4435
7959
8747
9958
5466

Hình 32.

A)

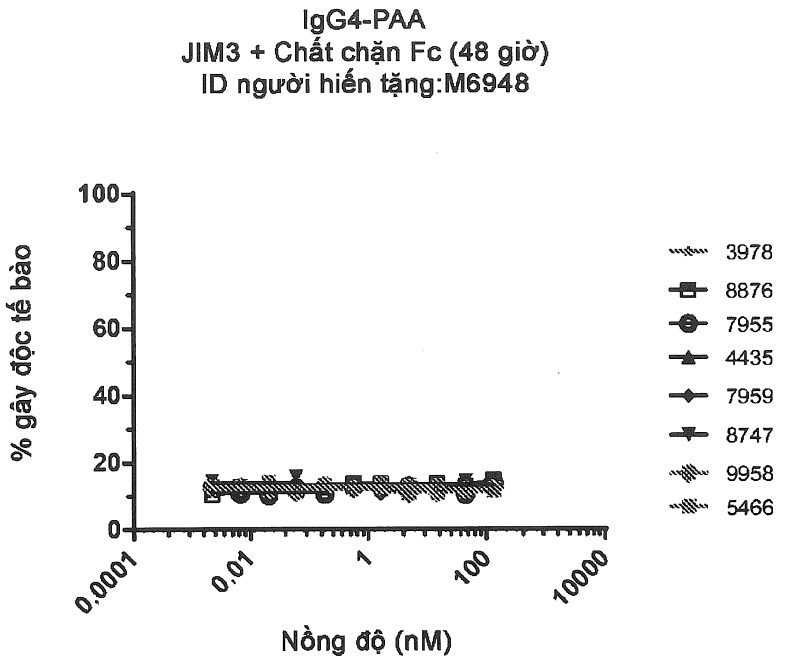

IgG4-PAA
KG-1 + Chất chặn Fc (48 giờ)
ID người hiến tặng: M6948
% gây độc tế bào
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.01
1
100
10000
Nồng độ (nM)
3978
8876
7955
4435
7959
8747
9958
5466

B)

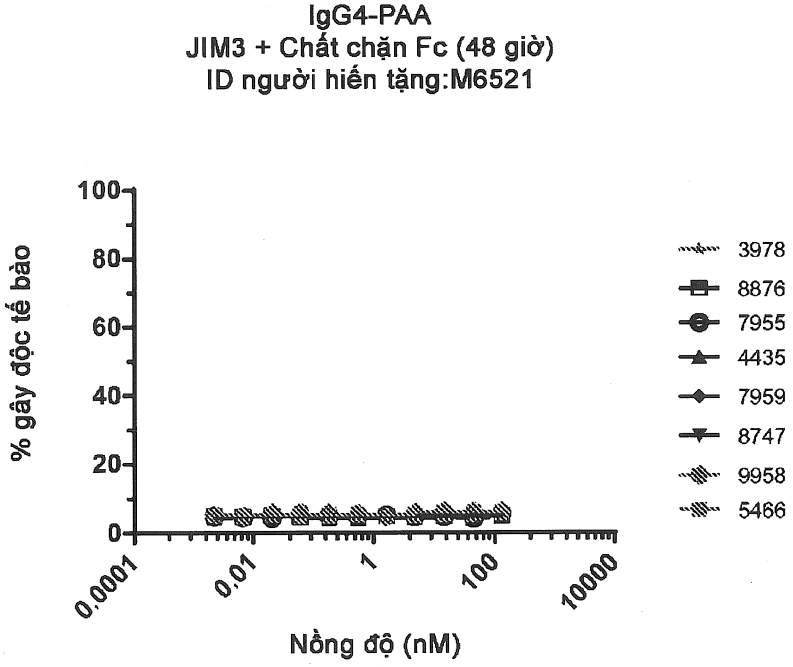

IgG4-PAA
KG-1 + Chất chặn Fc (48 giờ)
ID người hiến tặng: M6521
% gây độc tế bào
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.01
1
100
10000
Nồng độ (nM)
3978
8876
7955
4435
7959
8747
9958
5466

Hình 33.

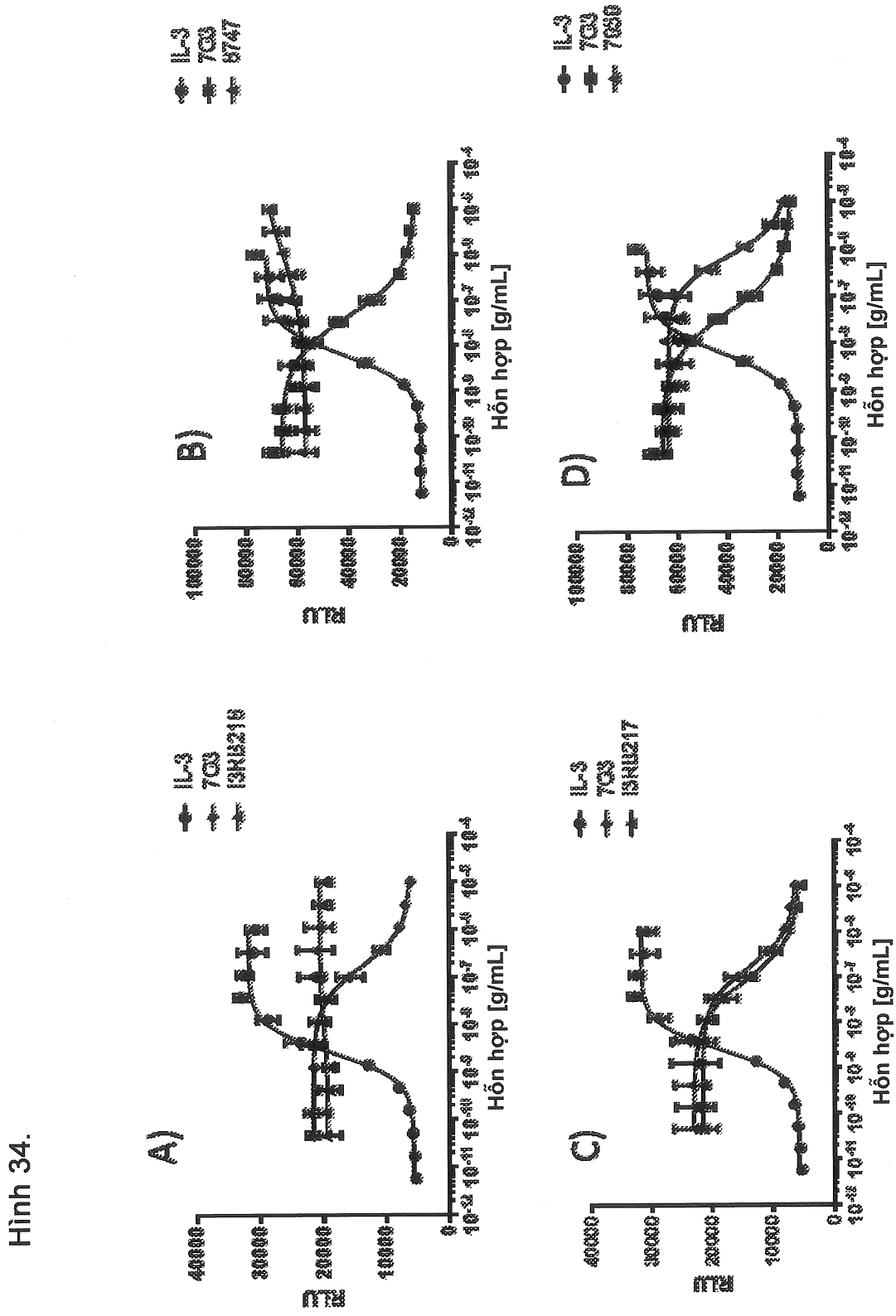
A)


IgG4-PAA
JIM3 + Chất chặn Fc (48 giờ)
ID người hiến tặng:M6948
% gây độc tế bào
100
80
60
40
20
0
0,0001
0,01
1
100
10000
Nồng độ (nM)
3978
8876
7955
4435
7959
8747
9958
5466

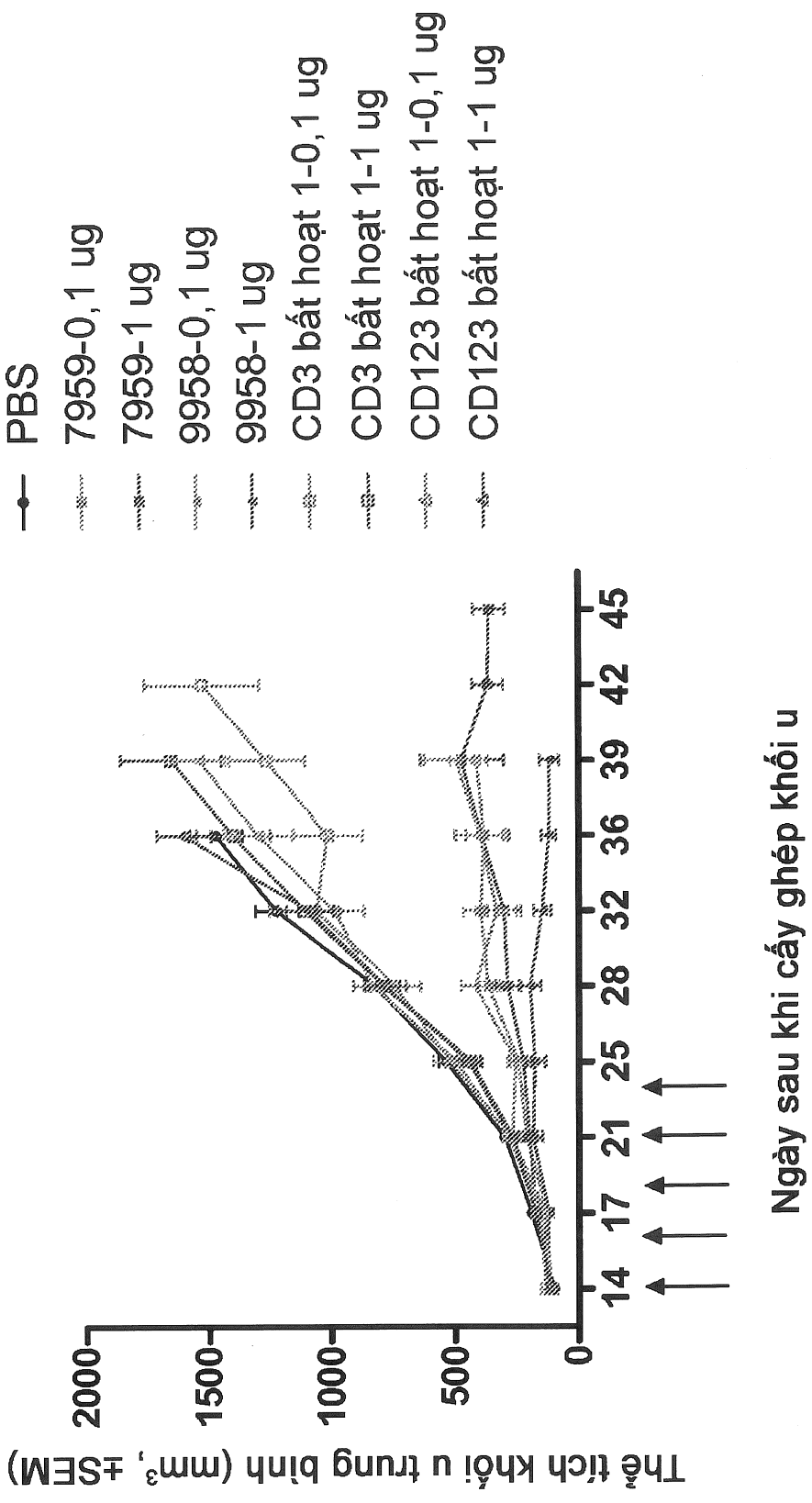
B)


IgG4-PAA
JIM3 + Chất chặn Fc (48 giờ)
ID người hiến tặng:M6521
% gây độc tế bào
100
80
60
40
20
0
0,0001
0,01
1
100
10000
Nồng độ (nM)
3978
8876
7955
4435
7959
8747
9958
5466

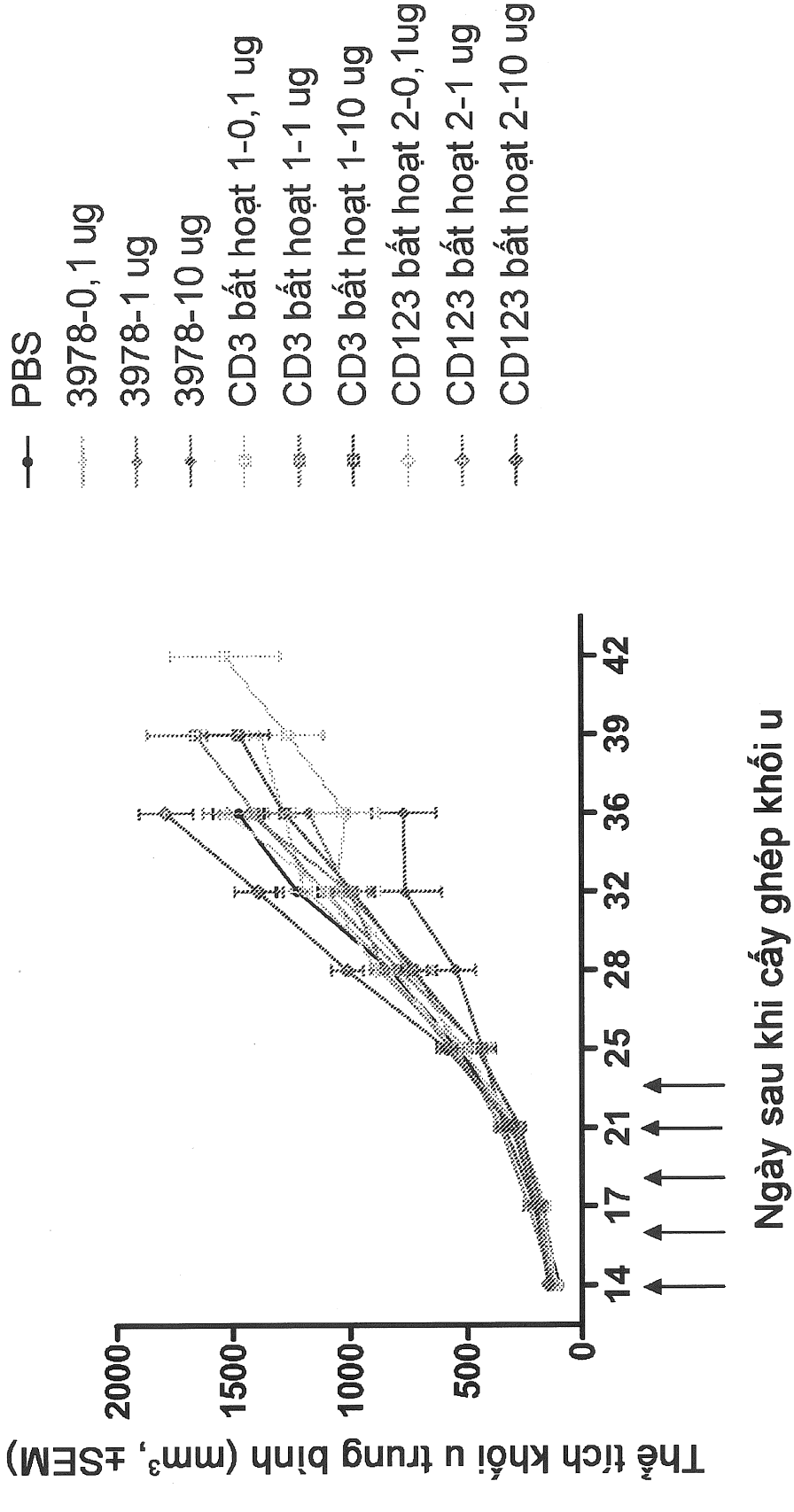
Hình 34.



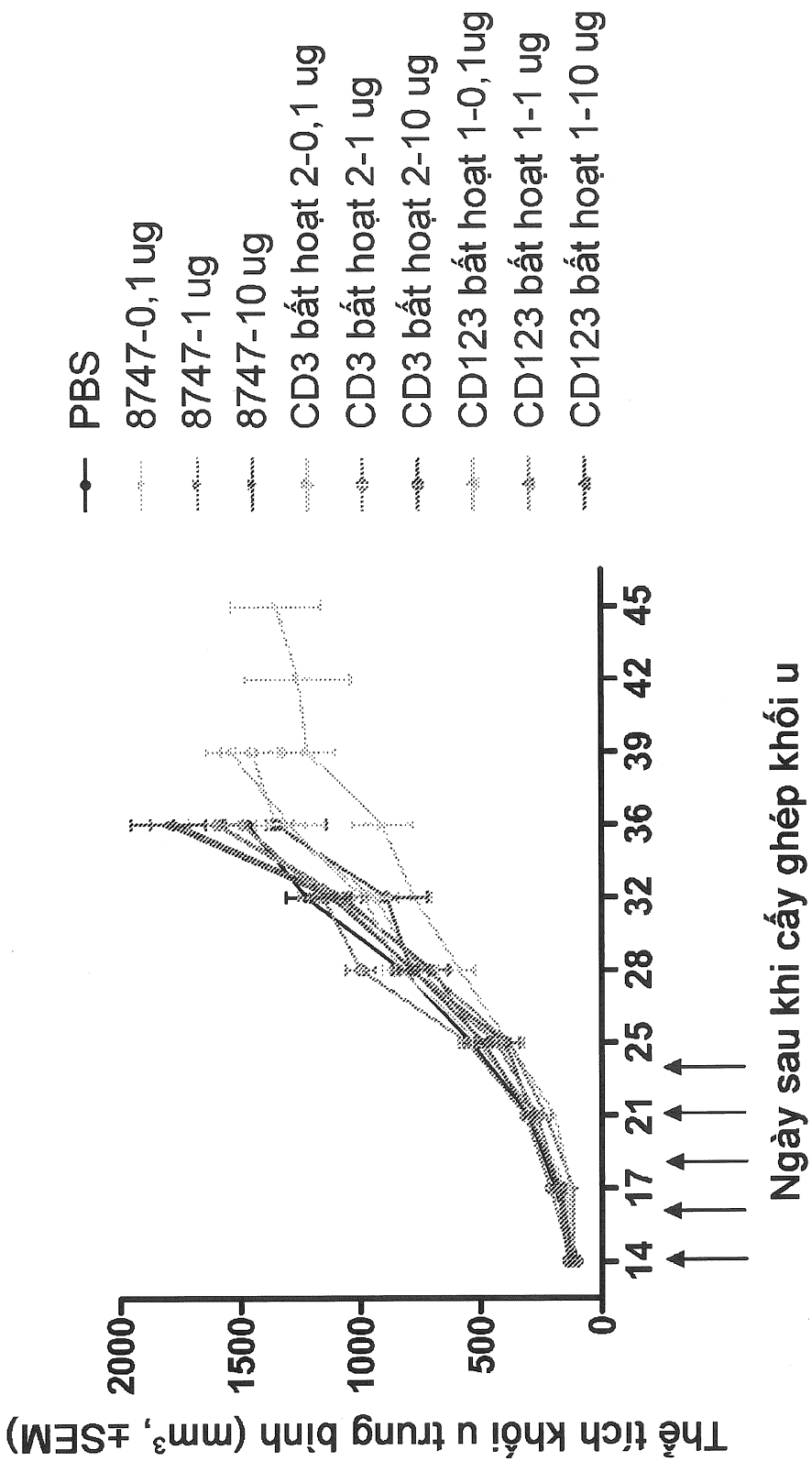
Hình 35.

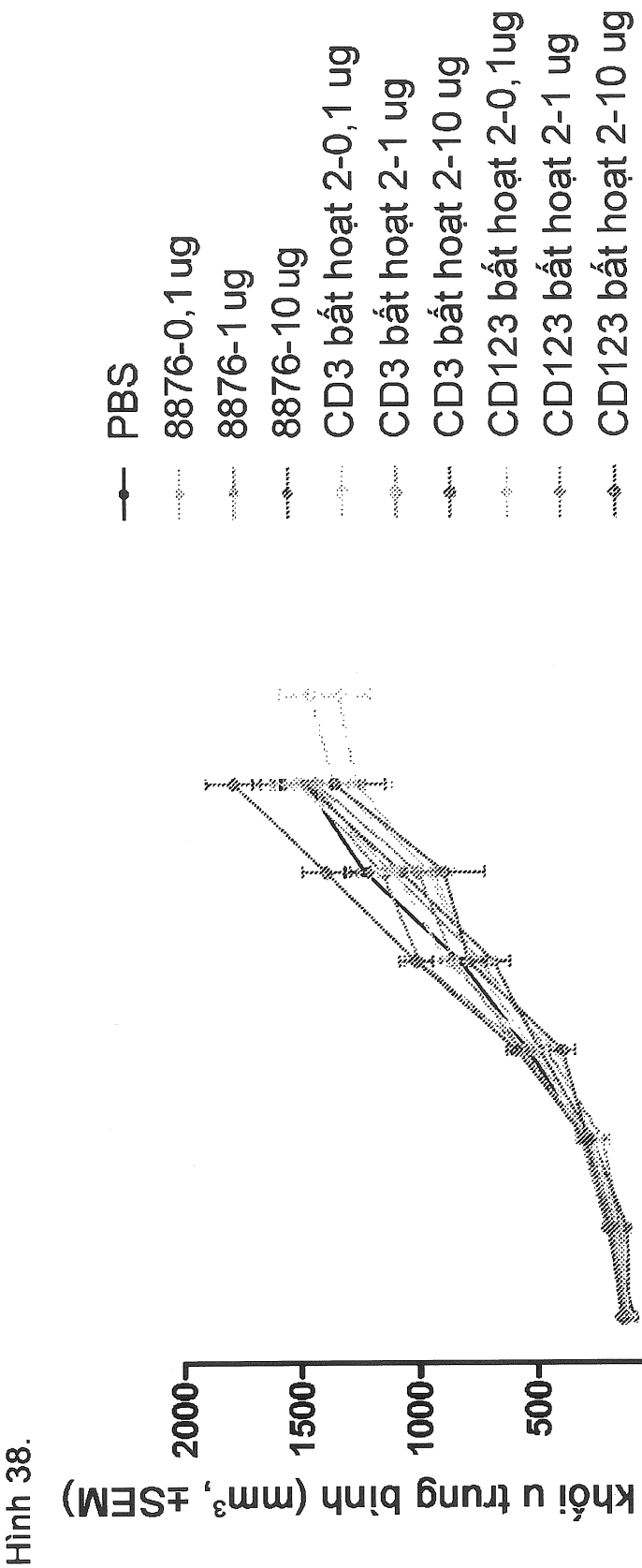

PBS
7959-0,1 ug
7959-1 ug
9958-0,1 ug
9958-1 ug
CD3 bất hoạt 1-0,1 ug
CD3 bất hoạt 1-1 ug
CD123 bất hoạt 1-0,1 ug
CD123 bất hoạt 1-1 ug
Thể tích khối u trung bình (mm³, ±SEM)
2000
1500
1000
500
0
14
17
21
25
28
32
36
39
42
45
Ngày sau khi cấy ghép khối u

Hình 36.


PBS
3978-0,1 ug
3978-1 ug
3978-10 ug
CD3 bất hoạt 1-0,1 ug
CD3 bất hoạt 1-1 ug
CD3 bất hoạt 1-10 ug
CD123 bất hoạt 2-0,1ug
CD123 bất hoạt 2-1 ug
CD123 bất hoạt 2-10 ug
Thể tích khối u trung bình (mm³, ±SEM)
2000
1500
1000
500
0
14
17
21
25
28
32
36
39
42
Ngày sau khi cấy ghép khối u

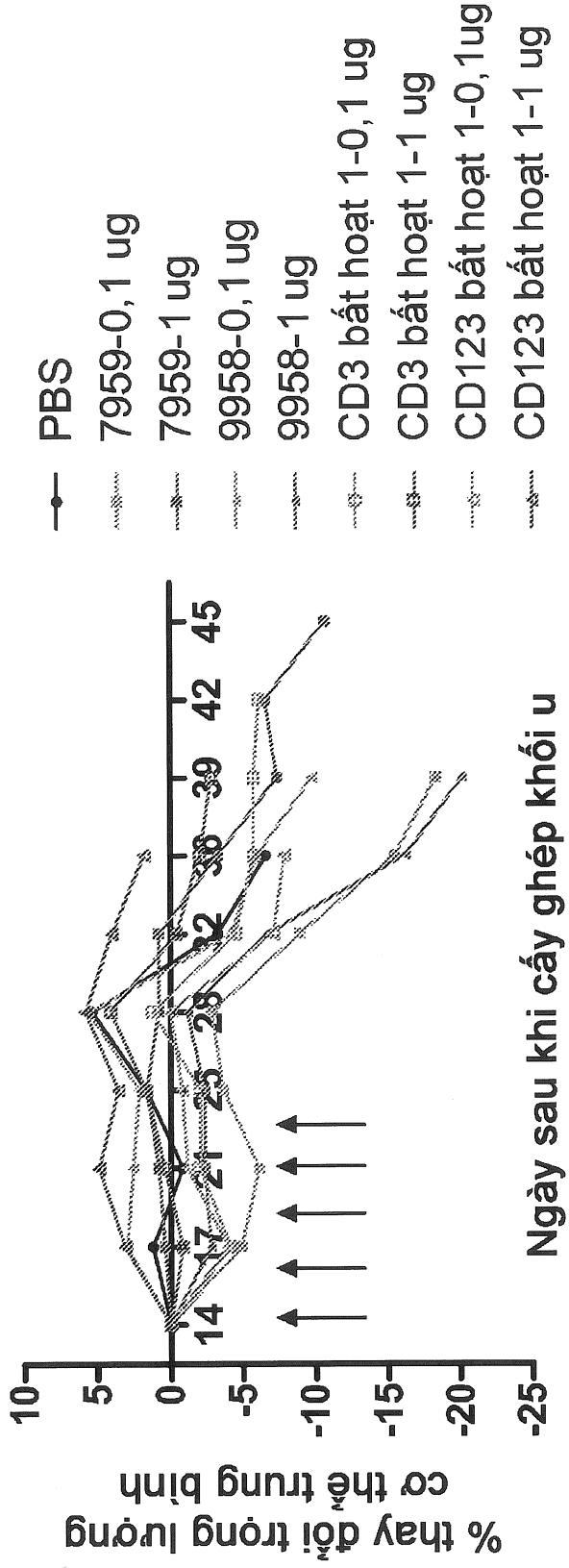
Hình 37.

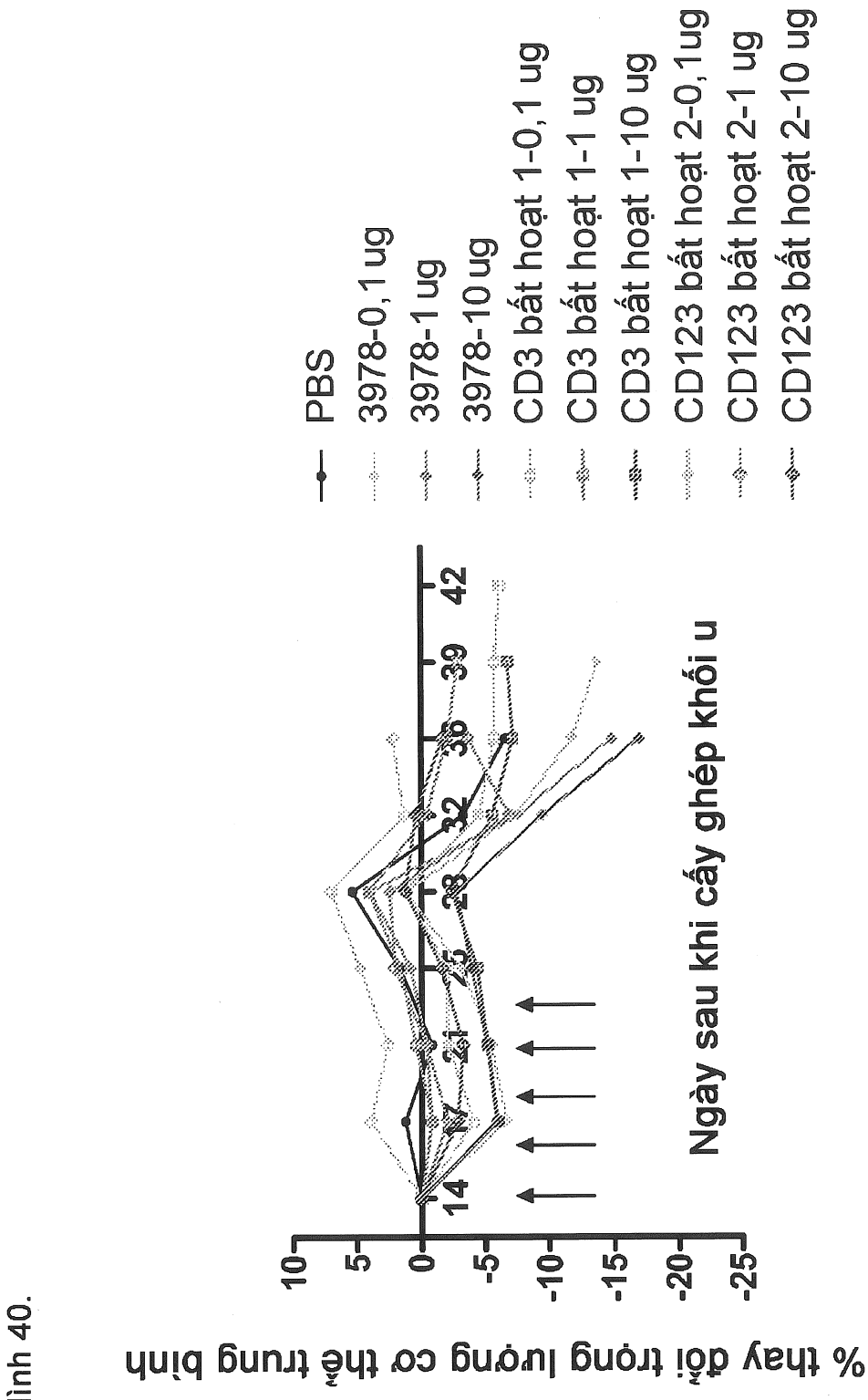

PBS
8747-0,1 ug
8747-1 ug
8747-10 ug
CD3 bất hoạt 2-0,1 ug
CD3 bất hoạt 2-1 ug
CD3 bất hoạt 2-10 ug
CD123 bất hoạt 1-0,1ug
CD123 bất hoạt 1-1 ug
CD123 bất hoạt 1-10 ug
Thể tích khối u trung bình (mm³, ±SEM)
2000
1500
1000
500
0
14 17 21 25 28 32 36 39 42 45
Ngày sau khi cấy ghép khối u


PBS
8876-0,1 ug
8876-1 ug
8876-10 ug
CD3 bất hoạt 2-0,1 ug
CD3 bất hoạt 2-1 ug
CD3 bất hoạt 2-10 ug
CD123 bất hoạt 2-0,1ug
CD123 bất hoạt 2-1 ug
CD123 bất hoạt 2-10 ug
Thể tích khối u trung bình (mm³, ±SEM)
2000
1500
1000
500
0
14
17
21
25
28
32
36
39
Ngày sau khi cấy ghép khối u

Hình 38.

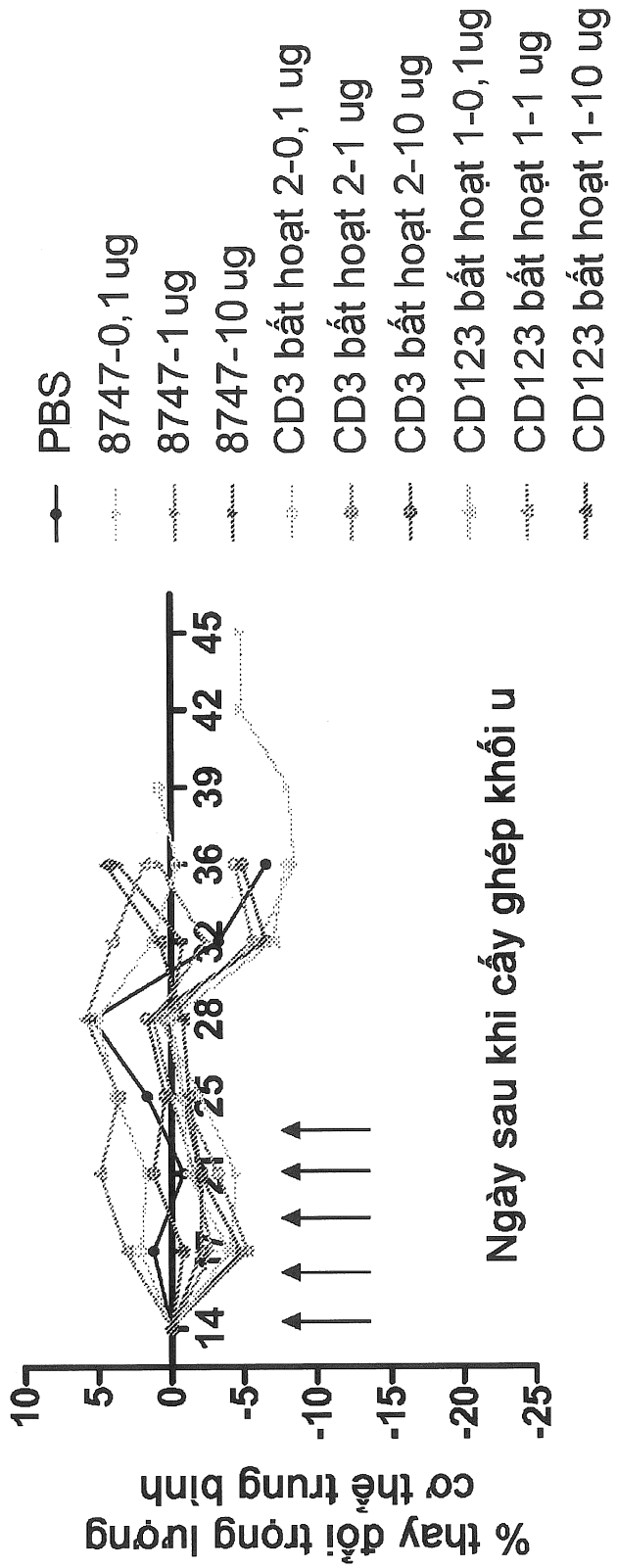
Hình 39.

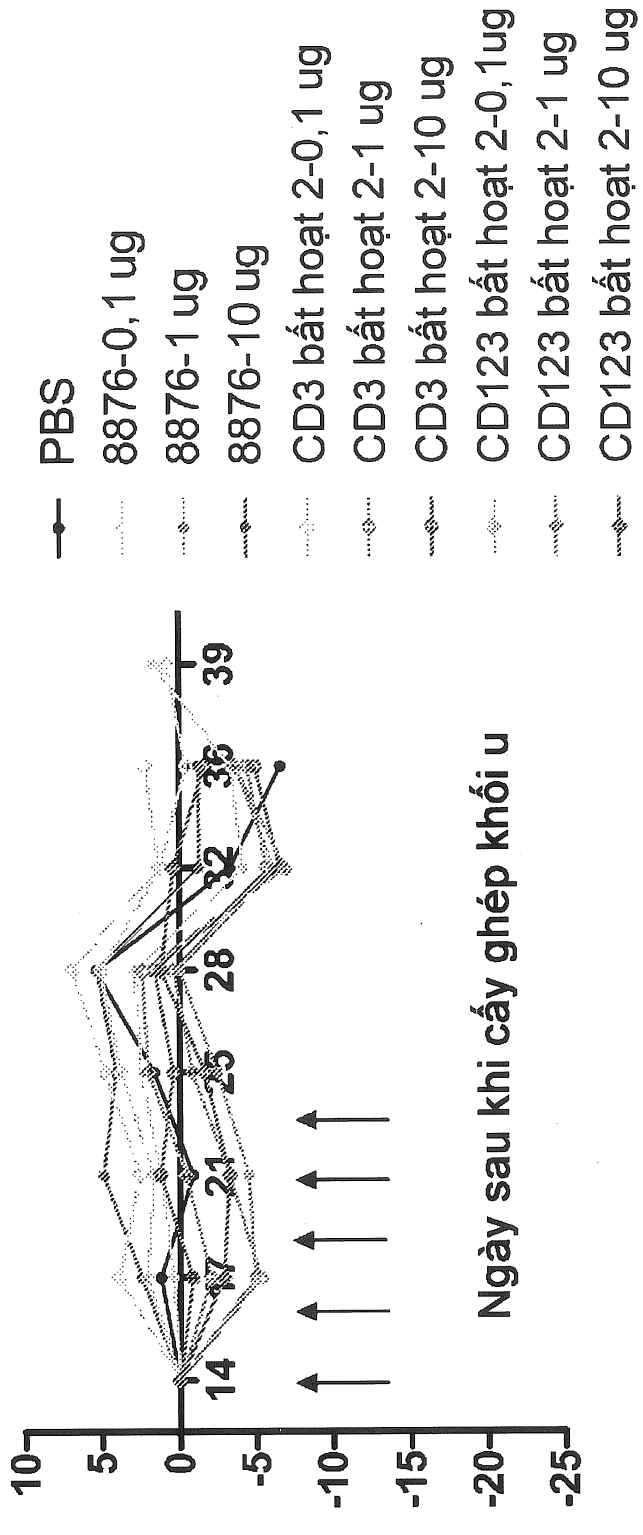

PBS
7959-0,1 ug
7959-1 ug
9958-0,1 ug
9958-1 ug
CD3 bất hoạt 1-0,1 ug
CD3 bất hoạt 1-1 ug
CD123 bất hoạt 1-0,1ug
CD123 bất hoạt 1-1 ug
% thay đổi trọng lượng cơ thể trung bình
Ngày sau khi cấy ghép khối u
10
5
0
-5
-10
-15
-20
-25
14
17
21
25
28
32
36
39
42
45


% thay đổi trọng lượng cơ thể trung bình
10
5
0
-5
-10
-15
-20
-25
14
17
21
25
28
32
36
39
42
Ngày sau khi cấy ghép khối u
PBS
3978-0,1 ug
3978-1 ug
3978-10 ug
CD3 bất hoạt 1-0,1 ug
CD3 bất hoạt 1-1 ug
CD3 bất hoạt 1-10 ug
CD123 bất hoạt 2-0,1ug
CD123 bất hoạt 2-1 ug
CD123 bất hoạt 2-10 ug

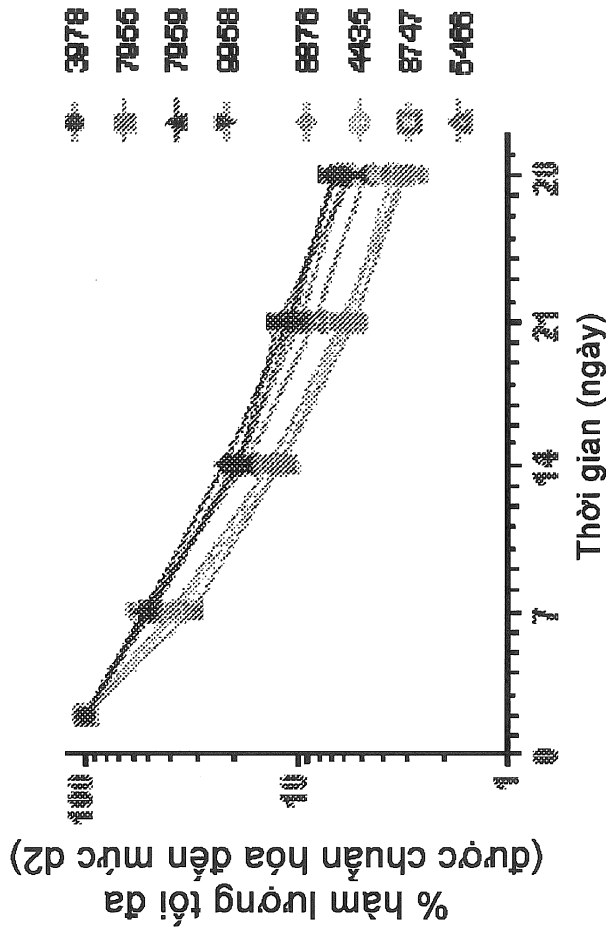
Hình 40.

Hình 41.


% thay đổi trọng lượng cơ thể trung bình
10
5
0
-5
-10
-15
-20
-25
14
17
21
25
28
32
36
39
42
45
Ngày sau khi cấy ghép khối u
PBS
8747-0,1 ug
8747-1 ug
8747-10 ug
CD3 bất hoạt 2-0,1 ug
CD3 bất hoạt 2-1 ug
CD3 bất hoạt 2-10 ug
CD123 bất hoạt 1-0,1ug
CD123 bất hoạt 1-1 ug
CD123 bất hoạt 1-10 ug


% thay đổi trọng lượng cơ thể trung bình
10
5
0
-5
-10
-15
-20
-25
14
17
21
25
28
32
35
39
Ngày sau khi cấy ghép khối u
PBS
8876-0,1 ug
8876-1 ug
8876-10 ug
CD3 bất hoạt 2-0,1 ug
CD3 bất hoạt 2-1 ug
CD3 bất hoạt 2-10 ug
CD123 bất hoạt 2-0,1ug
CD123 bất hoạt 2-1 ug
CD123 bất hoạt 2-10 ug

Hình 42.


3978
7956
7959
8858
8876
4435
8747
5466
100
50
0
0
7
14
21
28
Thời gian (ngày)
% hàm lượng tối đa
(được chuẩn hóa đến mức d2)

Hình 43.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Francois, Gaudet
Nemeth, Jennifer F
Attar, Ricardo F
Harman, Benjamin C
Li, Yingzhe
Luo, Jinquan
McDaid, Ronan F
Pomerantz, Steven C
Tam, Susan H
Teplyakov, Alexey
Wheeler, John
Wu, Sheng-Juin

<120> KHÁNG THỂ ĐẶC HIỆU KÉP HOẶC MẢNH GẮN KẾT KHÁNG NGUYÊN CD123 (IL3-Rα) x CD3 VÀ DƯỢC PHẨM BAO GỒM KHÁNG THỂ NÀY

<130> 620466B2

<160> 234

<170> Phiên bản sáng chế 3.5

<210> 1

<211> 378

<212> PRT

<213> Homo sapiens (Người thông minh)

<400> 1

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

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

Lys Leu Val Val Trp Glu Ala Gly Lys Ala Gly Leu Glu Glu Cys Leu
355 360 365
Val Thr Glu Val Gln Val Val Gln Lys Thr
370 375

<210> 2
<211> 300
<212> PRT
<213> Homo sapiens (Người thông minh)
<400> 2
Met Val Leu Leu Trp Leu Thr Leu Leu Leu Ile Ala Leu Pro Cys Leu
1 5 10 15
Leu Gln Thr Lys Glu Gly Gly Lys Pro Trp Ala Gly Ala Glu Asn Leu
20 25 30
Thr Cys Trp Ile His Asp Val Asp Phe Leu Ser Cys Ser Trp Ala Val
35 40 45
Gly Pro Gly Ala Pro Ala Asp Val Gln Tyr Asp Leu Tyr Leu Asn Val
50 55 60
Ala Asn Arg Arg Gln Gln Tyr Glu Cys Leu His Tyr Lys Thr Asp Ala
65 70 75 80
Gln Gly Thr Arg Ile Gly Cys Arg Phe Asp Asp Ile Ser Arg Leu Ser
85 90 95
Ser Gly Ser Gln Ser Ser His Ile Leu Val Arg Gly Arg Ser Ala Ala
100 105 110
Phe Gly Ile Pro Cys Thr Asp Lys Phe Val Val Phe Ser Gln Ile Glu
115 120 125
Ile Leu Thr Pro Pro Asn Met Thr Ala Lys Cys Asn Lys Thr His Ser
130 135 140
Phe Met His Trp Lys Met Arg Ser His Phe Asn Arg Lys Phe Arg Tyr
145 150 155 160
Glu Leu Gln Ile Gln Lys Arg Met Gln Pro Val Ile Thr Glu Gln Val
165 170 175
Arg Asp Arg Thr Ser Phe Gln Leu Leu Asn Pro Gly Thr Tyr Thr Val
180 185 190

Gln Ile Arg Ala Arg Glu Arg Val Tyr Glu Phe Leu Ser Ala Trp Ser
195 200 205
Thr Pro Gln Arg Phe Glu Cys Asp Gln Glu Glu Gly Ala Asn Thr Arg
210 215 220
Ala Trp Arg Thr Ser Leu Leu Ile Ala Leu Gly Thr Leu Leu Ala Leu
225 230 235 240
Val Cys Val Phe Val Ile Cys Arg Arg Tyr Leu Val Met Gln Arg Leu
245 250 255
Phe Pro Arg Ile Pro His Met Lys Asp Pro Ile Gly Asp Ser Phe Gln
260 265 270
Asn Asp Lys Leu Val Val Trp Glu Ala Gly Lys Ala Gly Leu Glu Glu
275 280 285
Cys Leu Val Thr Glu Val Gln Val Val Gln Lys Thr
290 295 300

<210> 3
<211> 378
<212> PRT
<213> Khỉ đuôi dài Macaca fascicularis
<400> 3
Met Thr Leu Leu Trp Leu Thr Leu Leu Leu Val Ala Thr Pro Cys Leu
1 5 10 15
Leu Arg Thr Lys Glu Asp Pro Asn Ala Pro Ile Arg Asn Leu Arg Met
20 25 30
Lys Glu Lys Ala Gln Gln Leu Met Trp Asp Leu Asn Arg Asn Val Thr
35 40 45
Asp Val Glu Cys Ile Lys Gly Thr Asp Tyr Ser Met Pro Ala Met Asn
50 55 60
Asn Ser Tyr Cys Gln Phe Gly Ala Ile Ser Leu Cys Glu Val Thr Asn
65 70 75 80
Tyr Thr Val Arg Val Ala Ser Pro Pro Phe Ser Thr Trp Ile Leu Phe
85 90 95
Pro Glu Asn Ser Gly Thr Pro Arg Ala Gly Ala Glu Asn Leu Thr Cys
100 105 110

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

<210> 4
<211> 215
<212> PRT
<213> Chuột nhắt nhà
<400> 4

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu
1 5 10 15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
35 40 45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80
Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110
Lys Ser Ser Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
115 120 125
Glu Thr Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Thr Ile Thr Asp Phe Tyr Pro
130 135 140
Gly Val Val Thr Val Asp Trp Lys Val Asp Gly Thr Pro Val Thr Gln
145 150 155 160
Gly Met Glu Thr Thr Gln Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Met
165 170 175
Ala Ser Ser Tyr Leu Thr Leu Thr Ala Arg Ala Trp Glu Arg His Ser
180 185 190
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly His Thr Val Glu Lys Ser
195 200 205
Leu Ser Arg Ala Asp Cys Ser
210 215

<210> 5
<211> 455
<212> PRT
<213> Chuột nhắt nhà
<400> 5

Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr 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 Gln Ser Ile
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Thr Thr
115 120 125
Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Val Pro Gly Cys Ser Asp Thr Ser
130 135 140
Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu
145 150 155 160
Pro Val Thr Val Lys Trp Asn Tyr Gly Ala Leu Ser Ser Gly Val Arg
165 170 175
Thr Val Ser Ser Val Leu Gln Ser Ala Phe Tyr Ser Leu Ser Ser Leu
180 185 190
Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Ile Cys Asn
195 200 205
Val Ala His Pro Ala Ser Lys Thr Glu Leu Ile Lys Arg Ile Glu Pro
210 215 220

Arg Ile Pro Lys Pro Ser Thr Pro Pro Gly Ser Ser Cys Pro Pro Gly
225 230 235 240
Asn Ile Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys
245 250 255
Asp Ala Leu Met Ile Ser Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val
260 265 270
Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val His Val Ser Trp Phe Val Asp
275 280 285
Asn Lys Glu Val His Thr Ala Trp Thr Gln Pro Arg Glu Ala Gln Tyr
290 295 300
Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp
305 310 315 320
Trp Met Arg Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu
325 330 335
Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Arg Ala Gln
340 345 350
Thr Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Arg Glu Gln Met Ser Lys
355 360 365
Lys Lys Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Thr Asn Phe Phe Ser Glu Ala
370 375 380
Ile Ser Val Glu Trp Glu Arg Asn Gly Glu Leu Glu Gln Asp Tyr Lys
385 390 395 400
Asn Thr Pro Pro Ile Leu Asp Ser Asp Gly Thr Tyr Phe Leu Tyr Ser
405 410 415
Lys Leu Thr Val Asp Thr Asp Ser Trp Leu Gln Gly Glu Ile Phe Thr
420 425 430
Cys Ser Val Val His Glu Ala Leu His Asn His His Thr Gln Lys Asn
435 440 445
Leu Ser Arg Ser Pro Gly Lys
450 455

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

<220>
<223> H-CDR1 của I3RB1
<400> 6
Asp Tyr Gly Met Ser
1 5

<210> 7
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR2 của I3RB1
<400> 7
Val Ile Arg Gly Gly Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 8
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB1
<400> 8
His Ser Gly Ser Phe Arg Phe Asn Glu Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 9
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR1 của I3RB1, I3RB3
<400> 9

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Ala

<210> 10
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR2 của I3RB1, I3RB3
<400> 10
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR3 của I3RB1, I3RB3
<400> 11
Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 12
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR1 của I3RB2
<400> 12
Gly Tyr Trp Met His
1 5

<210> 13
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR2 của I3RB2, I3RB43
<400> 13
Ala Ile Arg Ser Asp Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 14
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB2
<400> 14
Asp Gly Val Ile Glu Asp Thr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 15
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR1 của I3RB2, I3RB13, I3RB42, I3RB43
<400> 15
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10
<210> 16
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> L-CDR2 của I3RB2, I3RB13, I3RB42, I3RB43
<400> 16
Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 17
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR3 của I3RB2, I3RB39, I3RB42, I3RB43
<400> 17
Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr
1 5
<210> 18
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR1 của I3RB3
<400> 18
Ser Tyr Trp Met Ser
1 5

<210> 19
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR2 của I3RB3
<400> 19
Gly Ile Lys Tyr Asp Gly Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB3
<400> 20
Lys Trp Met Ser Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 21
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR1 của I3RB4
<400> 21
Gly Tyr Gly Met Ser
1 5

<210> 22
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR2 của I3RB4, I3RB41, I3RB42
<400> 22
Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 23
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB4
<400> 23
Gly Asn Trp Tyr Tyr Gly Leu Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 24
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR1 của I3RB4, I3RB18, I3RB41
<400> 24
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 25
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR2 của I3RB4, I3RB18, I3RB41
<400> 25
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 26
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> L-CDR3 của I3RB4, I3RB41
<400> 26
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr
1 5

<210> 27
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR1 của I3RB5
<400> 27
Gly Tyr Trp Met Ser
1 5

<210> 28
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR2 của I3RB5
<400> 28
Gly Ile Asn Tyr Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB5
<400> 29

Asp His Phe Leu Ala Glu Phe Asp Tyr
1 5

<210> 30
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR1 của I3RB5, I3RB6, I3RB7, I3RB8, I3RB9, I3RB10, I3RB11, I3RB12, I3RB14, I3RB15, I3RB16, I3RB17, I3RB20, I3RB23, I3RB24, I3RB25, I3RB28, I3RB32, I3RB35, I3RB36, I3RB38, I3RB44, I3RB47
<400> 30
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 31
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR2 của I3RB5, I3RB6, I3RB7, I3RB8, I3RB9, I3RB10, I3RB11, I3RB12, I3RB14, I3RB15, I3RB16, I3RB17, I3RB20, I3RB23, I3RB24, I3RB25, I3RB28, I3RB29, I3RB32, I3RB35, I3RB36, I3RB37, I3RB38, I3RB44, I3RB47
<400> 31
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 32
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>

<223> L-CDR3 của I3RB5, I3RB6, I3RB7, I3RB8, I3RB9, I3RB10, I3RB11, I3RB12, I3RB14, I3RB15, I3RB16, I3RB17, I3RB19, I3RB20, I3RB24, I3RB25, I3RB28, I3RB32, I3RB36, I3RB38, I3RB44, I3RB47

<400> 32

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 33

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> H-CDR1 của I3RB6, I3RB7, I3RB8, I3RB9, I3RB12, I3RB15, I3RB16, I3RB17, I3RB20, I3RB21, I3RB22, I3RB24, I3RB27, I3RB28, I3RB29, I3RB30, I3RB31, I3RB34, I3RB35, I3RB37, I3RB39, I3RB40, I3RB47

<400> 33

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 34

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> H-CDR2 của I3RB6, I3RB7, I3RB8, I3RB9, I3RB11, I3RB12, I3RB15, I3RB16, I3RB17, I3RB20, I3RB21, I3RB22, I3RB23, I3RB24, I3RB26, I3RB27, I3RB28, I3RB29, I3RB32, I3RB33, I3RB34, I3RB35, I3RB36, I3RB37, I3RB38, I3RB39, I3RB40, I3RB47

<400> 34

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 35
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB6
<400> 35
Gly Leu Phe Asn Trp Ser Asn Val Ala Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 36
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB7
<400> 36
Gly Lys Arg Trp Leu Ala Asp Ala Gly Asp Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 37
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB8
<400> 37
His Gly Phe Ala Trp Asn Asp Tyr Ser Leu Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 38
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> H-CDR2 của I3RB9
<400> 38
Gly Ala Arg Trp Phe Asn Pro Pro Glu Asn Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 39
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR1 của I3RB10, I3RB11, I3RB13, I3RB14, I3RB23, I3RB25, I3RB26,
I3RB32, I3RB33, I3RB36, I3RB38
<400> 39
Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5

<210> 40
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR2 của I3RB10
<400> 40
Trp Ile Ser Ala Ile Phe Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 41
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> H-CDR2 của I3RB10
<400> 41
Gly Gly Leu Leu Tyr Tyr Ala Ser Tyr Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 42
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB11, I3RB47
<400> 42
Asp Leu Phe Ser Trp Arg Tyr Ser Asn Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 43
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR của I3RB12
<400> 43
Ala Asp Arg Val Trp Asp Tyr Tyr Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 44
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR2 của I3RB13
<400> 44
Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 45
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB13
<400> 45
Gln Ser Gly Phe Tyr Val Val Arg Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 46
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR2 của I3RB14
<400> 46
Trp Ile Ser Ala Ile Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 47
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB14
<400> 47
Gly Gly Pro Leu Arg Tyr Tyr Asn His Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 48
<211> 12

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB15
<400> 48
Asp Leu Phe Ser Leu Arg Tyr Ser Phe Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 49
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB16
<400> 49
Gly Ala Val Trp Gly Asp Gln Trp Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 50
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB17
<400> 50
Gly Ala Leu Ser Leu Trp Tyr Ser Phe Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 51
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR1 của I3RB18, I3RB44

<400> 51
Ser Tyr Trp Ile Ser
1 5

<210> 52
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR2 của I3RB18, I3RB44
<400> 52
Ile Ile Asp Pro Ser Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB18, I3RB44
<400> 53
Gly Asp Gly Ser Thr Asp Leu Asp Tyr
1 5

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR3 của I3RB18
<400> 54
Gln Gln Asp Tyr Gly Phe Pro Trp Thr
1 5

<210> 55
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR1 của I3RB19
<400> 55
Asn Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 56
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR2 của I3RB19
<400> 56
Gly Ile Arg Gly Asn Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 57
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB19
<400> 57
Gly Gly Pro Ile Gly Ala Arg Phe Pro Asp Tyr Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 58
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> L-CDR1 của I3RB19
<400> 58
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Asp Phe Leu Asn
1 5 10

<210> 59
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR2 của I3RB19
<400> 59
Tyr Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5
<210> 60
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB20
<400> 60
Asp Asp Gln Ile Trp Gly Ser Tyr His Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 61
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB21
<400> 61
Glu Gly Trp Trp Gly Gln Gly Lys Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 62
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR1 của I3RB21
<400> 62
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ala Asn Phe Leu Ala
1 5 10

<210> 63
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR2 của I3RB21, I3RB27
<400> 63
Ala Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR3 của I3RB21
<400> 64
Gln Gln Tyr Phe His Trp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 65
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>

<223> H-CDR3 của I3RB22

<400> 65

Asn Leu Phe Tyr Trp Ala Asp Ser Val Tyr Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 66

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> L-CDR1 của I3RB22

<400> 66

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Lys Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 67

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> L-CDR2 của I3RB22, I3RB30, I3RB34

<400> 67

Tyr Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> L-CDR3 của I3RB22

<400> 68

Gln Gln Gly Ile Asp Trp Pro Arg Thr
1 5

<210> 69
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB23
<400> 69
Glu Gly Ser Ser Trp Lys Asn Pro Arg Tyr Val Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR của I3RB23
<400> 70
Gln Gln Tyr Phe Asp Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 71
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB24
<400> 71
His Thr Asp Ala Trp Gly Tyr Arg Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 72
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>

<223> H-CDR2 của I3RB25

<400> 72

Gly Ile Ser Ala Ile Phe Gly Asn Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 73

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> H-CDR3 của I3RB25

<400> 73

Arg Phe Lys Trp Trp Glu Ser Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 74

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> H-CDR3 của I3RB26

<400> 74

Asn Gly Phe Ala Trp Ser Val Ser Gly Asn Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 75

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> L-CDR1 của I3RB26

<400> 75

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Asn Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 76
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR2 của I3RB26, I3RB31, I3RB33, I3RB40
<400> 76
Gly Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 77
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR3 của I3RB26
<400> 77
Gln Gln Ser Ile Ser Ala Pro Tyr Thr
1 5

<210> 78
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB27
<400> 78
Ala Gly Trp Trp Asn Leu Arg Tyr Gly Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 79
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>

<223> L-CDR1 của I3RB27
<400> 79
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ala Lys Ser Leu Ala
1 5 10

<210> 80
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR3 của I3RB27
<400> 80
Gln Gln Phe Ile Gly Trp Pro Ile Thr
1 5

<210> 81
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB28
<400> 81
Ala Pro Phe Thr Trp Asp Tyr Ser Arg Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 82
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB29
<400> 82
Asp Ser Arg Ile Trp Ser Phe Ser Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 83
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR1 của I3RB29
<400> 83
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Glu Trp Leu Asn
1 5 10

<210> 84
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR3 của I3RB29
<400> 84
Gln Gln Tyr Tyr His Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 85
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR2 của I3RB30
<400> 85
Trp Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 86
<211> 9
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB30
<400> 86
Leu Val Tyr Ser Ser Asp Phe Asp Tyr
1 5

<210> 87
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR1 của I3RB30
<400> 87
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ala Asn Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR3 của I3RB30
<400> 88
Gln Gln Tyr Asp Gly Trp Pro Arg Thr
1 5

<210> 89
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR2 của I3RB31
<400> 89

Gly Ile Ser Ala Tyr Phe Gly Asn Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 90
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB31
<400> 90
Ser Tyr Phe Gly Asp Ala Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 91
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR1 của I3RB31
<400> 91
Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Lys Asp Leu Ala
1 5 10

<210> 92
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR3 của I3RB31
<400> 92
Gln Gln Tyr Asp Arg Ala Pro Ile Thr
1 5

<210> 93
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB32
<400> 93
Gly Ala Trp Trp Ala Tyr Asp Thr Tyr Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 94
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB33
<400> 94
Gly Tyr Trp His Trp Asn Tyr Asp Tyr Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 95
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR1 của I3RB33
<400> 95
Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Asp Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 96
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>

<223> L-CDR3 của I3RB33
<400> 96
Gln Gln Tyr Lys Arg Ala Pro Tyr Thr
1 5

<210> 97
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB34
<400> 97
Gly Trp Ser Tyr Tyr Arg Leu Asp Tyr
1 5

<210> 98
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR1 của I3RB34
<400> 98
Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Lys Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 99
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR3 của I3RB34
<400> 99
Gln Gln Phe Asp Arg Ala Pro Phe Thr
1 5

<210> 100
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB35
<400> 100
His Leu Phe Trp Asp Ala Gly Pro Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 101
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR3 của I3RB35
<400> 101
Gln Gln Tyr Phe Ser Pro Pro Tyr Thr
1 5

<210> 102
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB36
<400> 102
Asp Leu His Val Trp Ala Tyr Ser Asn Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 103
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> H-CDR3 của I3RB37
<400> 103
Asp Lys Thr Asp Phe Pro Ser Arg Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 104
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR1 của I3RB37
<400> 104
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ala Thr Trp Leu Asn
1 5 10

<210> 105
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR3 của I3RB37
<400> 105
Gln Gln Tyr Ile Thr Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 106
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB38
<400> 106
Asp Leu Met Ile Trp Arg Phe Glu Asn Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 107
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB39
<400> 107
Glu Tyr Gly Ser Leu Asp Tyr
1 5

<210> 108
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR1 của I3RB39
<400> 108
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ala Asp Phe Leu Ala
1 5 10

<210> 109
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR2 của I3RB39
<400> 109
Lys Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 110
<211> 9
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR3 của I3RB39
<400> 110
Gln Gln Tyr Asn Gly Trp Pro Trp Thr
1 5

<210> 111
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB40
<400> 111
Gly Gln Trp Trp Ala Asp Thr Trp Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 112
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR1 của I3RB40
<400> 112
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ala Lys Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 113
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> L-CDR3 của I3RB40
<400> 113

Gln Gln Tyr His Thr Ala Pro Trp Thr
1 5

<210> 114
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR1 của I3RB41, I3RB42
<400> 114
Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 115
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB41
<400> 115
Val Ala Tyr Trp Glu Phe Phe Val Tyr Glu Ser Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 116
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB42
<400> 116
His Asp Trp Ala Phe Trp Ile Val Phe Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 117
<211> 5

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR1 của I3RB43
<400> 117
Ser Tyr Trp Met His
1 5

<210> 118
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> H-CDR3 của I3RB43
<400> 118
Asp Gly Ile Val Met Asp Thr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 119
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB01
<400> 119
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Val Ile Arg Gly Gly Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys His Ser Gly Ser Phe Arg Phe Asn Glu Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 120
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB02
<400> 120
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Arg Ser Asp Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Gly Val Ile Glu Asp Thr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 121
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH của I3RB03
<400> 121

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

<210> 122
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB04
<400> 122

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Gly Asn Trp Tyr Tyr Gly Leu Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 123
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB05
<400> 123
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
20 25 30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Asn Tyr Asp Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp His Phe Leu Ala Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 124
<211> 121

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB06
<400> 124

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

<210> 125
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB07
<400> 125

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

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

<210> 126
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB08
<400> 126
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Gly Phe Ala Trp Asn Asp Tyr Ser Leu Leu Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 127
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB09
<400> 127

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

<210> 128
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB10
<400> 128

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

<210> 129
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB11
<400> 129
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Leu Phe Ser Trp Arg Tyr Ser Asn Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 130
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB12
<400> 130

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

<210> 131
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB13
<400> 131

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

<210> 132
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB14
<400> 132
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Ser Ala Ile Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Gly Pro Leu Arg Tyr Tyr Asn His Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 133
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB15
<400> 133
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Leu Phe Ser Leu Arg Tyr Ser Phe Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 134
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH của I3RB16
<400> 134

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

<210> 135
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB17
<400> 135

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Ala Leu Ser Leu Trp Tyr Ser Phe Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 136
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB18
<400> 136
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Asp Pro Ser Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asp Gly Ser Thr Asp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 137
<211> 123

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB19
<400> 137

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

<210> 138
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB20
<400> 138

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

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

<210> 139
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB21
<400> 139
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Gly Trp Trp Gly Gln Gly Lys Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 140
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB22
<400> 140

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

<210> 141
<211> 123
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB23
<400> 141

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

<210> 142
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB24
<400> 142
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Thr Asp Ala Trp Gly Tyr Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 143
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB25
<400> 143

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

<210> 144
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB26
<400> 144

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

<210> 145
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB27
<400> 145
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ala Gly Trp Trp Asn Leu Arg Tyr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 146
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB28
<400> 146
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ala Pro Phe Thr Trp Asp Tyr Ser Arg Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 147
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH của I3RB29
<400> 147

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

<210> 148
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB30
<400> 148

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

<210> 149
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB31
<400> 149
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ser Ala Tyr Phe Gly Asn Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Tyr Phe Gly Asp Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 150
<211> 121

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB32
<400> 150

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

<210> 151
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB33
<400> 151

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

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

<210> 152
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB34
<400> 152
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Trp Ser Tyr Tyr Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 153
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB35
<400> 153

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

<210> 154
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB36
<400> 154

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

<210> 155
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB37
<400> 155
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Lys Thr Asp Phe Pro Ser Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 156
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB38
<400> 156

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

<210> 157
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB39
<400> 157

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

<210> 158
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB40
<400> 158
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Gln Trp Trp Ala Asp Thr Trp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 159
<211> 123
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB41
<400> 159
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Val Ala Tyr Trp Glu Phe Phe Val Tyr Glu Ser Leu Asp Tyr
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 160
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH của I3RB42
<400> 160

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

<210> 161
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB43
<400> 161

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

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

<210> 162
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB44
<400> 162
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Asp Pro Ser Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asp Gly Ser Thr Asp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 163
<211> 121

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VH của I3RB47
<400> 163

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

<210> 164
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB1, I3RB3
<400> 164

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

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

<210> 165
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB2, I3RB13, I3RB42, I3RB43
<400> 165
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 166
<211> 108
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB4, I3RB41
<400> 166

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

<210> 167
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB5, I3RB6, I3RB7, I3RB8, I3RB9, I3RB10, I3RB11, I3RB12, I3RB14, I3RB15, I3RB16, I3RB17, I3RB20, I3RB24, I3RB25, I3RB28, I3RB32, I3RB36, I3RB38, I3RB44, I3RB47
<400> 167

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

<210> 168
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB18
<400> 168
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Gly Phe Pro
85 90 95
Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 169
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL của I3RB19
<400> 169

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

<210> 170
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB21
<400> 170

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Phe His Trp Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 171
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB22
<400> 171
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Lys Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Asp Trp Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 172
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB23
<400> 172

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

<210> 173
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB26
<400> 173
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Asn Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ile Ser Ala Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 174
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB27
<400> 174
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ala Lys Ser
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Ile Gly Trp Pro Ile
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 175
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB29
<400> 175
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

<210> 176
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB30
<400> 176
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ala Asn Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gly Trp Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 177
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB31
<400> 177

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

<210> 178
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB33
<400> 178

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

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

<210> 179
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB34
<400> 179
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Lys Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asp Arg Ala Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 180
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL của I3RB35
<400> 180

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

<210> 181
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB37
<400> 181

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ile Thr Phe Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 182
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB39
<400> 182
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ala Asp Phe
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Lys Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Gly Trp Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 183
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> VL của I3RB40
<400> 183

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

<210> 184
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3H141
<400> 184
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 Thr 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 Ala
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 185
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3H142
<400> 185
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr 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 Ala
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 186
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3H143

<400> 186

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr 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 Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

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

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

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

<210> 187

<211> 125

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> CD3H144

<400> 187

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 Thr Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Gly Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
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 Thr Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 188
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3L63
<400> 188
Gln Ala 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 Thr Ser
20 25 30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg 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 Ala
65 70 75 80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 189
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3L64

<400> 189

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

<210> 190
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3L66
<400> 190

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 Thr Ser
20 25 30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg 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

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

<210> 191
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> B21M VH
<400> 191

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

<210> 192
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> B21M VL
<400> 192

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

<210> 193
<211> 455
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B146 HC
<400> 193
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 Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Gly Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
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 Thr Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
            100                 105                 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
        115                 120                 125
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
    130                 135                 140
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145                 150                 155                 160
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
                165                 170                 175
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
            180                 185                 190
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
        195                 200                 205
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
    210                 215                 220
Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
225                 230                 235                 240
Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
                245                 250                 255
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
            260                 265                 270
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
        275                 280                 285
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
    290                 295                 300
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
305                 310                 315                 320
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
                325                 330                 335
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
            340                 345                 350
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
        355                 360                 365
```

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
370 375 380
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385 390 395 400
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser
405 410 415
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
420 425 430
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
435 440 445
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 194
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B146 LC
<400> 194
Gln Ala 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 Thr Ser
20 25 30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg 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 Ala
65 70 75 80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
115 120 125
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
130 135 140
Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Gly Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145 150 155 160
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
165 170 175
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
195 200 205
Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 195
<211> 455
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B147 HC
<400> 195
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr 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 Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

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

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
370 375 380
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385 390 395 400
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser
405 410 415
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
420 425 430
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
435 440 445
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 196
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B147 LC
<400> 196
Gln Ala 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 Thr Ser
20 25 30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg 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 Ala
65 70 75 80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
115 120 125
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
130 135 140
Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Gly Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145 150 155 160
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
165 170 175
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
195 200 205
Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 197
<211> 455
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B151 HC
<400> 197
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr 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 Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

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

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
370 375 380
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385 390 395 400
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser
405 410 415
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
420 425 430
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
435 440 445
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 198
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B151 LC
<400> 198
Gln Ala 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 Thr Ser
20 25 30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg 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 Ala
65 70 75 80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
115 120 125
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
130 135 140
Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Gly Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145 150 155 160
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
165 170 175
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
195 200 205
Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 199
<211> 455
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B154 HC
<400> 199
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr 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 Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

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

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
370 375 380
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385 390 395 400
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser
405 410 415
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
420 425 430
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
435 440 445
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 200
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B154 LC
<400> 200
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 Thr Ser
20 25 30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg 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
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
115 120 125
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
130 135 140
Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Gly Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145 150 155 160
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
165 170 175
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
195 200 205
Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 201
<211> 455
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B155 HC
<400> 201

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

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

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385 390 395 400
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser
405 410 415
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
420 425 430
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
435 440 445
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 202
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B155 LC
<400> 202
Gln Ala 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 Thr Ser
20 25 30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg 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 Ala
65 70 75 80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110
Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
115 120 125

Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
130 135 140
Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Gly Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145 150 155 160
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
165 170 175
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
195 200 205
Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 203
<211> 449
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> I3RB135 HC
<400> 203
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Arg Ser Asp Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Gly Val Ile Glu Asp Thr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445
Lys

<210> 204
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> I3RB135 LC
<400> 204
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 205
<211> 448
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> I3RB125 HC
<400> 205
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Asp Pro Ser Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asp Gly Ser Thr Asp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

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

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 206
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> I3RB125 LC
<400> 206
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Gly Phe Pro
85 90 95
Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 207
<211> 450
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> B2M HC
<400> 207
Gln Ile Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Ala His Ile Tyr Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80
Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Leu Tyr Gly Phe Thr Tyr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

```
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
225                 230                 235                 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415
```

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys
450

<210> 208
<211> 218
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> B2M LC
<400> 208
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asn
20 25 30
Gly Ile Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Pro Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80
Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ile Ile
85 90 95
Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Leu Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 209
<211> 223
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Chất chặn FC (mảnh FC của kháng thể đơn dòng)
<400> 209
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
1 5 10 15
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
20 25 30
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
35 40 45
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
50 55 60
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
65 70 75 80
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
85 90 95
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
100 105 110
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
115 120 125
Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
130 135 140

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
145 150 155 160
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
165 170 175
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
180 185 190
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
195 200 205
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215 220

<210> 210
<211> 452
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B219 HC
<400> 210
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 Thr 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 Ala
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125

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

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Leu Gly Lys
450

<210> 211
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B219 LC
<400> 211
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 Thr Ser
20 25 30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg 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
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110
Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
115 120 125
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
130 135 140

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145 150 155 160
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
165 170 175
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
195 200 205
Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 212
<211> 452
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B217 HC
<400> 212
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr 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 Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Val Lys His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125

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

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Leu Gly Lys
450

<210> 213
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B217 LC
<400> 213
Gln Ala 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 Thr Ser
20 25 30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg 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 Ala
65 70 75 80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110
Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
115 120 125
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
130 135 140

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145 150 155 160
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
165 170 175
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
195 200 205
Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 214
<211> 452
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B218 HC
<400> 214
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr 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 Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Val Lys His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125

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

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Leu Gly Lys
450

<210> 215
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B218 LC
<400> 215
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 Thr Ser
20 25 30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg 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
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110
Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
115 120 125
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
130 135 140

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145 150 155 160
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
165 170 175
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
195 200 205
Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 216
<211> 452
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B220 HC
<400> 216
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 Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
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 Thr Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125

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

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Leu Gly Lys
450

<210> 217
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B220 LC
<400> 217
Gln Ala 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 Thr Ser
20 25 30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg 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 Ala
65 70 75 80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110
Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
115 120 125
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
130 135 140

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145 150 155 160
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
165 170 175
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
195 200 205
Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 218
<211> 445
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> I3RB217 HC
<400> 218
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Asp Pro Ser Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asp Gly Ser Thr Asp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

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

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415
Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 219
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> I3RB217 LC
<400> 219
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Gly Phe Pro
85 90 95
Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 220
<211> 446
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> I3RB218 HC
<400> 220
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Arg Ser Asp Gly Ser Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Gly Val Ile Glu Asp Thr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

```
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190
Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
        195                 200                 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
    210                 215                 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225                 230                 235                 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
                245                 250                 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
            260                 265                 270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
        275                 280                 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
    290                 295                 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305                 310                 315                 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
                325                 330                 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
            340                 345                 350
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
        355                 360                 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
    370                 375                 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385                 390                 395                 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
                405                 410                 415
```

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 221
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> I3RB218 LC
<400> 221
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 222
<211> 447
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> G11 HC
<400> 222
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Asn Gly Gly Gly Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Thr Ser Ala Gln Arg Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

```
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
                165                 170                 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
            180                 185                 190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
        195                 200                 205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
    210                 215                 220
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225                 230                 235                 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
                245                 250                 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
            260                 265                 270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
        275                 280                 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
    290                 295                 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305                 310                 315                 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
                325                 330                 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
            340                 345                 350
Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
        355                 360                 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
                405                 410                 415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430
```

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 223
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> G11 LC
<400> 223

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

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 224
<211> 451
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B94 HC
<400> 224

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

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 225
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD3B94 LC
<400> 225

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

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 226
<211> 213
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD123 SP2 với nhãn 6His
<400> 226
Gln Thr Lys Glu Gly Lys Pro Trp Ala Gly Ala Glu Asn Leu Thr Cys
1 5 10 15
Trp Ile His Asp Val Asp Phe Leu Ser Cys Ser Trp Ala Val Gly Pro
20 25 30
Gly Ala Pro Ala Asp Val Gln Tyr Asp Leu Tyr Leu Asn Val Ala Asn
35 40 45
Arg Arg Gln Gln Tyr Glu Cys Leu His Tyr Lys Thr Asp Ala Gln Gly
50 55 60
Thr Arg Ile Gly Cys Arg Phe Asp Asp Ile Ser Arg Leu Ser Ser Gly
65 70 75 80
Ser Gln Ser Ser His Ile Leu Val Arg Gly Arg Ser Ala Ala Phe Gly
85 90 95
Ile Pro Cys Thr Asp Lys Phe Val Val Phe Ser Gln Ile Glu Ile Leu
100 105 110
Thr Pro Pro Asn Met Thr Ala Lys Cys Asn Lys Thr His Ser Phe Met
115 120 125
His Trp Lys Met Arg Ser His Phe Asn Arg Lys Phe Arg Tyr Glu Leu
130 135 140
Gln Ile Gln Lys Arg Met Gln Pro Val Ile Thr Glu Gln Val Arg Asp
145 150 155 160
Arg Thr Ser Phe Gln Leu Leu Asn Pro Gly Thr Tyr Thr Val Gln Ile
165 170 175

Arg Ala Arg Glu Arg Val Tyr Glu Phe Leu Ser Ala Trp Ser Thr Pro
180 185 190
Gln Arg Phe Glu Cys Asp Gln Glu Glu Gly Ala Asn Thr Arg Ala His
195 200 205
His His His His His
210

<210> 227
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens (Người thông minh)
<400> 227
Arg Ala Arg Glu Arg Val Tyr Glu Phe
1 5

<210> 228
<211> 12
<212> PRT
<213> Homo sapiens (Người thông minh)
<400> 228
Ile Gln Lys Arg Met Gln Pro Val Ile Thr Glu Gln
1 5 10

<210> 229
<211> 6
<212> PRT
<213> Homo sapiens (Người thông minh)
<400> 229
Leu Leu Asn Pro Gly Thr
1 5

<210> 230
<211> 253
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> I3RB18 scFv được sử dụng tinh thể học tia X

<400> 230

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Gly Phe Pro
85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
130 135 140

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
145 150 155 160

Trp Ile Ser Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
165 170 175

Gly Ile Ile Asp Pro Ser Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
180 185 190

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
195 200 205

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
210 215 220

Ala Arg Gly Asp Gly Ser Thr Asp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly His His His His His His
245 250

<210> 231
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> CD123 sp2 with 8His tag for crystallography
<400> 231

Gln Thr Lys Glu Gly Lys Pro Trp Ala Gly Ala Glu Asn Leu Thr Cys
1 5 10 15
Trp Ile His Asp Val Asp Phe Leu Ser Cys Ser Trp Ala Val Gly Pro
20 25 30
Gly Ala Pro Ala Asp Val Gln Tyr Asp Leu Tyr Leu Asn Val Ala Asn
35 40 45
Arg Arg Gln Gln Tyr Glu Cys Leu His Tyr Lys Thr Asp Ala Gln Gly
50 55 60
Thr Arg Ile Gly Cys Arg Phe Asp Asp Ile Ser Arg Leu Ser Ser Gly
65 70 75 80
Ser Gln Ser Ser His Ile Leu Val Arg Gly Arg Ser Ala Ala Phe Gly
85 90 95
Ile Pro Cys Thr Asp Lys Phe Val Val Phe Ser Gln Ile Glu Ile Leu
100 105 110
Thr Pro Pro Asn Met Thr Ala Lys Cys Asn Lys Thr His Ser Phe Met
115 120 125
His Trp Lys Met Arg Ser His Phe Asn Arg Lys Phe Arg Tyr Glu Leu
130 135 140
Gln Ile Gln Lys Arg Met Gln Pro Val Ile Thr Glu Gln Val Arg Asp
145 150 155 160
Arg Thr Ser Phe Gln Leu Leu Asn Pro Gly Thr Tyr Thr Val Gln Ile
165 170 175
Arg Ala Arg Glu Arg Val Tyr Glu Phe Leu Ser Ala Trp Ser Thr Pro
180 185 190
Gln Arg Phe Glu Cys Asp Gln Glu Glu Gly Ala Asn Thr Arg Ala His
195 200 205
His His His His His His His
210 215

<210> 232

<400> 232

000

<210> 233

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens (Người thông minh)

<400> 233

Thr Glu Gln Val Arg Asp

1 5

<210> 234

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens (Người thông minh)

<400> 234

Arg Ala Arg Glu Arg Val Tyr Glu

1 5