



(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)



1-0033082

(51)⁷ A61K 39/215; C07K 16/08; A61K 39/00 (13) B

-
- (21) 1-2016-04983 (22) 20/05/2015
(86) PCT/US2015/031800 20/05/2015 (87) WO/2015/179535 26/11/2015
(30) 62/002,233 23/05/2014 US; 62/004,971 30/05/2014 US; 62/051,717 17/09/2014 US;
62/072,716 30/10/2014 US
(45) 25/08/2022 413 (43) 27/02/2017 347A
(73) REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. (US)
777 Old Saw Mill River Road, Tanytown, New York 10591, USA
(72) KYRATSOUS, Christos (GR); STAHL, Neil (US); SIVAPALASINGAM, Sumathi
(US).
(74) Công ty TNHH T&T INVENMARK Sở hữu trí tuệ Quốc tế (T&T INVENMARK
CO., LTD.)
-

(54) KHÁNG THỂ ĐƠN DÒNG Ở NGƯỜI LIÊN KẾT ĐẶC HIỆU VỚI PROTEIN GAI
CỦA VIRUT CORONA GÂY HỘI CHỨNG HÔ HẤP TRUNG ĐÔNG VÀ DƯỢC
PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến kháng thể đơn dòng kháng protein gai của virus corona gây hội chứng hô hấp Trung Đông (Middle East Respiratory Syndrome - Coronavirus: MERS-CoV), và dược phẩm chứa kháng thể này. Theo các phương án khác nhau của sáng chế, kháng thể này là kháng thể người đầy đủ mà liên kết với protein gai của MERS-CoV. Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế là hữu ích để ức chế hoặc trung hòa hoạt tính của MERS-CoV. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất tổ hợp của một hoặc nhiều kháng thể liên kết với protein gai của MERS-CoV để điều trị bệnh nhiễm MERS. Theo một số phương án, một hoặc nhiều kháng thể này liên kết với các epitop khác biệt không cạnh tranh chứa trong vùng liên kết với thụ thể của protein gai của MERS-CoV.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến kháng thể người và các đoạn liên kết với kháng nguyên của kháng thể người liên kết đặc hiệu với protein gai của virus corona gây hội chứng hô hấp Trung Đông (Middle East Respiratory Syndrome – coronavirus: MERS-CoV).

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Virus corona gây hội chứng hô hấp Trung Đông (MERS-CoV) là virus beta corona mới lưu hành gây nên bệnh hô hấp cấp nghiêm trọng. Nó được phân lập lần đầu ở Ả Rập Saudi vào năm 2012 (Zaki et al 2012, NEJM 367: 1814-1820) và từ đó lây lan qua 18 quốc gia với hầu hết các ca ở Ả Rập Saudi và Tiểu vương quốc Ả Rập thống nhất. Đến 15-05-2014, Tổ chức Y tế Thế giới thông báo có 571 ca nhiễm MERS, bao gồm 171 ca tử vong. Hai ca nhiễm MERS mới đây được phát hiện ở Mỹ. Các đặc điểm lâm sàng của bệnh nhiễm MERS-CoV ở người từ nhiễm không triệu chứng đến viêm phổi nghiêm trọng, có khả năng phát triển hội chứng suy đường hô hấp cấp, sốc nhiễm trùng và suy đa tạng dẫn đến tử vong.

MERS-CoV giống với các virus corona của dơi HKU4 và HKU5. Virus này sử dụng protein gai để tương tác với thụ thể tế bào để đi vào tế bào đích. Raj và các đồng tác giả chứng minh rằng virus này liên kết thông qua vùng liên kết với thụ thể của protein gai với dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) trên các tế bào biểu mô và nội mô của người (Raj et al 2013, Nature 495: 251-256). Lu và các đồng tác giả 2013 chứng minh rằng vùng liên kết với thụ thể của MERS-CoV bao gồm lõi và tiểu vùng liên kết với thụ thể tương tác với DPP4 (Lu et al 2013, Nature 500: 227-231).

WO2014/045254 mô tả việc phân lập và xác định đặc điểm của MERS-CoV, protein gai và các kháng thể đa dòng kháng vùng liên kết với thụ thể của protein gai. Các kháng thể đơn dòng trung hòa đối với vùng liên kết với thụ thể của protein gai được mô tả, ví dụ, bởi Du và các đồng tác giả (2014, J. Virol.), Ying và các đồng tác giả (2014, J. Virol.), Tang và các đồng tác giả (2014, PNAS) và Jiang và các đồng tác giả (2014, Sci. Transl. Med. Vol. 6, 234ra59).

Đến nay, chưa có vắc xin hoặc chất điều trị để phòng hoặc điều trị bệnh nhiễm MERS. Do tiếp tục có sự đe dọa đến sức khỏe con người và tỷ lệ tử vong cao (trên 30%), rất cần có các liệu pháp kháng virus mang tính phòng và điều trị để kiểm soát MERS. Các

kháng thể của người hoàn toàn liên kết đặc hiệu với protein gai của MERS-CoV với ái lực cao và ức chế hoạt tính gây nhiễm của virus có thể là quan trọng để phòng và điều trị bệnh nhiễm MERS.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất kháng thể và đoạn liên kết với kháng nguyên của nó liên kết với protein gai của MERS-CoV. Kháng thể theo sáng chế hữu ích, *ví dụ*, để ức chế hoặc trung hòa hoạt tính của protein gai của MERS-CoV. Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế hữu ích để phòng bế sự liên kết của virus với thụ thể tế bào chủ dipeptidyl peptidaza 4 (DPP4) và ngăn không cho MERS-Virus corona đi vào tế bào chủ. Theo một số phương án, kháng thể này hoạt động bằng cách ức chế virus truyền từ tế bào này sang tế bào khác. Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế hữu ích để phòng, điều trị hoặc làm giảm nhẹ ít nhất một triệu chứng nhiễm MERS-CoV ở đối tượng. Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế được sử dụng để phòng hoặc điều trị cho đối tượng nhiễm hoặc có nguy cơ nhiễm MERS-CoV.

Kháng thể theo sáng chế có thể có chiều dài đầy đủ (ví dụ, kháng thể IgG1 hoặc IgG4) hoặc có thể chỉ chứa vùng liên kết với kháng nguyên (ví dụ, đoạn Fab, F(ab')₂ hoặc scFv), và có thể được cải biến để tác động đến chức năng, ví dụ, gia tăng thời gian tồn tại trong vật chủ hoặc loại bỏ các chức năng tác động còn lại (Reddy et al., 2000, J. Immunol. 164:1925-1933). Theo một số phương án, kháng thể có thể là hai đặc hiệu.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất kháng thể đơn dòng tái tổ hợp được phân lập hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với protein gai của MERS-CoV. Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế là kháng thể đơn dòng của người hoàn toàn. Kháng thể và đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo sáng chế liên kết với epitop nằm trong vùng liên kết với thụ thể (receptor binding domain: RBD) của protein gai của MERS-CoV. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể và đoạn liên kết với kháng nguyên của nó liên kết với axit amin được chọn từ các axit amin 367 đến 606 của trình tự có số truy cập trong Ngân hàng gen là AFS88936.1 (SEQ ID NO: 457). Theo một phương án, kháng thể theo sáng chế liên kết với protein gai của thể phân lập MERS-CoV EMC/2012. Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế liên kết với protein gai của các thể phân lập MERS-CoV khác nhau.

Kháng thể kháng MERS-CoV-S được lấy làm ví dụ theo sáng chế được nêu ở đây trong các Bảng 2 và 3. Bảng 2 nêu các ký hiệu nhận dạng trình tự axit amin của các vùng biến đổi của chuỗi nặng (Heavy chain variable region: HCVR), vùng biến đổi của chuỗi nhẹ (Light chain variable region: LCVR), vùng xác định tính hỗ trợ của chuỗi nặng

(Heavy chain complementarity determining region: HCDR1, HCDR2 và HCDR3), và vùng xác định tính hỗ trợ của chuỗi nhẹ (Light chain complementarity determining region: LCDR1, LCDR2 và LCDR3) của kháng thể kháng MERS-CoV-S được lấy làm ví dụ. Bảng 3 nêu các ký hiệu nhận dạng trình tự axit nucleic của HCVR, LCVR, HCDR1, HCDR2 HCDR3, LCDR1, LCDR2 và LCDR3 của kháng thể kháng MERS-CoV-S được lấy làm ví dụ.

Sáng chế đề xuất kháng thể, hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, bao gồm HCVR chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCVR nêu trong bảng 2, hoặc trình tự hầu như đồng nhất với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99%.

Sáng chế cũng đề xuất kháng thể, hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, bao gồm LCVR chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin LCVR nêu trong bảng 2, hoặc trình tự hầu như đồng nhất với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99%.

Sáng chế cũng đề xuất kháng thể, hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, bao gồm trình tự axit amin HCVR và LCVR (HCVR/LCVR) chứa trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCVR nêu trong bảng 2 cặp với trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin LCVR nêu trong bảng 2. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể, hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, bao gồm trình tự axit amin HCVR/LCVR chứa trong kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể kháng MERS-CoV-S được lấy làm ví dụ nêu trong bảng 2. Theo một số phương án, cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/106, 122/106, 130/106, 138/106, 146/106, 154/162, 170/162, 178/162, 186/194, 202/210, 218/226, 234/242, 250/258, 266/274, 282/290, 298/306, 314/322, 330/338, 346/354, 362/370, 378/386, 394/402, 410/418, 426/434, và 442/450. Theo một số phương án, cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR được chọn từ các SEQ ID NO: 2/10 (ví dụ, H1H15177P), 18/26 (ví dụ, H1H15188P), 66/74 (ví dụ, H1H15211P), 114/106 (ví dụ, H1H15231P2), 170/162 (ví dụ, H1H15260P2) hoặc 218/226 (ví dụ, H1H15277N).

Sáng chế cũng đề xuất kháng thể, hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, chứa chuỗi nặng CDR1 (HCDR1) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCDR1 nêu trong bảng 2 hoặc trình tự hầu như đồng nhất với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99%.

Sáng chế cũng đề xuất kháng thể, hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, chứa chuỗi nặng CDR2 (HCDR2) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCDR2 nêu trong bảng 2 hoặc trình tự hầu như đồng nhất

với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99%.

Sáng chế cũng đề xuất kháng thể, hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, chứa chuỗi nặng CDR3 (HCDR3) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCDR3 nêu trong bảng 2 hoặc trình tự hầu như đồng nhất với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99%.

Sáng chế cũng đề xuất kháng thể, hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, chứa chuỗi nhẹ CDR1 (LCDR1) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin LCDR1 nêu trong bảng 2 hoặc trình tự hầu như đồng nhất với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99%.

Sáng chế cũng đề xuất kháng thể, hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, chứa chuỗi nhẹ CDR2 (LCDR2) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin LCDR2 nêu trong bảng 2 hoặc trình tự hầu như đồng nhất với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99%.

Sáng chế cũng đề xuất kháng thể, hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, chứa chuỗi nhẹ CDR3 (LCDR3) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin LCDR3 nêu trong bảng 2 hoặc trình tự hầu như đồng nhất với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99%.

Sáng chế cũng đề xuất kháng thể, hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, bao gồm trình tự axit amin HCDR3 và LCDR3 (HCDR3/LCDR3) chứa trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCDR3 nêu trong bảng 2 cặp với trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin LCDR3 nêu trong bảng 2. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể, hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, bao gồm trình tự axit amin HCDR3/LCDR3 chứa trong kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể kháng MERS-CoV-S được lấy làm ví dụ nêu trong bảng 2. Theo một số phương án, cặp trình tự axit amin HCDR3/LCDR3 được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 8/16 (ví dụ, H1H15177P), 24/32 (ví dụ, H1H15188P), 72/80 (ví dụ, H1H15211P), 120/112 (ví dụ, H1H15231P2), 176/168 (ví dụ, H1H15260P2) và 224/232 (ví dụ, H1H15277N).

Sáng chế cũng đề xuất kháng thể, hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, chứa bộ gồm sáu CDR (*tức là* HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa trong kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể kháng MERS-CoV-S được lấy làm ví dụ nêu trong bảng 2. Theo một số phương án, bộ trình tự axit amin HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 4-6-8-12-14-16 (ví dụ, H1H15177P), 20-22-24-28-30-32 (ví dụ, H1H15188P); 68-70-72-76-78-80 (ví dụ, H1H15211P); 116-118-120-108-110-112 (ví dụ, H1H15231P2); 172-174-176-164-166-168 (ví dụ, H1H15260P2) và 220-222-224-228-230-232 (ví dụ, H1H15277N).

Theo phương án liên quan sáng chế đề xuất kháng thể, hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, chứa bộ gồm sáu CDR (tức là HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa trong cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR được xác định bởi kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể kháng MERS-CoV-S được lấy làm ví dụ nêu trong bảng 2. Ví dụ, sáng chế bao gồm kháng thể, hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, chứa bộ trình tự axit amin HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 chứa trong cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 2/10 (ví dụ, H1H15177P), 18/26 (ví dụ, H1H15188P); 66/74 (ví dụ, H1H15211P); 114/106 (ví dụ, H1H15231P2); 170/162 (ví dụ, H1H15260P2) và 218/226 (ví dụ, H1H15277N). Phương pháp và kỹ thuật nhận dạng CDR trong các trình tự axit amin HCVR và LCVR là đã được biết rõ trong lĩnh vực này và có thể được dùng để nhận dạng các CDR trong các trình tự axit amin HCVR và/hoặc LCVR xác định được bộc lộ trong bản mô tả này. Các quy ước được lấy làm ví dụ có thể dùng để nhận dạng ranh giới các CDR bao gồm, ví dụ, định nghĩa theo Kabat, định nghĩa theo Chothia, và định nghĩa theo AbM. Theo thuật ngữ chung, định nghĩa theo Kabat là trên cơ sở mức biến đổi trình tự, định nghĩa theo Chothia là trên cơ sở vị trí của các vùng cuộn cấu trúc, và định nghĩa theo AbM là thỏa hiệp giữa các phương pháp Kabat và Chothia. Ví dụ, xem Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani *et al.*, *J. Mol. Biol.* 273:927-948 (1997); và Martin *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:9268-9272 (1989). Các cơ sở dữ liệu đã công bố cũng có thể được sử dụng để nhận dạng các trình tự CDR trong kháng thể.

Sáng chế bao gồm kháng thể kháng MERS-CoV-S có mô hình glycosyl hóa được cải biến. Theo một số phương án, việc cải biến để loại bỏ các vị trí glycosyl hóa không mong muốn có thể là hữu ích, hoặc kháng thể thiếu nhóm fucoza có trên chuỗi oligosacarit, ví dụ, để gia tăng chức năng gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể (antibody dependent cellular cytotoxicity: ADCC) (xem Shield *et al.* (2002) *JBC* 277:26733). Trong các ứng dụng khác, việc galactosyl hóa có thể được thực hiện để cải biến tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC).

Sáng chế cũng đề xuất kháng thể và đoạn liên kết với kháng nguyên của nó cạnh tranh việc liên kết đặc hiệu với MERS-CoV-S với kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó chứa các CDR của HCVR và các CDR của LCVR, trong đó mỗi HCVR và LCVR có trình tự axit amin được chọn từ các trình tự HCVR và LCVR nêu trong bảng 2.

Sáng chế cũng đề xuất kháng thể và đoạn liên kết với kháng nguyên của nó cạnh tranh liên kết chéo với MERS-CoV-S với kháng thể tham chiếu và đoạn liên kết với kháng nguyên của nó chứa các CDR của HCVR và các CDR của LCVR, trong đó mỗi

HCVR và LCVR có trình tự axit amin được chọn từ các trình tự HCVR và LCVR nêu trong bảng 2.

Theo một số phương án, kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó có thể liên kết đặc hiệu với MERS-CoV-S theo cách chủ vận, tức là, nó có thể tăng cường hoặc kích thích sự liên kết và/hoặc hoạt tính MERS-CoV-S; theo các phương án khác, kháng thể này có thể liên kết đặc hiệu với MERS-CoV-S theo cách chủ vận, tức là, nó có thể phong bế MERS-CoV-S để không liên kết được với thụ thể của nó (DPP4).

Sáng chế cũng đề xuất kháng thể và đoạn liên kết với kháng nguyên của nó được phân lập phong bế protein gai của MERS-CoV để không liên kết được với DPP4. Theo một số phương án, kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó phong bế protein gai của MERS-CoV để không liên kết được với DPP4 có thể liên kết với cùng epitop trên protein gai của MERS-CoV so với DPP4 hoặc có thể liên kết với epitop khác trên protein gai của MERS-CoV so với DPP4. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó phong bế sự liên kết của MERS-CoV-S với DPP4 của người, lạc đà hoặc dơi.

Theo một số phương án, kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên theo sáng chế là hai đặc hiệu bao gồm đặc hiệu liên kết thứ nhất với epitop thứ nhất trong vùng liên kết với thụ thể của protein gai của MERS-CoV và đặc hiệu liên kết thứ hai với epitop thứ hai trong vùng liên kết với thụ thể của protein gai của MERS-CoV trong đó các epitop thứ nhất và thứ hai là khác biệt và không chồng lấp.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó được phân lập có một hoặc nhiều đặc điểm sau: (a) kháng thể đơn dòng của người hoàn toàn; (b) được phân lập từ dòng tế bào lai được chọn từ nhóm bao gồm HBVX06H05, HBVX11H04, HBVX11D02, HBVZ10E10, HBVY09F08, HBVZ05G02, HBVZ09B06, HBVY01F08, HBVY10G02, HBVY04B06, HBVY07D10, HBVZ08A09, HBVZ05G04, HBVY06C07, HBVY03H06, HBVZ10G06, HBVZ04F10, HBVX11E09, HBVY06H09, HBVZ05B11, HBVY02E05 và HBVZ04C07; (c) tương tác với một hoặc nhiều gốc axit amin trong vùng liên kết với thụ thể của protein gai của MERS-CoV được chọn từ các gốc axit amin 367 đến 606 của SEQ ID NO: 457; (d) liên kết với protein gai của MERS-CoV với hằng số phân ly K_D nhỏ hơn $10^{-9}M$, khi đo bằng thử nghiệm cộng hưởng plasmon bề mặt; (e) phong bế sự liên kết của protein gai của MERS-CoV với dipeptidyl peptidaza 4 (DPP4) lớn hơn 90%, khi đo bằng thử nghiệm ELISA phong bế; (f) trung hòa tính gây nhiễm của MERS-CoV vào tế bào chủ người lớn hơn 90% và với IC_{50} nhỏ hơn 4nM, khi đo bằng thử nghiệm trung hòa hạt tương tự virus (virus-like particle: VLP); (g) trung hòa tính gây nhiễm của MERS-CoV trong đó MERS-CoV bao

gồm thể phân lập virus được chọn từ nhóm bao gồm EMC/2012, Jordan-N3/2012, England-Qatar/2012, Al-Hasa_1_2013, Al-Hasa_2_2013, Al-Hasa_3_2013, Al-Hasa_4_2013, Al-Hasa_12, Al-Hasa_15, Al-Hasa_16, Al-Hasa_17, Al-Hasa_18, Al-Hasa_19, Al-Hasa_21, Al-Hasa_25, Bisha_1, Buraidah_1, England 1, Hafr-Al-batin_1, Hafr-Al-Batin_2, Hafr-Al-Batin_6, Jeddah_1, KFU-HKU 1, KFU-HKU 13, Munich, Qatar3, Qatar4, Riyadh_1, Riyadh_2, Riyadh_3, Riyadh_3, Riyadh_4, Riyadh_5, Riyadh_9, Riyadh_14, Taif_1, UAE, và Wadi-Ad-Dawasir; và (h) là kháng thể hai đặc hiệu bao gồm đặc hiệu liên kết thứ nhất với epitop thứ nhất trong vùng liên kết với thụ thể của protein gai của MERS-CoV và đặc hiệu liên kết thứ hai với epitop thứ hai trong vùng liên kết với thụ thể của protein gai của MERS-CoV trong đó các epitop thứ nhất và thứ hai là khác biệt và không chồng lấp.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa kháng thể kháng MERS-CoV-S hoặc phần của nó. Ví dụ, sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin của HCVR nêu trong bảng 2; theo một số phương án phân tử axit nucleic chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic của HCVR nêu trong bảng 3, hoặc trình tự hầu như đồng nhất với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99%.

Sáng chế cũng đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin của LCVR nêu trong bảng 2; theo một số phương án phân tử axit nucleic chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic của LCVR nêu trong bảng 3, hoặc trình tự hầu như đồng nhất với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99%.

Sáng chế cũng đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin của HCDR1 nêu trong bảng 2; theo một số phương án phân tử axit nucleic chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic của HCDR1 nêu trong bảng 3, hoặc trình tự hầu như đồng nhất với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99%.

Sáng chế cũng đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin của HCDR2 nêu trong bảng 2; theo một số phương án phân tử axit nucleic chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic của HCDR2 nêu trong bảng 3, hoặc trình tự hầu như đồng nhất với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99%.

Sáng chế cũng đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin của HCDR3 nêu trong bảng 2; theo một số phương án phân tử axit nucleic

chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic của HCDR3 nêu trong bảng 3, hoặc trình tự hầu như đồng nhất với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99%.

Sáng chế cũng đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin của LCDR1 nêu trong bảng 2; theo một số phương án phân tử axit nucleic chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic của LCDR1 nêu trong bảng 3, hoặc trình tự hầu như đồng nhất với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99%.

Sáng chế cũng đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin của LCDR2 nêu trong bảng 2; theo một số phương án phân tử axit nucleic chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic của LCDR2 nêu trong bảng 3, hoặc trình tự hầu như đồng nhất với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99%.

Sáng chế cũng đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin của LCDR3 nêu trong bảng 2; theo một số phương án phân tử axit nucleic chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic của LCDR3 nêu trong bảng 3, hoặc trình tự hầu như đồng nhất với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99%.

Sáng chế cũng đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa HCVR, trong đó HCVR chứa bộ gồm ba CDR (tức là HCDR1-HCDR2-HCDR3), trong đó bộ trình tự axit amin HCDR1-HCDR2-HCDR3 được xác định bởi kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể kháng MERS-CoV-S được lấy làm ví dụ nêu trong bảng 2.

Sáng chế cũng đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa LCVR, trong đó LCVR chứa bộ gồm ba CDR (tức là LCDR1-LCDR2-LCDR3), trong đó bộ trình tự axit amin LCDR1-LCDR2-LCDR3 được xác định bởi kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể kháng MERS-CoV-S được lấy làm ví dụ nêu trong bảng 2.

Sáng chế cũng đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa cả HCVR lẫn LCVR, trong đó HCVR chứa trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin của HCVR nêu trong bảng 2, và trong đó LCVR chứa trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin của LCVR nêu trong bảng 2. Theo một số phương án, phân tử axit nucleic chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic của HCVR nêu trong bảng 3, hoặc trình tự hầu như đồng nhất với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98% hoặc ít nhất 99%, và trình tự axit nucleic được chọn từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic của LCVR nêu trong bảng 3, hoặc trình tự hầu như đồng nhất với nó có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, ít nhất 95%, ít nhất 98%

hoặc ít nhất 99%. Theo một số phương án của khía cạnh này theo sáng chế, phân tử axit nucleic mã hóa HCVR và LCVR, trong đó cả HCVR lẫn LCVR đều được tạo ra từ cùng kháng thể kháng MERS-CoV-S nêu trong bảng 2.

Sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin của chuỗi nặng nêu trong bảng 2. Sáng chế cũng đề xuất phân tử axit nucleic mã hóa trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin của chuỗi nhẹ nêu trong bảng 2.

Theo khía cạnh liên quan, sáng chế đề xuất vector biểu hiện tái tổ hợp có khả năng biểu hiện polypeptit chứa vùng biến đổi của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể kháng MERS-CoV-S. Ví dụ, sáng chế đề xuất vector biểu hiện tái tổ hợp chứa phân tử bất kỳ trong số các phân tử axit nucleic nêu trên, tức là, phân tử axit nucleic mã hóa trình tự bất kỳ trong số các trình tự HCVR, LCVR, và/hoặc CDR nêu trong bảng 3. Cũng nằm trong phạm vi của sáng chế là tế bào chủ mà vector này được cài vào, cũng như phương pháp sản xuất kháng thể hoặc phần của nó bằng cách nuôi cấy tế bào chủ này trong các điều kiện cho phép tạo ra kháng thể hoặc đoạn kháng thể, và thu kháng thể và đoạn kháng thể được tạo ra.

Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế đề xuất được phẩm chứa lượng hữu hiệu điều trị của ít nhất một kháng thể đơn dòng tái tổ hợp hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với protein gai của MERS-CoV và chất mang được dụng. Theo khía cạnh liên quan, sáng chế đề xuất được phẩm là tổ hợp của kháng thể kháng MERS-CoV-S và chất điều trị thứ hai. Theo một phương án, chất điều trị thứ hai là chất bất kỳ được kết hợp có lợi với kháng thể kháng MERS-CoV-S. Các chất được lấy làm ví dụ mà có thể được kết hợp có lợi với kháng thể kháng MERS-CoV-S bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất khác mà có thể liên kết và/hoặc ức chế hoạt tính của MERS-CoV (bao gồm kháng thể khác hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, v.v.) và/hoặc các chất không liên kết trực tiếp với MERS-CoV-S nhưng ức chế hoạt tính virus bao gồm tính gây nhiễm tế bào chủ. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất được phẩm chứa: (a) kháng thể kháng MERS-CoV-S thứ nhất hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó; (b) kháng thể kháng MERS-CoV-S thứ hai hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, trong đó kháng thể thứ nhất liên kết với epitop thứ nhất trên protein gai của MERS-CoV và kháng thể thứ hai liên kết với epitop thứ hai trên protein gai của MERS-CoV trong đó các epitop thứ nhất và thứ hai là khác biệt và không chồng lấp; và (c) chất mang hoặc chất pha loãng được dụng. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất được phẩm chứa: (a) kháng thể kháng MERS-CoV-S thứ nhất hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó; (b) kháng thể kháng MERS-CoV-S thứ hai hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, trong đó kháng thể thứ nhất không cạnh tranh chéo với kháng thể thứ hai về việc liên kết với protein gai

của MERS-CoV; và (c) chất mang hoặc chất pha loãng được dụng. Các liệu pháp kết hợp và chế phẩm kết hợp khác bao gồm kháng thể kháng MERS-CoV-S theo sáng chế cũng được bộc lộ trong bản mô tả này.

Theo khía cạnh thứ tư, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị để điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến MERS-CoV như bệnh nhiễm virus ở đối tượng bằng cách sử dụng kháng thể kháng MERS-CoV-S hoặc phân liên kết với kháng nguyên của kháng thể theo sáng chế, trong đó phương pháp điều trị bao gồm việc cho đối tượng cần điều trị sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của dược phẩm chứa kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của kháng thể theo sáng chế. Rối loạn cần điều trị là bệnh hoặc tình trạng bệnh lý bất kỳ được cải thiện, làm giảm nhẹ, ức chế hoặc ngăn ngừa bằng cách ức chế hoạt tính của MERS-CoV. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa, điều trị hoặc làm giảm nhẹ ít nhất một triệu chứng nhiễm MERS-CoV, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng cần điều trị sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của kháng thể kháng MERS-CoV-S hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo sáng chế. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm nhẹ hoặc làm giảm mức độ nghiêm trọng của ít nhất một triệu chứng hoặc dấu hiệu nhiễm MERS ở đối tượng bằng cách sử dụng kháng thể kháng MERS-CoV-S theo sáng chế, trong đó ít nhất một triệu chứng hoặc dấu hiệu được chọn từ nhóm bao gồm viêm ở phổi, thương tổn phế nang, sốt, ho, khó thở, tiêu chảy, suy tạng, bệnh viêm phổi, sốc nhiễm trùng và tử vong. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp làm giảm tải lượng virus ở đối tượng, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng sử dụng lượng hữu hiệu của kháng thể hoặc đoạn của nó theo sáng chế mà liên kết với MERS-CoV-S và phong bế MERS-CoV-S để không liên kết được với thụ thể tế bào chủ DPP4. Theo một số phương án, kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó được sử dụng để phòng hoặc điều trị cho đối tượng nhiễm hoặc có nguy cơ nhiễm MERS. Đối tượng có nguy cơ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, người bị tổn thương miễn dịch, người cao tuổi (trên 65 tuổi), trẻ trên 2 tuổi, khách du lịch đến các nước Trung Đông (như Ả Rập Saudi, Tiểu vương quốc Ả Rập thống nhất, Qatar, v.v.), nhân viên y tế, người lớn hoặc trẻ em tiếp xúc gần gũi với người được xác định hoặc nghi nhiễm MERS, hoặc những người mắc các tình trạng bệnh lý như bệnh nhiễm phổi, bệnh tim hoặc bệnh đái tháo đường. Theo một số phương án, kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo sáng chế được sử dụng kết hợp với chất điều trị thứ hai cho đối tượng cần điều trị. Chất điều trị thứ hai có thể được chọn từ nhóm bao gồm dược chất kháng viêm (như corticosteroid, và dược chất kháng viêm không phải steroid), dược chất chống nhiễm, kháng thể khác đối với protein gai của MERS-CoV, dược chất kháng virus, vaccin ngừa MERS-CoV, thực phẩm bổ sung như chất chống oxy hóa và

được chất khác bất kỳ đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Theo một số phương án, chất điều trị thứ hai có thể giúp chống hoặc làm giảm các tác dụng phụ có thể có bất kỳ liên quan đến kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo sáng chế, nếu các tác dụng phụ này có thể xảy ra. Kháng thể hoặc đoạn của nó có thể được sử dụng qua đường dưới da, trong tĩnh mạch, trong da, trong màng bụng, qua đường miệng, trong cơ, hoặc trong sọ. Theo một phương án, kháng thể có thể được sử dụng dưới dạng truyền tĩnh mạch duy nhất đối với nồng độ kháng thể cực đại trong huyết thanh của đối tượng. Kháng thể hoặc đoạn của nó có thể được sử dụng ở liều 0,1mg/kg thể trọng đến 100mg/kg thể trọng của đối tượng. Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế có thể được sử dụng ở một hoặc nhiều liều chứa lượng nằm trong khoảng từ 50mg đến 600mg.

Sáng chế cũng đề cập đến việc sử dụng kháng thể kháng MERS-CoV-S hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo sáng chế để sản xuất dược phẩm để điều trị bệnh hoặc rối loạn mà có thể hữu ích bằng cách phong bế sự liên kết và/hoặc hoạt tính của MERS-CoV.

Các phương án khác sẽ trở nên rõ ràng bằng việc xem xét phần mô tả chi tiết sáng chế.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là bảng nêu các dịch nổi tế bào lai kháng thể (nêu ở cột 1 bằng ký hiệu nhận dạng mẫu của chúng) và các đặc tính của chúng trong các thử nghiệm liên kết, phong bế và trung hòa, như được mô tả đầu đó trong bản mô tả này.

Fig.2 là ma trận thể hiện kết quả của thử nghiệm cạnh tranh chéo kháng thể trong đó kháng thể kháng MERS-CoV-S thứ nhất (mAb-1) được gắn vào đầu cảm biến đã phủ MERS RBD, tiếp theo xử lý bằng kháng thể kháng MERS-CoV-S thứ hai (mAb-2). Các đáp ứng liên kết (các trị số nằm trong khoảng từ -0,05 đến 0,64) đối với mỗi tổ hợp kháng thể thử nghiệm được mô tả. Các hộp màu xám nhạt có phong chữ màu đen đại diện cho đáp ứng liên kết tự cạnh tranh. Các kháng thể cạnh tranh theo cả hai hướng, độc lập về thứ tự liên kết với kháng nguyên, được làm nổi bật bằng các hộp màu đen có phong chữ màu trắng. Không có cạnh tranh, ám chỉ các vùng liên kết riêng biệt, được đại diện bằng các hộp màu trắng có phong chữ màu đen. Các kháng thể có độ dịch chuyển liên kết lớn hơn 0,18nm không cạnh tranh chéo với nhau.

Fig.3 là ma trận thể hiện kết quả của thử nghiệm cạnh tranh chéo kháng thể trong đó kháng thể kháng MERS-CoV-S thứ nhất (mAb-1) được gắn vào đầu cảm biến đã phủ MERS RBD, tiếp theo xử lý bằng kháng thể kháng MERS-CoV-S thứ hai (mAb-2). Các đáp ứng liên kết (trị số nằm trong khoảng từ -0,01 đến 0,55) đối với mỗi tổ hợp kháng thể

thử nghiệm được mô tả. Các hộp màu xám nhạt có phong chữ màu đen đại diện cho đáp ứng liên kết tự cạnh tranh. Các kháng thể cạnh tranh theo cả hai hướng, độc lập về thứ tự liên kết với kháng nguyên, được làm nổi bật bằng các hộp màu đen có phong chữ màu trắng. Không có cạnh tranh, ám chỉ các vùng liên kết riêng biệt, được đại diện bằng các hộp màu trắng có phong chữ màu đen. Các kháng thể có độ dịch chuyển liên kết lớn hơn 0,14nm không cạnh tranh chéo với nhau.

Fig.4 thể hiện PCR định lượng sản phẩm phiên mã MERS-CoV (ARN thông tin được phiên mã của hệ gen ngược chiều với gen vỏ – UpE) ở chuột nhất DPP4 đã nhân hóa vào các ngày 2 và 4 sau nhiễm.

Fig.5 thể hiện PCR định lượng sản phẩm phiên mã MERS-CoV (hệ gen MERS-CoV – trình tự dẫn) ở chuột nhất DPP4 đã nhân hóa vào các ngày 2 và 4 sau nhiễm.

Fig.6 thể hiện định lượng hiệu giá virus MERS-CoV ở phổi chuột bị nhiễm vào ngày 4 sau tiêm. Mức MERS-CoV ở phổi chuột được định lượng và trình bày dưới dạng pfu/ml phổi chuột đã được làm đồng nhất.

Fig.7 thể hiện PCR định lượng sản phẩm phiên mã MERS-CoV (ARN thông tin được phiên mã của hệ gen ngược chiều với gen vỏ – UpE) từ phổi chuột được xử lý bằng 200µg, 20µg, hoặc 2 µg kháng thể H1H15211P hoặc H1H15277N, hoặc bằng đối chứng isotyp hIgG một ngày trước khi gây nhiễm MERS-CoV. Tất cả các mẫu đều được so sánh với đối chứng isotyp hIgG1 đặt ở 100%.

Fig.8 thể hiện PCR định lượng sản phẩm phiên mã MERS-CoV (hệ gen MERS-CoV – trình tự dẫn) từ phổi chuột được xử lý bằng 200µg, 20µg, hoặc 2 µg kháng thể H1H15211P hoặc H1H15277N, hoặc bằng đối chứng isotyp hIgG một ngày trước khi gây nhiễm MERS-CoV. Tất cả các mẫu đều được so sánh với đối chứng isotyp hIgG1 đặt ở 100%.

Fig.9 thể hiện phân tích hiệu giá virus ở phổi khi định lượng bằng thử nghiệm vết tan và ghi lại dưới dạng pfu/ml từ phổi chuột được xử lý bằng 200µg, 20µg, hoặc 2µg kháng thể H1H15211P hoặc H1H15277N, hoặc bằng đối chứng isotyp hIgG một ngày trước khi gây nhiễm MERS-CoV. Tất cả các mẫu đều được so sánh với đối chứng isotyp hIgG1 đặt ở 100%.

Fig.10 thể hiện điểm số viêm từ phân tích mô phổi chuột được xử lý bằng 200µg, 20µg, hoặc 2µg kháng thể H1H15211P hoặc H1H15277N, hoặc bằng đối chứng isotyp hIgG một ngày trước khi gây nhiễm MERS-CoV.

Fig.11 thể hiện PCR định lượng sản phẩm phiên mã MERS-CoV (ARN thông tin được phiên mã của hệ gen ngược chiều với gen vỏ – UpE) từ phổi chuột được xử lý bằng 200µg hoặc 500µg kháng thể H1H15211P hoặc đối chứng isotyp hIgG một ngày sau khi

gây nhiễm hoặc bằng 200µg kháng thể H1H15211P một ngày trước khi gây nhiễm MERS-CoV. Tất cả các mẫu đều được so sánh với đối chứng isotyp hIgG1 đặt ở 100%.

Fig.12 thể hiện PCR định lượng sản phẩm phiên mã MERS-CoV (hệ gen MERS-CoV – trình tự dẫn) từ phổi chuột được xử lý bằng 200µg hoặc 500µg H1H15211P hoặc đối chứng isotyp hIgG một ngày sau khi gây nhiễm hoặc bằng 200µg H1H15211P một ngày trước khi gây nhiễm MERS-CoV. Tất cả các mẫu đều được so sánh với đối chứng isotyp hIgG1 đặt ở 100%.

Fig.13 thể hiện phân tích hiệu giá virut ở phổi khi định lượng bằng thử nghiệm vết tan và ghi lại dưới dạng pfu/ml từ phổi chuột được xử lý bằng 200µg hoặc 500µg H1H15211P hoặc đối chứng isotyp hIgG một ngày sau khi gây nhiễm hoặc bằng 200µg H1H15211P một ngày trước khi gây nhiễm MERS-CoV. Tất cả các mẫu đều được so sánh với đối chứng isotyp hIgG1 đặt ở 100%.

Fig.14 thể hiện điểm số viêm từ phân tích mô phổi chuột được xử lý bằng 200µg hoặc 500µg H1H15211P hoặc đối chứng isotyp hIgG một ngày sau khi gây nhiễm MERS-CoV.

Mô tả chi tiết sáng chế

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

Trừ khi có quy định khác, tất cả các thuật ngữ khoa học kỹ thuật được sử dụng trong bản mô tả này đều có nghĩa giống như thường được hiểu bởi chuyên gia trong lĩnh vực này. Mặc dù phương pháp và vật liệu bất kỳ giống hoặc tương đương với phương pháp và vật liệu được sử dụng trong bản mô tả này đều có thể được sử dụng để thực hiện hoặc thử nghiệm sáng chế, các phương pháp và vật liệu ưu tiên sẽ được mô tả. Tất cả các công bố nêu trong bản mô tả này đều được đưa vào đây theo cách viện dẫn.

Các định nghĩa

Thuật ngữ “MERS-CoV”, còn gọi là “virut MERS corona”, được dùng để chỉ virut corona gây hội chứng hô hấp Trung Đông (Middle East Respiratory Syndrome – Corona Virus) mới lưu hành được phân lập lần đầu ở Arabian peninsula vào năm 2012 (Zaki et al 2012, NEJM 367: 1814-1820) và được nhận dạng là nguyên nhân gây bùng phát bệnh hô hấp cấp nghiêm trọng. Ban đầu nó được gọi là virut corona ở người-EMC (Erasmus

Medical Centre; hCoV-EMC). Nó thuộc dòng virus beta corona 2c và gây nên bệnh hô hấp nghiêm trọng, giống với virus corona gây hội chứng hô hấp cấp nghiêm trọng (Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus: SARS-CoV) lưu hành ở Trung Quốc vào năm 2002. MERS virus corona được coi là có quan hệ gần gũi với các virus corona được tìm thấy ở dơi và lạc đà. Nhờ protein gai của virus, nó liên kết với thụ thể tế bào chủ người là dipeptidyl peptidase 4 (DPP4). Protein gai của MERS-CoV được phát hiện là liên kết với DPP4 của các loài khác, đặc biệt là dơi và lạc đà (Raj et al 2013, Nature 495: 251-254).

Thuật ngữ “MERS-CoV-S”, còn được gọi là “protein S” được dùng để chỉ protein gai của MERS virus corona. Protein gai của MERS-CoV là glycoprotein màng typ I dài 1353 axit amin tập hợp thành trimer tạo nên gai hoặc peplome trên bề mặt của hạt MERS virus corona có vỏ. Protein này có hai chức năng cơ bản, liên kết với thụ thể tế bào chủ và dung hợp màng, thuộc tính của phần đầu tận cùng N (S1, các gốc axit amin 1 – 751) và đầu tận cùng C (S2, các gốc axit amin 752 – 1353) của protein S. MERS-CoV-S liên kết với thụ thể cùng họ của nó, dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) thông qua vùng liên kết với thụ thể (receptor binding domain: RBD) dài khoảng 230 có mặt trong tiểu phần S1. Mou và các đồng tác giả (2013) J. Virology, vol 87, pages 9379-9383) chứng minh rằng MERS-CoV RBD nằm trong các gốc 358 – 588 của protein gai. Trình tự axit amin của protein gai của MERS-CoV có chiều dài đầy đủ được lấy ví dụ là trình tự axit amin của protein gai của thể phân lập MERS-CoV EMC/2012 có trong Ngân hàng gen với số lưu giữ AFS88936.1 (SEQ ID NO: 457). Thuật ngữ “MERS-CoV-S” cũng bao gồm các biến thể protein của protein gai của MERS-CoV phân lập được từ các thể phân lập MERS-CoV khác nhau, ví dụ, Jordan-N3/2012, England-Qatar/2012, Al-Hasa_1_2013, Al-Hasa_2_2013, Al-Hasa_3_2013, Al-Hasa_4_2013, Al-Hasa_12, Al-Hasa_15, Al-Hasa_16, Al-Hasa_17, Al-Hasa_18, Al-Hasa_19, Al-Hasa_21, Al-Hasa_25, Bisha_1, Buraidah_1, England_1, Hafr-Al-Batin_1, Hafr-Al-Batin_2, Hafr-Al-Batin_6, Jeddah_1, KFU-HKU_1, KFU-HKU_13, Munich, Qatar3, Qatar4, Riyadh_1, Riyadh_2, Riyadh_3, Riyadh_3, Riyadh_4, Riyadh_5, Riyadh_9, Riyadh_14, Taif_1, UAE, và Wadi-Ad-Dawasir. Thuật ngữ “MERS-CoV-S” bao gồm protein gai của MERS-CoV tái tổ hợp hoặc đoạn của nó. Thuật ngữ này cũng bao hàm protein gai của MERS-CoV hoặc đoạn của nó liên hợp với, ví dụ, đuôi histidin, Fc của chuột hoặc của người, hoặc trình tự tín hiệu như ROR1. Ví dụ, thuật ngữ này bao gồm các trình tự được lấy ví dụ là trình tự nêu trong SEQ ID NO: 458, chứa Fc của chuột (mIgG2a) hoặc Fc của người (hIgG1) ở đầu tận cùng C, liên hợp với các gốc axit amin 367 – 606 của protein gai của MERS-CoV có chiều dài đầy đủ. Thuật ngữ này cũng bao gồm các biến thể protein chứa đuôi histidin ở

đầu tận cùng C, liên hợp với các gốc axit amin 367 – 606 của protein gai của MERS-CoV có chiều dài đầy đủ.

Thuật ngữ “DPP4” được dùng để chỉ dipeptidyl peptidaza 4, thụ thể đối với MERS-CoV. DPP4 là glycoprotein xuyên màng typ II dài 766 axit amin có mặt dưới dạng dime trên bề mặt tế bào. Nó là exopeptidaza cắt các dipeptit từ hormon và chemokin sau gốc axit amin prolin, nhờ đó điều hòa hoạt tính sinh học của chúng. Ở người, DPP4 chủ yếu được biểu hiện trên tế bào biểu mô ở thận, ruột non, gan và tiền liệt tuyến, trên tế bào có lông nhung và không có lông nhung trong đường hô hấp trên và dưới, và trên tế bào miễn dịch (tức là CD4+, CD8+, tế bào gai và đại thực bào). Trừ khi được chỉ rõ là từ loài không phải người, thuật ngữ “DPP4”, khi được sử dụng trong bản mô tả này, có nghĩa là DPP4 của người.

Thuật ngữ “bệnh nhiễm MERS” hoặc “bệnh nhiễm MERS-CoV”, khi được sử dụng trong bản mô tả này, cũng được xác định là hội chứng hô hấp Trung Đông được dùng để chỉ bệnh đường hô hấp cấp nghiêm trọng do MERS virus corona gây ra và lần đầu được thông báo ở Ả Rập Saudi vào năm 2012. Thuật ngữ này bao gồm bệnh nhiễm đường hô hấp, thường trong đường hô hấp dưới. Các triệu chứng bao gồm sốt cao, ho, khó thở, viêm phổi, các triệu chứng đại tràng-ruột như tiêu chảy, suy tạng (suy thận và loạn chức năng thận), sốc nhiễm trùng và tử vong ở các ca nghiêm trọng.

Thuật ngữ “kháng thể”, khi được sử dụng trong bản mô tả này, được dùng để chỉ phân tử globulin miễn dịch chứa bốn chuỗi polypeptit, hai chuỗi nặng (H) và hai chuỗi nhẹ (L) nối với nhau nhờ các liên kết disulfua (tức là “phân tử kháng thể đầy đủ”), cũng như các multimer của nó (ví dụ IgM) hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó. Mỗi chuỗi nặng được cấu tạo bởi vùng biến đổi của chuỗi nặng (“HCVR” hoặc “V_H”) và vùng ổn định của chuỗi nặng (được cấu tạo bởi các vùng C_{H1}, C_{H2} và C_{H3}). Mỗi chuỗi nhẹ được cấu tạo bởi vùng biến đổi của chuỗi nhẹ (“LCVR or “V_L”) và vùng ổn định của chuỗi nhẹ (C_L). Các vùng V_H và V_L có thể được chia nhỏ tiếp thành vùng siêu biến, gọi là vùng quyết định tính bổ trợ (Complementarity determining region: CDR), nằm rải rác là các vùng có tính bảo toàn hơn, gọi là vùng khung (Framework region: FR). Mỗi V_H và V_L được cấu tạo bởi ba CDR và bốn FR, bố trí từ đầu tận cùng amino đến đầu tận cùng carboxy theo thứ tự sau: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Theo một số phương án của sáng chế, các FR của kháng thể (hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của chúng) có thể giống với các trình tự dòng mầm của người, hoặc có thể được cải biến tự nhiên hoặc nhân tạo. Trình tự liên ứng axit amin có thể được xác định trên cơ sở phân tích hai hoặc nhiều CDR cạnh nhau.

Việc thay thế một hoặc nhiều gốc CDR hoặc bỏ một hoặc nhiều CDR có thể được

thực hiện. Nhiều kháng thể đã được mô tả trong tài liệu khoa học trong đó một hoặc hai CDR có thể không tham gia vào liên kết. Padlan *et al.* (1995 FASEB J. 9:133-139) phân tích các vùng tiếp xúc giữa kháng thể và kháng nguyên của nó, trên cơ sở cấu trúc tinh thể đã công bố, và kết luận rằng chỉ khoảng 1/5 đến 1/3 số gốc CDR thực sự tiếp xúc với kháng nguyên. Padlan cũng phát hiện ra nhiều kháng thể trong đó một hoặc hai CDR không có axit amin nào tiếp xúc với kháng nguyên (cũng xem, Vajdos *et al.* 2002 J Mol Biol 320:415-428).

Các gốc CDR không tiếp xúc với kháng nguyên có thể được nhận dạng trên cơ sở các nghiên cứu trước đó (ví dụ, các gốc H60-H65 trong CDRH2 thường là không cần thiết), từ các vùng của CDR Kabat nằm ngoài CDR Chothia, bằng mô hình phân tử và/hoặc thực nghiệm. Nếu một CDR hoặc gốc của nó bị loại bỏ, nó thường được thay thế bằng axit amin chiếm vị trí tương ứng trong trình tự kháng thể người khác hoặc liên ứng của các trình tự này. Các vị trí thay thế trong CDR và axit amin dùng để thay thế cũng có thể được chọn bằng thực nghiệm. Các thay thế thực nghiệm có thể là các thay thế bảo toàn hoặc không bảo toàn.

Các kháng thể đơn dòng kháng MERS-CoV-S của người hoàn toàn được mô tả trong bản mô tả này có thể chứa một hoặc nhiều axit amin thay thế, cài và/hoặc loại bỏ trong các vùng khung và/hoặc CDR của các vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ so với các trình tự dòng mầm tương ứng. Các đột biến này có thể dễ dàng xác định được bằng cách so sánh các trình tự axit amin được bộc lộ trong bản mô tả này với các trình tự dòng mầm sử dụng được, ví dụ, từ các cơ sở dữ liệu trình tự kháng thể đã công bố. Sáng chế bao gồm kháng thể, và đoạn liên kết với kháng nguyên của nó, được tạo ra từ trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin được bộc lộ trong bản mô tả này, trong đó một hoặc nhiều axit amin nằm trong một hoặc nhiều vùng khung và/hoặc CDR được đột biến so với các gốc tương ứng của trình tự dòng mầm mà từ đó kháng thể được tạo ra, hoặc so với các gốc tương ứng của trình tự dòng mầm của người khác, hoặc so với axit amin thay thế bảo toàn tương ứng của các gốc dòng mầm tương ứng (các thay đổi như vậy trong bản mô tả này được gọi chung là "đột biến dòng mầm"). Chuyên gia trong lĩnh vực này, xuất phát từ các trình tự vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được bộc lộ trong bản mô tả này, có thể dễ dàng tạo ra nhiều kháng thể và đoạn liên kết với kháng nguyên của nó chứa một hoặc nhiều đột biến dòng mầm riêng rẽ hoặc tổ hợp của chúng. Theo một số phương án, tất cả các gốc khung và/hoặc CDR trong các vùng V_H và/hoặc V_L đều được đột biến ngược so với các gốc được tìm thấy trong trình tự dòng mầm ban đầu mà từ đó kháng thể được tạo ra. Theo các phương án khác, chỉ có một số gốc được đột biến ngược so với trình tự dòng mầm ban đầu, ví dụ, chỉ có các gốc đột biến được tìm thấy bên trong 8 axit

amin đầu tiên của FR1 hoặc bên trong 8 axit amin cuối cùng của FR4, hoặc chỉ có các gốc đột biến được tìm thấy bên trong CDR1, CDR2 hoặc CDR3. Theo các phương án khác, một hoặc nhiều gốc khung và/hoặc CDR được đột biến so với các gốc tương ứng của trình tự dòng mầm khác (tức là trình tự dòng mầm khác với trình tự dòng mầm mà từ đó kháng thể ban đầu được tạo ra). Hơn thế nữa, kháng thể theo sáng chế có thể chứa tổ hợp bất kỳ của hai hoặc nhiều đột biến dòng mầm nằm trong các vùng khung và/hoặc CDR, ví dụ, trong đó một số gốc riêng rẽ được đột biến so với gốc tương ứng của trình tự dòng mầm cụ thể trong khi một số gốc khác mà khác với trình tự dòng mầm ban đầu được duy trì hoặc được đột biến so với gốc tương ứng của trình tự dòng mầm ban đầu. Sau khi thu được, kháng thể và đoạn liên kết với kháng nguyên của nó chứa một hoặc nhiều trình tự dòng mầm có thể dễ dàng được thử một hoặc nhiều đặc tính mong muốn, như đặc hiệu liên kết được cải thiện, ái lực liên kết được gia tăng, các đặc tính sinh học đối kháng hoặc chủ vận được cải thiện hoặc được tăng cường (như trường hợp này), tính gây miễn dịch giảm, v.v. Kháng thể và đoạn liên kết với kháng nguyên của nó thu được theo cách chung này nằm trong phạm vi của sáng chế.

Sáng chế cũng bao gồm kháng thể đơn dòng kháng MERS-CoV-S của người hoàn toàn chứa các biến thể của trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCVR, LCVR và/hoặc CDR được bộc lộ trong bản mô tả này có một hoặc nhiều axit amin thay thế bảo toàn. Ví dụ, sáng chế bao gồm kháng thể kháng MERS-CoV có các trình tự axit amin HCVR, LCVR và/hoặc CDR có, ví dụ, 10 hoặc ít hơn, 8 hoặc ít hơn, 6 hoặc ít hơn, 4 hoặc ít hơn, v.v. axit amin thay thế bảo toàn so với trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCVR, LCVR và/hoặc CDR được bộc lộ trong bản mô tả này.

Thuật ngữ “kháng thể người”, khi được sử dụng trong bản mô tả này, được dự tính bao gồm các kháng thể có các vùng biến đổi và vùng ổn định được tạo ra từ các trình tự globulin miễn dịch dòng mầm của người. mAb của người theo sáng chế có thể bao gồm các gốc axit amin không được mã hóa bởi các trình tự globulin miễn dịch dòng mầm của người (ví dụ, các đột biến được đưa vào bằng cách gây đột biến ngẫu nhiên hoặc đặc hiệu vị trí *in vitro* hoặc bằng cách gây đột biến soma *in vivo*), ví dụ, trong CDR và cụ thể là trong CDR3. Tuy nhiên, thuật ngữ “kháng thể người”, khi được sử dụng trong bản mô tả này, không được dự tính bao gồm mAb trong đó các trình tự CDR được tạo ra từ dòng mầm của loài động vật có vú khác (ví dụ, chuột), được ghép với các trình tự FR của người. Thuật ngữ này bao gồm kháng thể được tạo ra bằng con đường tái tổ hợp ở động vật có vú không phải người, hoặc trong tế bào của động vật có vú không phải người. Thuật ngữ này không được dự tính bao gồm kháng thể được phân lập hoặc tạo ra từ người.

Thuật ngữ “tái tổ hợp”, khi được sử dụng trong bản mô tả này, được dùng để chỉ kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo sáng chế được tạo ra, biểu hiện, phân lập hoặc thu bằng các kỹ thuật hoặc phương pháp đã được biết rõ trong lĩnh vực này như công nghệ ADN tái tổ hợp, ví dụ, cắt ghép ADN và biểu hiện gen chuyển. Thuật ngữ này được dùng để chỉ các kháng thể được biểu hiện ở động vật có vú không phải người (bao gồm các động vật có vú không phải người chuyển gen, ví dụ, chuột chuyển gen), hoặc tế bào (ví dụ, tế bào CHO) hệ biểu hiện hoặc được phân lập từ ngân hàng kháng thể người tái tổ hợp.

Thuật ngữ “liên kết đặc hiệu,” hoặc “liên kết đặc hiệu với”, hoặc thuật ngữ tương tự, có nghĩa là kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó tạo ra phức chất với kháng nguyên tương đối ổn định trong các điều kiện sinh lý. Sự liên kết đặc hiệu có thể được xác định bằng hằng số phân ly cần bằng ít nhất 1×10^{-8} M hoặc nhỏ hơn (ví dụ, K_D càng nhỏ thì sự liên kết càng chặt). Các phương pháp xác định hai phân tử có liên kết đặc hiệu với nhau hay không là đã được biết rõ trong lĩnh vực này và bao gồm, ví dụ, thẩm tách cân bằng, cộng hưởng plasmon bề mặt, và phương pháp tương tự. Như được mô tả trong bản mô tả này, kháng thể đã được nhận dạng bằng cộng hưởng plasmon bề mặt, ví dụ, BIACORE™, liên kết đặc hiệu với MERS-CoV-S. Hơn nữa, kháng thể nhiều đặc hiệu liên kết với một vùng trong MERS-CoV-S và một hoặc nhiều kháng nguyên bổ sung hoặc kháng thể hai đặc hiệu liên kết với hai cùng khác nhau của MERS-CoV-S được coi là các kháng thể “liên kết đặc hiệu”, khi được sử dụng trong bản mô tả này.

Thuật ngữ kháng thể “ái lực cao” được dùng để chỉ mAb có ái lực liên kết với MERS-CoV-S, được thể hiện bằng K_D , ít nhất 10^{-8} M; tốt hơn là 10^{-9} M; tốt hơn nữa là 10^{-10} M, thậm chí tốt hơn là 10^{-11} M, thậm chí tốt hơn là 10^{-12} M, khi đo bằng cộng hưởng plasmon bề mặt, ví dụ, BIACORE™ hoặc ELISA ái lực dung dịch.

Thuật ngữ “tốc độ phân ly chậm”, “Koff” hoặc “kd” có nghĩa là kháng thể phân ly khỏi MERS-CoV, với hằng số tốc độ 1×10^{-3} giây⁻¹ hoặc nhỏ hơn, tốt hơn là 1×10^{-4} giây⁻¹ hoặc nhỏ hơn, khi xác định bằng cộng hưởng plasmon bề mặt, ví dụ, BIACORE™.

Các thuật ngữ “phân liên kết với kháng nguyên” của kháng thể, “đoạn liên kết với kháng nguyên” của kháng thể, và thuật ngữ tương tự, khi được sử dụng trong bản mô tả này, bao gồm polypeptit hoặc glycoprotein bất kỳ có mặt tự nhiên, thu được bằng enzym, tổng hợp hoặc thao tác di truyền mà liên kết đặc hiệu với kháng nguyên để tạo ra phức chất. Các thuật ngữ “đoạn liên kết với kháng nguyên” của kháng thể, hoặc “đoạn kháng thể”, khi được sử dụng trong bản mô tả này, được dùng để chỉ một hoặc nhiều đoạn kháng thể vẫn giữ được khả năng liên kết với protein gai của MERS-CoV.

Theo các phương án cụ thể, kháng thể hoặc đoạn kháng thể theo sáng chế có thể

được liên hợp với nhóm như phối tử hoặc nhóm điều trị (“thể liên hợp miễn dịch”), such như được chất kháng virus, kháng thể kháng MERS-CoV-S thứ hai, hoặc nhóm điều trị khác bất kỳ hữu ích để điều trị bệnh nhiễm do MERS-CoV gây ra.

"Kháng thể được phân lập", khi được sử dụng trong bản mô tả này, được dùng để chỉ kháng thể hầu như không chứa kháng thể (Ab) khác có các đặc hiệu liên kết khác nhau (ví dụ, kháng thể được phân lập liên kết đặc hiệu với MERS-CoV-S, hoặc đoạn của nó, hầu như không chứa Ab liên kết đặc hiệu với các kháng nguyên không phải MERS-CoV-S).

"Kháng thể phong bế" hoặc "kháng thể trung hòa", khi được sử dụng trong bản mô tả này (hoặc "kháng thể trung hòa hoạt tính MERS-CoV-S" hoặc "kháng thể đối kháng"), được dùng để chỉ kháng thể mà sự liên kết của nó với MERS-CoV-S dẫn đến ức chế ít nhất một hoạt tính sinh học của MERS-CoV. Ví dụ, kháng thể theo sáng chế có thể ngăn ngừa hoặc phong bế MERS-CoV liên kết với DPP4.

Thuật ngữ “cộng hưởng plasmon bề mặt”, khi được sử dụng trong bản mô tả này, được dùng để chỉ hiện tượng quang học cho phép phân tích các tương tác phân tử sinh học thời gian thực bằng cách phát hiện các biến đổi về nồng độ protein trong chất nền cảm biến sinh học, ví dụ, bằng cách sử dụng hệ thống BIACORE™ (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.).

Thuật ngữ “ K_D ”, khi được sử dụng trong bản mô tả này, được dùng để chỉ hằng số phân ly cân bằng của tương tác kháng nguyên-kháng thể cụ thể.

Thuật ngữ “epitop” được dùng để chỉ quyết định tổ kháng nguyên tương tác với vị trí liên kết với kháng nguyên đặc hiệu trong vùng biến đổi của phân tử kháng thể được biết là paratop. Kháng nguyên đơn lẻ có thể có nhiều hơn một epitop. Do đó, các kháng thể khác nhau có thể có thể liên kết với các vùng khác nhau trên kháng nguyên và có thể có các tác dụng sinh học khác nhau. Thuật ngữ “epitop” cũng được dùng để chỉ vị trí trên kháng nguyên mà các tế bào B và/hoặc T đáp ứng. Nó cũng được dùng để chỉ vùng kháng nguyên được liên kết bởi kháng thể. Epitop có thể được xác định là cấu trúc hoặc chức năng. Epitop cấu trúc thường là tiểu nhóm epitop cấu trúc và có các gốc góp phần trực tiếp tạo ra ái lực của tương tác. Epitop cũng có thể là cấu hình, nghĩa là được cấu tạo bởi các axit amin không mạch thẳng. Theo một số phương án, epitop có thể bao gồm các quyết định tổ là nhóm phân tử bề mặt có hoạt tính hóa học, như axit amin, mạch bên đường, nhóm phosphoryl, hoặc nhóm sulfonyl, và, theo một số phương án, có thể có các đặc tính cấu trúc ba chiều đặc hiệu, và/hoặc các đặc tính điện tích đặc hiệu.

Thuật ngữ “cạnh tranh chéo”, khi được sử dụng trong bản mô tả này, có nghĩa là kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó liên kết với kháng nguyên và ức

chế hoặc phong bế sự liên kết của kháng thể khác hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó. Thuật ngữ này cũng bao gồm sự cạnh tranh giữa hai kháng thể theo cả hai hướng, tức là, kháng thể thứ nhất liên kết và phong bế sự liên kết của kháng thể thứ hai và ngược lại. Theo một số phương án, kháng thể thứ nhất và kháng thể thứ hai có thể liên kết với cùng epitop. Theo cách khác, kháng thể thứ nhất và kháng thể thứ hai có thể liên kết với các epitop khác nhau, song chồng lấp sao cho sự liên kết của kháng thể thứ nhất ức chế hoặc phong bế sự liên kết của kháng thể thứ hai, ví dụ, nhờ án ngữ không gian. Sự cạnh tranh chéo giữa các kháng thể có thể được đo bằng các phương pháp đã được biết rõ trong lĩnh vực này, ví dụ, bằng thử nghiệm giao thoa lớp sinh học không đánh dấu, thời gian thực (label-free bio-layer interferometry assay). Sự cạnh tranh chéo giữa hai kháng thể có thể được thể hiện dưới dạng liên kết của kháng thể thứ hai nhỏ hơn tín hiệu nền do sự liên kết bản thân-bản thân (trong đó các kháng thể thứ nhất và thứ hai là cùng kháng thể). Sự cạnh tranh chéo giữa hai kháng thể có thể được thể hiện dưới dạng, ví dụ, % liên kết của kháng thể thứ hai nhỏ hơn liên kết nền bản thân-bản thân cơ sở (trong đó các kháng thể thứ nhất và thứ hai là cùng kháng thể).

Thuật ngữ “hầu như đồng nhất”, khi được dùng để chỉ axit nucleic hoặc đoạn của nó, chỉ ra rằng, khi được sắp hàng tối ưu với các nucleotit cài hoặc mất với axit nucleic khác (hoặc sợi bổ trợ của nó), có sự đồng nhất về trình tự nucleotit ít nhất 90%, và tốt hơn nữa là ít nhất 95%, 96%, 97%, 98% hoặc 99% bazơ nucleotit, khi đo bằng phương pháp đồng nhất trình tự đã biết bất kỳ, như FASTA, BLAST hoặc GAP, như được bàn luận bên dưới. Phân tử axit nucleic có mức hầu như đồng nhất với phân tử axit nucleic tham chiếu có thể, trong một số trường hợp, mã hóa polypeptit có cùng trình tự axit amin hoặc có trình tự axit amin hầu như giống so với polypeptit được mã hóa bởi phân tử axit nucleic tham chiếu.

Khi áp dụng cho polypeptit, thuật ngữ “mức hầu như giống” hoặc “hầu như giống” có nghĩa là hai trình tự peptit, khi được sắp hàng tối ưu, như như bằng các chương trình GAP hoặc BESTFIT bằng cách sử dụng các trọng lượng khoảng trống mặc định, có mức đồng nhất trình tự ít nhất 90%, thậm chí tốt hơn là ít nhất 95%, 98% hoặc 99%. Tốt hơn là, các vị trí gốc, là không đồng nhất, khác nhau bởi các axit amin thay thế bảo toàn. “thay thế axit amin bảo toàn” là thay thế trong đó gốc axit amin được thay thế bằng gốc axit amin khác có mạch bên (nhóm R) có các đặc tính hóa học giống nhau (ví dụ, điện tích hoặc độ kỵ nước). Nói chung, thay thế axit amin bảo toàn sẽ hầu như không làm thay đổi các đặc tính chức năng của protein. Trong trường hợp hai hoặc nhiều trình tự axit amin khác nhau bởi các thay thế bảo toàn, phần trăm hoặc mức độ giống nhau có thể được điều chỉnh tăng cho đúng với tính chất bảo toàn của thay thế. Phương pháp điều chỉnh được

chuyên gia trong lĩnh vực này biết rõ. Xem, ví dụ, Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331, được đưa vào trong bản mô tả này theo cách viện dẫn. Các ví dụ về nhóm axit amin có các mạch bên có các đặc tính hóa học giống nhau bao gồm 1) mạch bên béo: glyxin, alanin, valin, loxin và isoloxin; 2) mạch bên hydroxyl béo: serin và treonin; 3) mạch bên chứa amit: asparagin và glutamin; 4) mạch bên thơm: phenylalanin, tyrosin, và tryptophan; 5) mạch bên bazơ: lysin, arginin, và histidin; 6) mạch bên axit: aspartat và glutamat, và 7) mạch bên chứa lưu huỳnh: xystein và methionin. Các nhóm thay thế axit amin bảo toàn được ưu tiên bao gồm: valin-loxin-isoloxin, phenylalanin-tyrosin, lysin-arginin, alanin-valin, glutamat-aspartat, và asparagin-glutamin. Theo cách khác, thay thế bảo toàn là thay đổi bất kỳ có giá trị dương trong ma trận xác suất của log PAM250 được mô tả trong Gonnet và các đồng tác giả (1992) *Science* 256: 1443-45, được đưa vào trong bản mô tả này theo cách viện dẫn. Thay thế "bảo toàn vừa phải" là thay đổi bất kỳ có giá trị không âm trong ma trận xác suất của log PAM250.

Mức giống trình tự đối với các polypeptit thường được đo bằng phần mềm phân tích trình tự. Phần mềm phân tích protein so khớp các trình tự giống nhau bằng cách các số đo về mức giống gán cho các thay thế khác nhau, mất và các cải biến khác, bao gồm các thay thế axit amin bảo toàn. Ví dụ, phần mềm GCG chứa các chương trình như GAP và BESTFIT mà có thể được sử dụng với các thông số mặc định để xác định để xác định mức tương đồng trình tự hoặc mức giống trình tự giữa các polypeptit có họ hàng gần gũi, như các polypeptit tương đồng từ các loài sinh vật khác nhau hoặc giữa protein kiểu dại và mutein của nó. Xem, ví dụ, GCG Version 6.1. các trình tự polypeptit cũng có thể được so sánh bằng cách FASTA với các thông số mặc định hoặc khuyến cáo; chương trình trong GCG Version 6.1. FASTA (ví dụ, FASTA2 và FASTA3) tạo ra các tuyến và phần trăm mức giống trình tự của các vùng chồng lấp tốt nhất giữa các trình tự truy vấn và tìm kiếm (Pearson (2000) *supra*). Thuật toán được ưu tiên khác khi so sánh trình tự theo sáng chế với cơ sở dữ liệu chứa số lượng lớn trình tự từ các sinh vật khác nhau là chương trình máy tính BLAST, đặc biệt là BLASTP hoặc TBLASTN, bằng cách các thông số mặc định. Xem, ví dụ, Altschul và các đồng tác giả (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 403-410 và (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402, được đưa vào trong bản mô tả này theo cách viện dẫn.

Cụm từ "lượng hữu hiệu điều trị" có nghĩa là lượng tạo ra tác dụng mong muốn để nó được sử dụng. Lượng chính xác sẽ phụ thuộc vào mục đích điều trị, và sẽ được chuyên gia trong lĩnh vực này xác định bằng cách các kỹ thuật đã biết rõ (xem, ví dụ, Lloyd (1999) *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding*).

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "đối tượng" được dùng để chỉ

động vật, tốt hơn là động vật có vú, tốt hơn nữa là người, cần làm thuyên giảm, ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh hoặc rối loạn như bệnh nhiễm virus. Thuật ngữ này bao gồm các đối tượng là người mắc hoặc có nguy cơ mắc bệnh nhiễm MERS.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, các thuật ngữ “điều trị”, “việc điều trị” chỉ việc làm giảm hoặc làm thuyên giảm mức độ nghiêm trọng của ít nhất một triệu chứng hoặc dấu hiệu nhiễm MERS do việc sử dụng chất điều trị như kháng thể theo sáng chế cho đối tượng cần điều trị. Các thuật ngữ bao gồm việc ức chế sự tiến triển của bệnh hoặc sự trầm trọng của bệnh nhiễm. Các thuật ngữ còn bao gồm việc chẩn đoán chủ động bệnh, tức là, đối tượng có thể không bị nhiễm hoặc tải lượng virus giảm hoặc không có sau khi sử dụng chất điều trị như kháng thể theo sáng chế. Chất điều trị có thể được sử dụng ở liều điều trị cho đối tượng.

Các thuật ngữ “ngăn ngừa”, “việc ngăn ngừa” chỉ việc ức chế biểu hiện nhiễm MERS hoặc triệu chứng hoặc dấu hiệu nhiễm MERS bất kỳ sau khi sử dụng kháng thể theo sáng chế. Thuật ngữ này bao gồm việc ngăn ngừa sự lây nhiễm ở đối tượng đã tiếp xúc với virus hoặc có nguy cơ nhiễm MERS.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “được chất kháng virus” được dùng để chỉ được chất hoặc liệu pháp chống nhiễm bất kỳ được sử dụng để điều trị, ngăn ngừa hoặc làm thuyên giảm bệnh nhiễm virus ở đối tượng. Thuật ngữ “được chất kháng virus” bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ribavirin, oseltamivir, zanamivir, interferon-alpha2b, thuốc giảm đau và corticosteroid. Trong bản mô tả này, bệnh nhiễm virus bao gồm bệnh nhiễm do virus corona ở người gây ra, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, MERS-CoV, HCoV_229E, HCoV_NL63, HCoV-OC43, HCoV_HKU1, và SARS-CoV.

Mô tả chung

Liệu pháp miễn dịch thụ động để phòng hoặc điều trị bệnh nhiễm đã được sử dụng trong hơn một thập kỷ, thường được sử dụng dưới dạng huyết thanh người phục hồi chứa hiệu giá cao kháng thể trung hòa (Good et al 1991; Cancer 68: 1415-1421). Hiện nay, nhiều kháng thể đơn dòng tinh sạch đang trong giai đoạn phát triển tiền lâm sàng và lâm sàng dùng làm chất kháng khuẩn (Marasco et al 2007; Nature Biotechnology 25: 1421-1434).

Trong bản mô tả này, các tác giả sáng chế mô tả kháng thể người đầy đủ và đoạn liên kết với kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với MERS-CoV-S và điều biến tương tác của MERS-CoV-S với DPP4. Kháng thể kháng MERS-CoV-S có thể liên kết với MERS-CoV-S với ái lực cao. Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế là kháng thể phong bế trong đó kháng thể liên kết với MERS-CoV-S và phong bế sự tương tác của

MERS-CoV-S với DPP4. Theo một số phương án, kháng thể phong bế theo sáng chế có thể phong bế sự liên kết của MERS-CoV-S với DPP4 và/hoặc ức chế hoặc trung hòa tính gây nhiễm virus vào tế bào chủ. Theo một số phương án, kháng thể phong bế có thể hữu dụng để điều trị đối tượng bị nhiễm MERS. Theo một số phương án, kháng thể được chọn không cạnh tranh chéo để liên kết với protein gai sẽ được sử dụng kết hợp dưới dạng hỗn hợp để làm giảm khả năng virus trốn thoát nhờ đột biến để đáp lại áp lực chọn lọc đối với mỗi thành phần. Các kháng thể này, khi được sử dụng cho đối tượng cần điều trị, có thể làm giảm bệnh nhiễm bởi virus như MERS-CoV ở đối tượng. Chúng có thể được sử dụng để làm giảm tải lượng virus ở đối tượng. Chúng có thể được sử dụng một mình hoặc dưới dạng liệu pháp phụ với các nhóm hoặc phương thức điều trị khác đã được biết rõ trong lĩnh vực này để điều trị bệnh nhiễm virus. Cũng được chứng minh trong bản mô tả này rằng các kháng thể này liên kết với các epitop trên protein S đã được bảo toàn trong quá trình tiến hóa tự nhiên của virus trong hai năm qua. Hơn nữa, mô hình chuột chuyển gen mới đã được sử dụng để chứng minh rằng các kháng thể đã nhận dạng có thể ngăn ngừa chuột khỏi bị nhiễm cũng như làm thuyên giảm bệnh nhiễm đã mắc trước đó trong mô hình điều trị sau tiêm. Trong ví dụ 7, chứng minh rằng việc sử dụng kháng thể kháng MERS-Cov-S một ngày trước khi nhiễm có thể làm giảm mức sao chép MERS-CoV đến gần mức phát hiện trong các thử nghiệm virus sống và 3 loga trong thử nghiệm ARN virus. Kháng thể này chứng tỏ việc ngăn ngừa phụ thuộc liều, do liều kháng thể thấp hơn dùng 24 giờ trước nhiễm có khả năng phong bế MERS-CoV tới mức kém hơn. Ngoài ra, phân tích mô phổi cho thấy rằng chuột được điều trị trước bằng kháng thể này làm giảm sự tạo viên quanh phế quản do MERS-CoV gây ra, sự dày thành phế nang, và ổ viêm chung.

Trình tự axit amin có chiều dài đầy đủ của protein gai của MERS-CoV có chiều dài đầy đủ được nêu trong SEQ ID NO: 457. Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế được thu từ chuột được gây miễn dịch bằng chất gây miễn dịch sơ cấp, như protein gai của MERS-CoV có chiều dài đầy đủ (SEQ ID NO: 457) hoặc bằng dạng tái tổ hợp của MERS-CoV-S hoặc đoạn MERS-CoV-S được cải biến (ví dụ, SEQ ID NO: 458), tiếp theo gây miễn dịch bằng chất gây miễn dịch thứ cấp, hoặc bằng đoạn có hoạt tính gây miễn dịch của MERS-CoV-S.

Chất gây miễn dịch có thể là đoạn có hoạt tính sinh học và/hoặc gây miễn dịch của MERS-CoV-S hoặc ADN mã hóa đoạn hoạt tính của nó. Đoạn này có thể được tạo ra từ vùng đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của MERS-CoV-S. Theo một số phương án của sáng chế, chất gây miễn dịch là đoạn MERS-CoV-S nằm trong giới hạn các gốc axit amin 367 – 606 của SEQ ID NO: 457.

Các peptit có thể được cải biến để bao gồm đoạn bổ sung hoặc thay thế một số gốc để gắn đuôi hoặc nhằm liên hợp với phân tử chất mang, như KLH. Ví dụ, xystein có thể được bổ sung vào đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của peptit, hoặc trình tự liên kết có thể được bổ sung vào để tạo ra peptit dùng để liên hợp với, ví dụ, KLH để gây miễn dịch.

Một số kháng thể kháng MERS-CoV-S theo sáng chế có thể liên kết với và trung hòa hoạt tính của MERS-CoV-S, như xác định được bằng các thử nghiệm *in vitro* hoặc *in vivo*. Khả năng kháng thể theo sáng chế liên kết với và trung hòa hoạt tính của MERS-CoV-S có thể được đo bằng phương pháp bất kỳ được chuyên gia trong lĩnh vực này biết rõ, bao gồm thử nghiệm liên kết, hoặc thử nghiệm hoạt tính, như được mô tả trong bản mô tả này.

Các thử nghiệm *in vitro* được lấy làm ví dụ, không giới hạn, để đo hoạt tính liên kết và phong bế được mô tả trong các ví dụ 4 – 5, trong bản mô tả này. Trong ví dụ 4, ái lực liên kết và hằng số phân ly của kháng thể kháng MERS-CoV-S đối với MERS-CoV-S được xác định bằng thử nghiệm cộng hưởng plasmon bề mặt. Trong ví dụ 5, thử nghiệm trung hòa được sử dụng để xác định khả năng gây nhiễm của hạt tương tự virus chứa protein gai của MERS-CoV.

Kháng thể đặc hiệu với MERS-CoV-S có thể không chứa chất đánh dấu hoặc nhóm bổ sung, hoặc nó có thể chứa chất đánh dấu hoặc nhóm ở đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C. Theo một phương án, chất đánh dấu hoặc nhóm là biotin. Trong thử nghiệm liên kết, vị trí đánh dấu (nếu có) có thể xác định hướng peptit so với bề mặt mà trên đó peptit này được liên kết. Ví dụ, nếu bề mặt được phủ avidin, peptit chứa biotin ở đầu tận cùng N sẽ được định hướng sao cho phần đầu tận cùng C sẽ ở cách xa bề mặt. Theo một phương án, chất đánh dấu là nuclit phóng xạ, thuốc nhuộm huỳnh quang hoặc chất đánh dấu phát hiện được bằng MRI. Theo một số phương án, các kháng thể được đánh dấu này có thể được sử dụng trong thử nghiệm chẩn đoán bao gồm thử nghiệm tạo ảnh.

Đoạn liên kết với kháng nguyên của kháng thể

Trừ khi có quy định khác, thuật ngữ "kháng thể", khi được sử dụng trong bản mô tả này, sẽ được hiểu là phân tử kháng thể gồm hai chuỗi nặng globulin miễn dịch và hai chuỗi nhẹ globulin miễn dịch (tức là "phân tử kháng thể đầy đủ") cũng như đoạn liên kết với kháng nguyên của nó. Các thuật ngữ "phần liên kết với kháng nguyên" của kháng thể, "đoạn liên kết với kháng nguyên" của kháng thể, và thuật ngữ tương tự, khi được sử dụng trong bản mô tả này, bao gồm polypeptit hoặc glycoprotein bất kỳ có mặt tự nhiên, thu được bằng enzym, tổng hợp hoặc thao tác di truyền mà liên kết đặc hiệu với kháng nguyên để tạo ra phức chất. Các thuật ngữ "đoạn liên kết với kháng nguyên" của kháng thể, hoặc "đoạn kháng thể", khi được sử dụng trong bản mô tả này, được dùng để chỉ một

hoặc nhiều đoạn kháng thể vẫn giữ được khả năng liên kết với protein gai của MERS-CoV. Đoạn kháng thể có thể bao gồm đoạn Fab, đoạn $F(ab')_2$, đoạn Fv, đoạn dAb, đoạn chứa CDR, hoặc CDR được phân lập. Theo một số phương án, thuật ngữ “đoạn liên kết với kháng nguyên” được dùng để chỉ đoạn polypeptit của phân tử liên kết với kháng nguyên nhiều đặc hiệu. đoạn liên kết với kháng nguyên của kháng thể có thể được tạo ra, ví dụ, từ phân tử kháng thể đầy đủ bằng cách sử dụng các kỹ thuật chuẩn thích hợp bất kỳ như cắt protein hoặc các kỹ thuật thao tác di truyền tái tổ hợp bao gồm việc thao tác và biểu hiện ADN mã hóa các vùng biến đổi và ổn định (tùy ý) của kháng thể. ADN này là đã biết và/hoặc dễ dàng có được, ví dụ, từ các nguồn thương mại, ngân hàng ADN (bao gồm, ví dụ, ngân hàng thể thực khuẩn-kháng thể), hoặc có thể được tổng hợp. ADN có thể được xác định trình tự và thao tác bằng phương pháp hóa học hoặc bằng kỹ thuật sinh học phân tử, ví dụ, sắp xếp một hoặc nhiều vùng biến đổi và/hoặc vùng ổn định thành cấu hình thích hợp, hoặc đưa vào các codon, tạo các gốc xystein, cải biến, bổ sung hoặc loại bỏ axit amin, v.v.

Các ví dụ không giới hạn về đoạn liên kết với kháng nguyên bao gồm: (i) đoạn Fab; (ii) đoạn $F(ab')_2$; (iii) đoạn Fd; (iv) đoạn Fv; (v) phân tử Fv chuỗi đơn (scFv); (vi) đoạn dAb; và (vii) đơn vị nhận biết tối thiểu gồm các gốc axit amin mô phỏng vùng siêu biến của kháng thể (ví dụ, vùng quyết định tính hỗ trợ (CDR) được phân lập như peptit CDR3), hoặc peptit FR3-CDR3-FR4 bắt buộc. Các phân tử được thao tác khác, như kháng thể đặc hiệu vùng, kháng thể đơn vùng, kháng thể loại bỏ vùng, kháng thể dạng khảm, kháng thể ghép CDR, kháng thể hai thành phần, kháng thể ba thành phần, kháng thể bốn thành phần, kháng thể mini, kháng thể nano (ví dụ, kháng thể mini đơn trị, kháng thể nano hóa trị hai, v.v.), thuốc miễn dịch modun nhỏ (Small modular immunopharmaceutical: SMIP), và các vùng biến đổi IgNAR của cá mập, cũng được bao hàm trong thuật ngữ "đoạn liên kết với kháng nguyên", khi được sử dụng trong bản mô tả này.

Thông thường, đoạn liên kết với kháng nguyên của kháng thể chứa ít nhất một vùng biến đổi. vùng biến đổi có thể có kích thước hoặc thành phần axit amin bất kỳ và nói chung chứa ít nhất một CDR, CDR này nằm liền kề hoặc trong khung với một hoặc nhiều trình tự khung. Trong đoạn liên kết với kháng nguyên có vùng V_H tổ hợp với vùng V_L , các vùng V_H và V_L này được đặt tương đối với nhau theo cách sắp xếp thích hợp bất kỳ. Ví dụ, vùng biến đổi có thể là dime và chứa các dime $V_H - V_H$, $V_H - V_L$ hoặc $V_L - V_L$. Theo cách khác, đoạn liên kết với kháng nguyên của kháng thể có thể chứa vùng V_H hoặc V_L monome.

Theo một số phương án, đoạn liên kết với kháng nguyên của kháng thể có thể chứa

ít nhất một vùng biến đổi liên kết cộng hóa trị với ít nhất một vùng ổn định. Các cấu hình được lấy làm ví dụ, không giới hạn, của các vùng biến đổi và ổn định mà có thể được tìm thấy bên trong đoạn liên kết với kháng nguyên của kháng thể theo sáng chế bao gồm: (i) $V_H - C_{H1}$; (ii) $V_H - C_{H2}$; (iii) $V_H - C_{H3}$; (iv) $V_H - C_{H1} - C_{H2}$; (v) $V_H - C_{H1} - C_{H2} - C_{H3}$; (vi) $V_H - C_{H2} - C_{H3}$; (vii) $V_H - C_L$; (viii) $V_L - C_{H1}$; (ix) $V_L - C_{H2}$; (x) $V_L - C_{H3}$; (xi) $V_L - C_{H1} - C_{H2}$; (xii) $V_L - C_{H1} - C_{H2} - C_{H3}$; (xiii) $V_L - C_{H2} - C_{H3}$; và (xiv) $V_L - C_L$. Trong cấu hình bất kỳ của các vùng biến đổi và ổn định, bao gồm cấu hình bất kỳ trong số các cấu hình được lấy làm ví dụ nêu ở trên, các vùng biến đổi và ổn định có thể được liên kết trực tiếp với nhau hoặc có thể được liên kết nhờ vùng bản lề hoặc liên kết đầy đủ hoặc một phần. Vùng bản lề có thể gồm ít nhất 2 (ví dụ, 5, 10, 15, 20, 40, 60 hoặc hơn) axit amin, tạo ra liên kết linh động hoặc bán linh động giữa các vùng biến đổi và/hoặc ổn định liên kết trong phân tử polypeptit đơn. Hơn nữa, đoạn liên kết với kháng nguyên của kháng thể theo sáng chế có thể chứa đồng dime hoặc dị dime (hoặc multime khác) có cấu hình vùng biến đổi và ổn định bất kỳ nêu ở trên trong tổ hợp không cộng hóa trị với nhau và/hoặc với một hoặc nhiều vùng V_H hoặc V_L monome (ví dụ, nhờ (các) liên kết disulfua).

Giống với phân tử kháng thể đầy đủ, đoạn liên kết với kháng nguyên có thể là đặc hiệu duy nhất hoặc nhiều đặc hiệu (ví dụ, hai đặc hiệu). Đoạn liên kết với kháng nguyên nhiều đặc hiệu của kháng thể thường chứa ít nhất hai vùng biến đổi khác nhau, trong đó mỗi vùng biến đổi có khả năng liên kết đặc hiệu với kháng nguyên riêng biệt hoặc với epitop khác trên cùng kháng nguyên. Dạng kháng thể nhiều đặc hiệu, bao gồm các dạng kháng thể hai đặc hiệu được lấy làm ví dụ được bộc lộ trong bản mô tả này, có thể được làm thích ứng dung để tạo ra đoạn liên kết với kháng nguyên của kháng thể theo sáng chế bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường đã biết trong lĩnh vực này.

Điều chế kháng thể người

Phương pháp tạo ra kháng thể người ở chuột chuyển gen là đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp đã biết này có thể được sử dụng theo sáng chế để tạo ra kháng thể người liên kết đặc hiệu với protein gai của MERS-CoV.

Chất gây miễn dịch bao gồm chất bất kỳ trong số các chất sau có thể được sử dụng để tạo ra kháng thể kháng protein gai của MERS-CoV. Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế được thu từ chuột đã được gây miễn dịch bằng protein gai của MERS-CoV kiểu đại, có chiều dài đầy đủ (Xem, ví dụ, số lưu giữ AFS88936.1 trong ngân hàng gen) (SEQ ID NO: 457), hoặc bằng ADN mã hóa protein này hoặc đoạn của nó. Theo cách khác, protein gai hoặc đoạn của nó có thể để tạo ra bằng các kỹ thuật sinh hóa chuẩn và được cải biến và sử dụng làm chất gây miễn dịch. Theo một phương án, chất gây miễn

dịch là vùng liên kết với thụ thể (S1) của protein gai của MERS-CoV. Theo một số phương án của sáng chế, chất gây miễn dịch là đoạn protein gai của MERS-CoV nằm trong giới hạn các gốc axit amin 367-606 của SEQ ID NO: 457.

Theo một số phương án, chất gây miễn dịch có thể là peptit vùng liên kết với thụ thể của protein gai của MERS-CoV tái tổ hợp được biểu hiện ở *E. coli* hoặc ở tế bào có nhân điển hình hoặc động vật có vú khác bất kỳ như tế bào trứng chuột túi má Trung Quốc (Chinese hamster ovary: CHO).

Bằng cách sử dụng công nghệ VELOCIMMUNE® (xem, ví dụ, US 6,596,541, Regeneron Pharmaceuticals, VELOCIMMUNE®) hoặc phương pháp đã biết khác bất kỳ để tạo ra kháng thể đơn dòng, kháng thể dạng khảm ái lực cao với MERS-CoV-S trước hết được phân lập có vùng biến đổi của người và vùng ổn định của chuột. Công nghệ VELOCIMMUNE® bao gồm việc tạo ra chuột chuyển gen có hệ gen chứa các vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của người liên kết hoạt động với các locut vùng ổn định nội sinh của chuột sao cho chuột này tạo ra kháng thể chứa vùng biến đổi của người và vùng ổn định của chuột để đáp lại sự kích thích của kháng nguyên. ADN mã hóa các vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể được phân lập và được liên kết hoạt động với ADN mã hóa các vùng ổn định của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của người. tiếp theo, ADN này được biểu hiện ở tế bào có khả năng biểu hiện kháng thể người đầy đủ.

Nói chung, chuột VELOCIMMUNE® được gây miễn dịch lần đầu bằng kháng nguyên nghiên cứu, và các tế bào lympho như tế bào B) được thu từ chuột biểu hiện kháng thể. Tế bào lympho này có thể được dung hợp với dòng tế bào u tủy để tạo ra dòng tế bào lai bất tử, và dòng tế bào lai này được sàng lọc và chọn lọc để nhận dạng dòng tế bào lai sản xuất kháng thể đặc hiệu với kháng nguyên nghiên cứu. ADN mã hóa các vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có thể được phân lập và liên kết với các vùng ổn định isotyp mong muốn của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ. Protein kháng thể này có thể được sản xuất trong tế bào, như tế bào CHO. Theo cách khác, ADN mã kháng thể dạng khảm đặc hiệu với kháng nguyên hoặc các vùng biến đổi của các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng có thể được phân lập trực tiếp từ tế bào lympho đặc hiệu với kháng nguyên.

Trước hết, kháng thể dạng khảm ái lực cao được được phân lập có vùng biến đổi của người và vùng ổn định của chuột. như trong phần thực nghiệm dưới đây, kháng thể được xác định đặc điểm và chọn các đặc tính mong muốn, bao gồm ái lực, tính chọn lọc, epitop, v.v. Các vùng ổn định của chuột được thay bằng vùng ổn định của người mong muốn để tạo ra kháng thể người đầy đủ theo sáng chế, ví dụ, IgG1 hoặc IgG4 kiểu đại hoặc được cải biến. Mặc dù vùng ổn định được chọn có thể thay đổi theo việc sử dụng cụ

thể, các đặc tính liên kết với kháng nguyên ái lực cao và đặc hiệu đích vẫn thuộc về vùng biến đổi.

Tương đương sinh học

Kháng thể và đoạn kháng thể kháng MERS-CoV-S theo sáng chế bao gồm các protein có trình tự axit amin khác với trình tự axit amin của các kháng thể được mô tả, song vẫn giữ được khả năng liên kết với protein gai của MERS-CoV. Các kháng thể và đoạn kháng thể biến thể này bao gồm một hoặc nhiều axit amin bổ sung, mất hoặc thay thế so với trình tự ban đầu, song biểu hiện hoạt tính sinh học về cơ bản tương đương với hoạt tính sinh học của các kháng thể được mô tả. Tương tự, trình tự ADN mã hóa kháng thể theo sáng chế bao gồm trình tự chứa một hoặc nhiều nucleotit bổ sung, mất hoặc thay thế so với trình tự được mô tả, song mã hóa kháng thể hoặc đoạn kháng thể về cơ bản tương đương sinh học với kháng thể hoặc đoạn kháng thể theo sáng chế.

Hai protein, hoặc kháng thể, liên kết với kháng nguyên được coi là tương đương sinh học nếu, ví dụ, chúng là các đương lượng được hoặc các dạng được thay thế mà tốc độ và phạm vi hấp thu không thể hiện sự khác biệt đáng kể khi được sử dụng ở cùng liều mol trong các điều kiện thực nghiệm tương tự, liều duy nhất hoặc nhiều liều. Một số kháng thể sẽ được coi là tương đương hoặc dạng được thay thế nếu chúng tương đương về phạm vi hấp thu song không tương đương về tốc độ hấp thu và vẫn có thể được coi là tương đương sinh học do các khác biệt về tốc độ hấp thu này là có chủ ý và được phản ánh trong việc dán nhãn, không cần đạt được nồng độ được chất hữu hiệu trong cơ thể đối với, ví dụ, việc sử dụng kéo dài, được coi là không đáng kể về y tế đối với được phẩm cụ thể được nghiên cứu.

Theo một phương án, hai protein liên kết với kháng nguyên là tương đương sinh học nếu không có khác biệt lâm sàng đáng kể về độ an toàn, độ tinh khiết hoặc hiệu nghiệm của chúng.

Theo một phương án, hai protein liên kết với kháng nguyên là tương đương sinh học nếu bệnh nhân có thể ngắt một hoặc nhiều lần giữa sản phẩm tham chiếu và sản phẩm sinh học mà không gia tăng nguy cơ tác dụng phụ, bao gồm thay đổi lâm sàng đáng kể về tính gây miễn dịch, hoặc tác dụng giảm, so với liệu pháp liên tục mà không ngắt như vậy.

Theo một phương án, hai protein liên kết với kháng nguyên là tương đương sinh học nếu chúng tác động bằng cơ chế hoặc các cơ chế tác động chung đối với điều kiện hoặc các điều kiện sử dụng, đến phạm vi mà các cơ chế này sẽ được biết.

Tương đương sinh học có thể được chứng minh bằng các phương pháp *in vivo* và/hoặc *in vitro*. Các phép đo tương đương sinh học bao gồm, ví dụ, (a) thử nghiệm *in vivo* ở người hoặc động vật có vú khác, trong đó nồng độ kháng thể hoặc chất chuyển hóa

của nó được đo trong máu, huyết tương, huyết thanh hoặc dịch thể sinh học khác dưới dạng hàm thời gian; (b) thử nghiệm *in vitro* tương quan với và dự đoán được một cách hợp lý số liệu độ sinh khả dụng *in vivo*; (c) thử nghiệm *in vivo* ở người hoặc động vật có vú khác trong đó tác dụng dược lý cấp thích hợp của kháng thể (hoặc đích của nó) được đo dưới dạng hàm thời gian; và (d) trong thử nghiệm lâm sàng được kiểm soát tốt, thử nghiệm này xác nhận độ an toàn, hiệu quả, hoặc độ sinh khả dụng hoặc tương đương sinh học của kháng thể.

Các biến thể tương đương sinh của kháng thể theo sáng chế có thể được cấu trúc, ví dụ, bằng cách tạo ra các gốc hoặc trình tự thay thế khác nhau hoặc loại bỏ cá gốc hoặc trình tự đầu tận cùng hoặc bên trong không cần thiết cho hoạt tính sinh học. Ví dụ, các gốc cystein không cần thiết cho hoạt tính sinh học có thể được loại bỏ hoặc thay bằng các axit amin khác để ngăn ngừa việc tạo ra các cầu disulfua nội phân tử không cần thiết hoặc không chính xác sau khi hồi tính. Trong các trường hợp khác, kháng thể tương đương sinh có thể bao gồm các biến thể kháng thể chứa các thay đổi axit amin, chúng cải biến các đặc tính glycosyl hóa của kháng thể, ví dụ, các đột biến loại bỏ sự glycosyl hóa.

Kháng thể kháng MERS-CoV-S chứa biến thể Fc

Theo một số phương án của sáng chế, kháng thể kháng MERS-CoV-S được đề xuất chứa vùng Fc chứa một hoặc nhiều đột biến có tác dụng tăng cường hoặc loại bỏ sự liên kết của kháng thể với thụ thể FcRn, ví dụ, ở độ pH axit so với độ pH trung tính. Ví dụ, sáng chế bao gồm kháng thể kháng MERS-CoV-S chứa đột biến ở vùng C_H2 hoặc C_H3 của vùng Fc, trong đó đột biến này làm gia tăng ái lực của Fc với FcRn trong môi trường axit (ví dụ, trong nội bào nơi độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6,0). Các đột biến này có thể làm gia tăng thời gian bán hủy của kháng thể trong huyết thanh khi được sử dụng cho động vật. Các ví dụ không giới hạn về các cải biến Fc này bao gồm, ví dụ, cải biến ở vị trí 250 (ví dụ, E hoặc Q); 250 và 428 (ví dụ, L hoặc F); 252 (ví dụ, L/Y/F/W hoặc T), 254 (ví dụ, S hoặc T), và 256 (ví dụ, S/R/Q/E/D hoặc T); hoặc cải biến ở vị trí 428 và/hoặc 433 (ví dụ, H/L/R/S/P/Q hoặc K) và/hoặc 434 (ví dụ, A, W, H, F hoặc Y [N434A, N434W, N434H, N434F hoặc N434Y]); hoặc cải biến ở vị trí 250 và/hoặc 428; hoặc cải biến ở vị trí 307 hoặc 308 (ví dụ, 308F, V308F), và 434. Theo một phương án, cải biến này bao gồm cải biến 428L (ví dụ, M428L) và 434S (ví dụ, N434S); 428L, 259I (ví dụ, V259I), và cải biến 308F (ví dụ, V308F); 433K (ví dụ, H433K) và cải biến 434 (ví dụ, 434Y); cải biến 252, 254, và 256 (ví dụ, 252Y, 254T, và 256E); cải biến 250Q và 428L (ví dụ, T250Q và M428L); và cải biến 307 và/hoặc 308 (ví dụ, 308F hoặc 308P). Theo phương án khác, cải biến này bao gồm cải biến 265A (ví dụ, D265A) và/hoặc cải biến 297A (ví dụ, N297A).

Ví dụ, sáng chế bao gồm kháng thể kháng MERS-CoV-S chứa vùng Fc chứa một hoặc nhiều cặp hoặc nhóm đột biến được chọn từ nhóm bao gồm: 250Q và 248L (ví dụ, T250Q và M248L); 252Y, 254T và 256E (ví dụ, M252Y, S254T và T256E); 428L và 434S (ví dụ, M428L và N434S); 257I và 311I (ví dụ, P257I và Q311I); 257I và 434H (ví dụ, P257I và N434H); 376V và 434H (ví dụ, D376V và N434H); 307A, 380A và 434A (ví dụ, T307A, E380A và N434A); và 433K và 434F (ví dụ, H433K và N434F). Tất cả các tổ hợp có thể có của các đột biến vùng Fc nêu trên và các đột biến khác bên trong các vùng biến đổi của kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả này, đều nằm trong phạm vi của sáng chế.

Sáng chế cũng bao gồm kháng thể kháng MERS-CoV-S chứa vùng ổn định của chuỗi nặng dạng khảm (C_H), trong đó vùng C_H dạng khảm bao gồm các đoạn được tạo ra từ các vùng C_H có nhiều hơn một isotyp globulin miễn dịch. Ví dụ, kháng thể theo sáng chế có thể bao gồm vùng C_H dạng khảm bao gồm một phần hoặc toàn bộ vùng C_{H2} được tạo ra từ phân tử IgG1 của người, IgG2 của người hoặc IgG4 của người, kết hợp với một phần hoặc toàn bộ vùng C_{H3} được tạo ra từ phân tử IgG1 của người, IgG2 của người hoặc IgG4 của người. Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế bao gồm vùng C_H dạng khảm có vùng bản lề dạng khảm. Ví dụ, vùng bản lề dạng khảm có thể bao gồm trình tự axit amin "bản lề trên" (các gốc axit amin từ các vị trí 216 đến 227 theo cách đánh số EU) được tạo ra từ vùng bản lề IgG1 của người, IgG2 của người hoặc IgG4 của người, kết hợp với trình tự "bản lề dưới" (các gốc axit amin từ các vị trí 228 đến 236 theo cách đánh số EU) được tạo ra từ vùng bản lề IgG1 của người, IgG2 của người hoặc IgG4 của người. Theo một số phương án, vùng bản lề dạng khảm bao gồm các gốc axit amin được tạo ra từ bản lề trên IgG1 của người hoặc IgG4 của người và các gốc axit amin được tạo ra từ bản lề dưới IgG2 của người. Kháng thể bao gồm vùng C_H dạng khảm như được mô tả trong bản mô tả này có thể, theo một số phương án, biểu hiện các chức năng tác động Fc được cải biến mà không tác động bất lợi đến các đặc tính điều trị hoặc dược động lực của kháng thể. (Xem, ví dụ, đơn Mỹ tạm thời số 61/759,578, nộp ngày 1/2/2013, được đưa vào trong bản mô tả này theo cách viện dẫn).

Các đặc tính sinh học của kháng thể

Nói chung, kháng thể theo sáng chế hoạt động bằng cách liên kết với protein gai của MERS-CoV. Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế liên kết với ái lực cao với một hoặc nhiều axit amin trong vùng liên kết với thụ thể (RBD) của protein gai của MERS-CoV. Ví dụ, sáng chế bao gồm kháng thể và đoạn liên kết với kháng nguyên của nó mà liên kết với RBD protein gai của MERS-CoV dạng khảm (ví dụ, ở 25°C hoặc ở 37°C) với K_D nhỏ hơn 20nM khi đo bằng cộng hưởng plasmon bề mặt, ví dụ, bằng cách

sử dụng dạng thử nghiệm được xác định trong ví dụ 4 trong bản mô tả này. Theo một số phương án, kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó liên kết với MERS-CoV-S với K_D nhỏ hơn 20nM, nhỏ hơn 10nM, nhỏ hơn 5nM, nhỏ hơn 2nM, nhỏ hơn 1nM, nhỏ hơn 500pM, nhỏ hơn 250pM, hoặc nhỏ hơn 100pM, khi đo bằng cộng hưởng plasmon bề mặt, ví dụ, bằng cách sử dụng dạng thử nghiệm được xác định trong ví dụ 4 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm hầu như tương tự.

Sáng chế cũng bao gồm kháng thể và đoạn liên kết với kháng nguyên của nó liên kết với protein gai của MERS-CoV với thời gian bán hủy ($t_{1/2}$) lớn hơn 2,1 phút khi đo bằng cộng hưởng plasmon bề mặt ở 25°C, ví dụ, bằng cách sử dụng dạng thử nghiệm được xác định trong ví dụ 4 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm hầu như tương tự. Theo một số phương án, kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên theo sáng chế liên kết với protein gai của MERS-CoV với $t_{1/2}$ lớn hơn 5 phút, lớn hơn 10 phút, lớn hơn 30 phút, lớn hơn 50 phút, lớn hơn 100 phút, lớn hơn 150 phút, lớn hơn 200 phút, hoặc lớn hơn 250 phút, khi đo bằng cộng hưởng plasmon bề mặt ở 25°C, ví dụ, bằng cách sử dụng dạng thử nghiệm được xác định trong ví dụ 4 trong bản mô tả này (ví dụ, dạng bẫy mAb hoặc bẫy kháng nguyên), hoặc thử nghiệm hầu như tương tự.

Sáng chế cũng bao gồm kháng thể và đoạn liên kết với kháng nguyên của nó liên kết với protein gai của MERS-CoV với thời gian bán hủy ($t_{1/2}$) lớn hơn 1,5 phút khi đo bằng cộng hưởng plasmon bề mặt ở 37°C, ví dụ, bằng cách sử dụng dạng thử nghiệm được xác định trong ví dụ 4 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm hầu như tương tự. Theo một số phương án, kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên theo sáng chế liên kết với protein gai của MERS-CoV với $t_{1/2}$ lớn hơn 2 phút, lớn hơn 5 phút, lớn hơn 10 phút, lớn hơn 25 phút, lớn hơn 50 phút, lớn hơn 100 phút, lớn hơn 150 phút, hoặc lớn hơn 200 phút, khi đo bằng cộng hưởng plasmon bề mặt ở 37°C, ví dụ, bằng cách sử dụng dạng thử nghiệm được xác định trong ví dụ 4 trong bản mô tả này (ví dụ, dạng bẫy mAb hoặc bẫy kháng nguyên), hoặc thử nghiệm hầu như tương tự.

Sáng chế cũng bao gồm kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó phong bế hơn 90% MERS-CoV-S liên kết với DPP4 khi được xác định bằng thử nghiệm miễn dịch trên cơ sở ELISA, ví dụ, như được thể hiện trong ví dụ 2, hoặc thử nghiệm hầu như tương tự.

Sáng chế cũng bao gồm kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó mà trung hòa hoặc ức chế tính gây nhiễm của MERS-CoV đối với tế bào chủ của nó. Theo một số phương án, kháng thể trung hòa tính gây nhiễm của hạt giả tương tự MERS-CoV (MERS-CoV-like pseudoparticle: MERSpp). Theo một số phương án, kháng thể ức chế hơn 90% liên kết của MERS-CoV đối với tế bào chủ người trong thử nghiệm trung hòa

hạt giả tương tự virus (Virus-like pseudo-particle: VLP), ví dụ, như được thể hiện trong ví dụ 5, hoặc thử nghiệm hầu như tương tự. Kháng thể trung hòa tính gây nhiễm của MERSpp với IC₅₀ nằm trong khoảng từ 58,9pM đến 2,93nM.

Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế liên kết với vùng liên kết với thụ thể của protein gai của MERS-CoV hoặc với đoạn của vùng này. Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế có thể liên kết với nhiều hơn một vùng (kháng thể phản ứng chéo). Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế có thể liên kết với epitop nằm trong vùng liên kết với thụ thể bao gồm các gốc axit amin 367 – 606 của MERS-CoV-S. Theo một phương án, kháng thể có thể liên kết với epitop bao gồm một hoặc nhiều axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các gốc axit amin 367 – 606 của trình tự nêu trong SEQ ID NO: 457.

Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế có thể hoạt động bằng cách phong bế hoặc ức chế hoạt tính liên kết với DPP4 tổ hợp với protein gai của MERS-CoV bằng cách liên kết với vùng hoặc đoạn khác của protein có chiều dài đầy đủ, trình tự axit amin của nó được nêu trong SEQ ID NO: 457.

Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế có thể là kháng thể hai đặc hiệu. kháng thể hai đặc hiệu theo sáng chế có thể liên kết với một epitop trong một vùng và có thể liên kết với epitop thứ hai trong cùng vùng hoặc khác vùng của protein gai của MERS-CoV. Theo một số phương án, kháng thể hai đặc hiệu có thể liên kết với hai epitop khác nhau trong cùng vùng.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể tái tổ hợp được phân lập hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó mà liên kết đặc hiệu với protein gai của MERS-CoV, trong đó kháng thể hoặc đoạn của nó biểu hiện một hoặc nhiều đặc tính sau: (a) là kháng thể đơn dòng của người hoàn toàn; (b) tương tác với một hoặc nhiều gốc axit amin trong vùng liên kết với thụ thể của protein gai được chọn từ các gốc axit amin 367 đến 606 của trình tự nêu trong SEQ ID NO: 457; (c) liên kết với protein gai của MERS-CoV với hằng số phân ly (K_D) nhỏ hơn 18,5nM, khi đo bằng thử nghiệm cộng hưởng plasmon bề mặt; (d) phong bế sự liên kết của protein gai của MERS-CoV với dipeptidyl peptidaza 4 ở mức hơn 90%, khi đo bằng thử nghiệm ELISA phong bế; (e) trung hòa tính gây nhiễm của MERS-CoV vào tế bào chủ người hơn 90% và với IC₅₀ nhỏ hơn 4nM, khi đo bằng thử nghiệm trung hòa VLP; (f) trung hòa tính gây nhiễm của MERS-CoV trong đó MERS-CoV bao gồm thể phân lập virus được chọn từ nhóm bao gồm EMC/2012, Jordan-N3/2012, England-Qatar/2012, Al-Hasa_1_2013, Al-Hasa_2_2013, Al-Hasa_3_2013, Al-Hasa_4_2013, Al-Hasa_12, Al-Hasa_15, Al-Hasa_16, Al-Hasa_17, Al-Hasa_18, Al-Hasa_19, Al-Hasa_21, Al-hasa_25, Bisha_1, Buraidah_1, England 1, Hafr-Al-batin_1,

Hafr-Al-Batin_2, Hafr-Al-Batin_6, Jeddah_1, KFU-HKU 1, KFU-HKU 13, Munich, Qatar3, Qatar4, Riyadh_1, Riyadh_2, Riyadh_3, Riyadh_3, Riyadh_4, Riyadh_5, Riyadh_9, Riyadh_14, Taif_1, UAE, và Wadi-Ad-Dawasir; (g) phong bế MERS-CoV sao chép *in vivo* ở đối tượng bị nhiễm MERS-CoV; và (h) là kháng thể hai đặc hiệu bao gồm đặc hiệu liên kết thứ nhất với epitop thứ nhất trong vùng liên kết với thụ thể của protein gai của MERS-CoV và đặc hiệu liên kết thứ hai với epitop thứ hai trong vùng liên kết với thụ thể của protein gai của MERS-CoV trong đó các epitop thứ nhất và thứ hai là khác biệt và không chồng lấp.

Kháng thể theo sáng chế có thể có một hoặc nhiều đặc tính sinh học nêu trên, hoặc tổ hợp bất kỳ của chúng. Các đặc tính sinh học khác của kháng thể theo sáng chế sẽ là hiển nhiên đối với chuyên gia trong lĩnh vực này từ việc xem xét bản mô tả này bao gồm các ví dụ thực hiện trong bản mô tả này.

Lập bản đồ epitop và các kỹ thuật liên quan

Sáng chế bao gồm kháng thể kháng MERS-CoV-S tương tác với một hoặc nhiều axit amin được tìm thấy trong một hoặc nhiều vùng của phân tử protein gai của MERS-CoV bao gồm, vùng S1 đầu tận cùng N (các gốc axit amin 1-751) và vùng S2 đầu tận cùng C (các gốc axit amin 752-1353). Epitop mà kháng thể có thể liên kết có thể chứa trình tự liên ứng duy nhất gồm 3 axit amin hoặc nhiều hơn (ví dụ, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 hoặc nhiều hơn) nằm trong vùng bất kỳ trong số các vùng nêu trên của phân tử protein gai của MERS-CoV (*ví dụ*, epitop mạch thẳng trong một vùng). Theo cách khác, epitop có thể chứa nhiều axit amin (hoặc trình tự axit amin) không liên ứng nằm trong một trong hai hoặc cả hai vùng nêu trên của phân tử protein gai (*ví dụ*, epitop cấu trúc).

Các kỹ thuật được chuyên gia trong lĩnh vực này biết rõ có thể được sử dụng để xác định kháng thể nào "tương tác với một hoặc nhiều axit amin" trong polypeptit hoặc protein. Các kỹ thuật được lấy làm ví dụ bao gồm, ví dụ, thử nghiệm phong bế chéo thông thường, như thử nghiệm được mô tả trong Antibodies, Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY). Các phương pháp khác bao gồm phân tích đột biến quét alanin, phân tích thẩm tách peptit (Reineke (2004) *Methods Mol. Biol.* 248: 443-63), nghiên cứu tinh thể học phân tích phân cắt peptit và phân tích NMR. Ngoài ra, các phương pháp như cắt epitop, chiết epitop và cải biến hóa học kháng nguyên có thể được sử dụng (Tomer (2000) *Prot. Sci.* 9: 487-496). Phương pháp khác có thể được sử dụng để nhận dạng các axit amin trong polypeptit mà kháng thể tương tác là trao đổi hydro/đơteri phát hiện được bằng khối phổ. Theo thuật ngữ chung, trao đổi hydro/đơteri bao gồm đánh dấu protein nghiên cứu bằng đơteri, tiếp theo cho kháng thể liên kết với

protein đã được đánh dấu đơteri. Tiếp theo, phức chất protein/kháng thể được chuyển sang nước và các proton có thể trao đổi trong các axit amin được bảo vệ bởi phức chất kháng thể trải qua quá trình trao đổi ngược đơteri-đến-hydro ở tốc độ chậm hơn so với các proton có thể trao đổi trong các axit amin không phải là một phần của mặt phân cách. Kết quả là, các axit amin tạo nên phần mặt phân cách protein/kháng thể có thể giữ lại đơteri và do đó có khối lượng cao hơn đáng kể so với các axit amin không được bao gồm trong mặt phân cách. Sau khi phân ly kháng thể, protein đích được cắt nhờ proteaza và phân tích bằng khối phổ, theo đó chỉ ra các gốc được đánh dấu đơteri tương ứng với các axit amin đặc hiệu mà kháng thể tương tác. *Xem, ví dụ, Ehring (1999) Analytical Biochemistry 267: 252-259; Engen and Smith (2001) Anal. Chem. 73: 256A-265A.*

Thuật ngữ “epitop” được dùng để chỉ vị trí trên kháng nguyên mà các tế bào B và/hoặc T đáp ứng lại. Các epitop tế bào B có thể được tạo ra cả từ các axit amin liền kề lẫn các axit amin không liền kề đặt cạnh nhau nhờ sự gấp nếp bậc bốn của protein. Epitop được tạo ra từ các axit amin liền kề thường được giữ lại khi tiếp xúc với dung môi biến tính, trong khi epitop được rạo ra nhờ sự gấp nếp bậc bốn thường bị mất đi khi xử lý bằng dung môi biến tính. Một epitop thường bao gồm ít nhất 3, và phổ biến hơn, ít nhất 5 hoặc 8-10 axit amin trong cấu trúc không gian đơn nhất.

Tạo profin được hỗ trợ bằng cải biến (Modification-Assisted Profiling: MAP), còn gọi là tạo profin kháng thể trên cơ sở cấu trúc kháng nguyên (Antigen Structure-based Antibody Profiling: ASAP) là phương pháp phân loại số lượng lớn kháng thể đơn dòng (monoclonal antibody: mAb) kháng cùng loại kháng nguyên theo các đặc điểm giống nhau về profin liên kết của mỗi kháng thể với các bề mặt kháng nguyên được cải biến bằng con đường hóa học hoặc enzym (xem US 2004/0101920, được đưa vào trong bản mô tả này theo cách viện dẫn). Mỗi loại có thể phản ánh epitop đơn nhất khác biệt với hoặc một phần chồng lấp với epitop được đại diện bởi loại khác. Công nghệ này cho phép lọc nhanh các kháng thể giống nhau về mặt di truyền, để việc xác định đặc điểm được tập trung vào các kháng thể khác biệt về mặt di truyền. khi áp dụng cho việc sàng lọc tế bào lai, MAP có thể tạo điều kiện thuận lợi cho việc nhận dạng các dòng tế bào lai hiếm sản sinh các mAb có các đặc tính mong muốn. MAP có thể được sử dụng để phân loại kháng thể theo sáng chế thành các nhóm kháng thể liên kết với các epitop khác nhau.

Theo một số phương án, kháng thể kháng MERS-CoV-S hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó liên kết với epitop trong một hoặc nhiều vùng bất kỳ được lấy làm ví dụ trong protein gai của MERS-CoV, ở dạng tự nhiên, như được lấy ví dụ trong SEQ ID NO: 457, hoặc được sản xuất bằng con đường tái tổ hợp, như được lấy ví dụ trong SEQ ID NO: 458, hoặc liên kết với đoạn của nó. Theo một số phương án, kháng thể theo

sáng chế liên kết với vùng ngoại bào chứa một hoặc nhiều axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các gốc axit amin 367 – 606 của protein gai của MERS-CoV.

Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế, tương tác với ít nhất một trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các gốc axit amin nằm trong giới hạn từ vị trí 358 to đến vị trí 450; hoặc các gốc axit amin nằm trong giới hạn từ vị trí 451 đến vị trí 606 của SEQ ID NO: 457.

Sáng chế bao gồm kháng thể kháng MERS-CoV-S liên kết với cùng epitop, hoặc phần của epitop, như kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể được lấy làm ví dụ cụ thể thu được từ các dòng tế bào nêu trên Fig.1. Tương tự, sáng chế cũng bao gồm các kháng thể MERS-CoV-S cạnh tranh với kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể được lấy làm ví dụ cụ thể thu được từ các dòng tế bào lai nêu trên Fig.1 trong việc liên kết với protein gai của MERS-CoV hoặc đoạn của nó. Ví dụ, sáng chế bao gồm các kháng thể kháng MERS-CoV-S mà cạnh tranh chéo với một hoặc nhiều kháng thể thu được từ các tế bào lai nêu trên Fig.1 trong việc liên kết với protein gai của MERS-CoV.

Chuyên gia trong lĩnh vực này có thể dễ dàng xác định được kháng thể nào liên kết với cùng epitop giống như, hoặc cạnh tranh liên kết với, kháng thể kháng MERS-CoV-S tham chiếu bằng cách sử dụng các phương pháp thông thường đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Ví dụ, để xác định kháng thể thử nghiệm có liên kết với cùng epitop giống như kháng thể kháng MERS-CoV-S tham chiếu theo sáng chế hay không, kháng thể tham chiếu được liên kết với protein gai của MERS-CoV hoặc peptit trong điều kiện bão hòa. Tiếp theo, khả năng kháng thể thử nghiệm liên kết với phân tử protein gai của MERS-CoV được đánh giá. Nếu kháng thể thử nghiệm có thể liên kết với MERS-CoV-S sau khi bão hòa liên kết với kháng thể kháng MERS-CoV-S tham chiếu, có thể kết luận được rằng kháng thể thử nghiệm liên kết với epitop khác so với kháng thể kháng MERS-CoV-S tham chiếu. Mặt khác, nếu kháng thể thử nghiệm không thể liên kết với protein gai của MERS-CoV sau khi bão hòa liên kết với kháng thể kháng MERS-CoV-S tham chiếu, thì kháng thể thử nghiệm có thể liên kết với cùng epitop giống như epitop được liên kết bởi kháng thể kháng MERS-CoV-S tham chiếu theo sáng chế.

Để xác định kháng thể có cạnh tranh liên kết với kháng thể kháng MERS-CoV-S tham chiếu hay không, phương pháp liên kết được mô tả trên đây được thực hiện theo hai hướng: Theo hướng thứ nhất, kháng thể tham chiếu được liên kết với protein gai của MERS-CoV trong điều kiện bão hòa kèm theo đánh giá sự liên kết của kháng thể thử nghiệm với phân tử MERS-CoV-S. Theo hướng thứ hai, kháng thể thử nghiệm được liên kết với phân tử MERS-CoV-S trong điều kiện bão hòa kèm theo đánh giá sự liên kết của kháng thể tham chiếu với phân tử MERS-CoV-S. Theo cả hai hướng, nếu chỉ có kháng

thể thứ nhất (bảo hòa) có khả năng liên kết với phân tử MERS-CoV-S, thì kết luận rằng kháng thể thử nghiệm và kháng thể tham chiếu cạnh tranh liên kết với MERS-CoV-S. Chuyên gia trong lĩnh vực này biết rằng, kháng thể cạnh tranh liên kết với kháng thể tham chiếu có thể không cần liên kết với epitop giống nhau như kháng thể tham chiếu, song có thể phong bế không gian liên kết của kháng thể tham chiếu bằng cách liên kết với epitop chồng lấp hoặc liền kề.

Hai kháng thể liên kết với cùng epitop hoặc epitop chồng lấp nếu mỗi kháng thể cạnh tranh ức chế (phong bế) sự liên kết của kháng thể còn lại với kháng nguyên. Nghĩa là, lượng dư 1, 5, 10, 20 hoặc 100 lần của một kháng thể ức chế sự liên kết của kháng thể còn lại ít nhất 50% nhưng tốt hơn là 75%, 90% hoặc thậm chí 99% khi đo bằng thử nghiệm liên kết cạnh tranh (xem, ví dụ, Junghans *et al.*, Cancer Res. 1990 50:1495-1502). Theo cách khác, hai kháng thể có cùng epitop nếu về cơ bản tất cả các đột biến axit amin trong kháng nguyên mà làm giảm hoặc loại bỏ sự liên kết của một kháng thể làm giảm hoặc loại bỏ sự liên kết của kháng thể còn lại. Hai kháng thể có epitop chồng lấp nếu một số đột biến axit amin mà làm giảm hoặc loại bỏ sự liên kết của một kháng thể làm giảm hoặc loại bỏ sự liên kết của kháng thể còn lại.

Tiếp theo, thực nghiệm thông thường khác (ví dụ, các phân tích đột biến và liên kết peptit) có thể được thực hiện để xác nhận sự thiếu liên kết quan sát được của kháng thể thử nghiệm có thực sự là do sự liên kết với cùng epitop giống như kháng thể tham chiếu hay không hoặc sự phong bế không gian (hoặc hiện tượng khác) có phải là nguyên nhân gây nên sự thiếu liên kết quan sát được này hay không. Các thí nghiệm kiểu này có thể được thực hiện bằng cách sử dụng ELISA, RIA, cộng hưởng plasmon bề mặt, đo mật độ tế bào dòng chảy hoặc thử nghiệm liên kết kháng thể định lượng hoặc định tính khác có thể sử dụng trong lĩnh vực này.

Thể liên hợp miễn dịch

Sáng chế bao hàm kháng thể đơn dòng kháng MERS-CoV-S của người liên hợp với nhóm điều trị (“thể liên hợp miễn dịch”), như độc tố hoặc được chất kháng virus để điều trị bệnh nhiễm MERS. Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “thể liên hợp miễn dịch” được dùng để chỉ kháng thể được liên kết hóa học hoặc sinh học với chất có hoạt tính phóng xạ, xytokin, interferon, nhóm đích hoặc nhóm thông báo, enzym, peptit hoặc protein hoặc chất điều trị. Kháng thể có thể được liên kết với chất có hoạt tính phóng xạ, xytokin, interferon, nhóm đích hoặc nhóm thông báo, enzym, peptit hoặc chất điều trị ở vị trí bất kỳ dọc theo phân tử miễn là nó có thể liên kết với đích của nó. Các ví dụ về thể liên hợp miễn dịch bao gồm thể liên hợp kháng thể được chất và protein dung hợp kháng thể-độc tố. Theo một phương án, chất này có thể là kháng thể khác thứ hai đối

với protein gai của MERS-CoV. Theo một số phương án, kháng thể có thể được liên hợp với chất đặc hiệu với tế bào bị nhiễm virus. Kiểu nhóm điều trị mà có thể được liên hợp với kháng thể kháng MERS-CoV-S sẽ cần tính đến tình trạng bệnh lý được điều trị và tác dụng điều trị mong muốn cần đạt được. Các ví dụ về chất thích hợp để tạo ra thể liên hợp miễn dịch là đã được biết rõ trong lĩnh vực này; xem ví dụ, WO 05/103081.

Kháng thể nhiều đặc hiệu

Kháng thể theo sáng chế có thể là đặc hiệu duy nhất, hai đặc hiệu hoặc nhiều đặc hiệu. Kháng thể nhiều đặc hiệu có thể là đặc hiệu với các epitop khác nhau của một polypeptit đích hoặc có thể chứa các vùng liên kết với kháng nguyên đặc hiệu với nhiều hơn một polypeptit đích. Xem, ví dụ, Tutt et al., 1991, J. Immunol. 147:60-69; Kufer et al., 2004, Trends Biotechnol. 22:238-244.

Phân tử bất kỳ trong số các phân tử liên kết với kháng nguyên nhiều đặc hiệu, hoặc biến thể của nó, có thể được cấu trúc bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử chuẩn (ví dụ, công nghệ biểu hiện ADN và protein tái tổ hợp), như được chuyên gia trong lĩnh vực này biết rõ.

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu với MERS-CoV-S được tạo ra ở dạng hai đặc hiệu ("hai đặc hiệu") trong đó các vùng biến đổi liên kết với các vùng khác biệt của protein gai của MERS-CoV được liên kết với nhau để tạo ra đặc hiệu vùng kép trong phân tử liên kết duy nhất. Hai đặc hiệu được thiết kế thích hợp có thể tăng cường toàn bộ tác dụng ức chế protein gai của MERS-CoV thông qua việc gia tăng cả tính đặc hiệu lẫn ái lực liên kết. Các vùng biến đổi có tính đặc hiệu với các vùng riêng rẽ, (ví dụ, các đoạn của vùng đầu tận cùng N), hoặc có thể liên kết với các vùng khác nhau trong một vùng, được tạo cặp trên giàn cấu trúc cho phép mỗi vùng liên kết đồng thời với các epitop riêng biệt, hoặc với các vùng khác nhau trong một vùng. Theo một ví dụ về dạng hai đặc hiệu, các vùng biến đổi của chuỗi nặng (V_H) từ yếu tố liên kết có đặc hiệu với một vùng được tái tổ hợp với các vùng biến đổi của chuỗi nhẹ (V_L) từ loạt yếu tố liên kết đặc hiệu với vùng thứ hai để nhận dạng các thành phần V_L không cùng họ mà có thể được tạo cặp với V_H gốc mà không làm xáo trộn đặc hiệu gốc với V_H đó. Theo cách này, đoạn V_L đơn (ví dụ, V_{L1}) có thể được tổ hợp với hai vùng V_H khác nhau (ví dụ, V_{H1} và V_{H2}) để tạo ra hai đặc hiệu chứa hai "cánh" liên kết ($V_{H1}-V_{L1}$ và $V_{H2}-V_{L1}$). Việc sử dụng đoạn V_L đơn làm giảm tính phức tạp của hệ và theo đó đơn giản hóa và gia tăng hiệu quả trong các quá trình tách dòng, biểu hiện và tinh chế được sử dụng để tạo ra hai đặc hiệu (Xem, ví dụ, USSN13/022759 và US2010/0331527).

Theo cách khác, kháng thể liên kết với nhiều hơn một vùng và đích thức hai, như, không không giới hạn, ví dụ, kháng thể kháng MERS-CoV-S khác thứ hai, có thể được

bào chế ở dạng hai đặc hiệu bằng cách sử dụng các kỹ thuật được mô tả trong bản mô tả này, hoặc các kỹ thuật khác được chuyên gia trong lĩnh vực này biết rõ. Các vùng biến đổi của kháng thể liên kết với các vùng riêng biệt có thể cùng được liên kết với các vùng biến đổi mà liên kết với các vị trí liên quan trên, ví dụ, vùng ngoại bào của MERS-CoV-S, để tạo ra đặc hiệu kháng nguyên kép trong phân tử liên kết duy nhất. Dạng hai đặc hiệu có tính chất này được thiết kế thích hợp có chức năng kép. Các vùng biến đổi có tính đặc hiệu với vùng ngoại bào được tổ hợp với vùng biến đổi có tính đặc hiệu với phần ngoài vùng ngoại bào và được tạo cặp trên giàn cấu trúc cho phép mỗi vùng biến đổi liên kết với các kháng nguyên riêng biệt.

Dạng kháng thể hai đặc hiệu được lấy làm ví dụ mà có thể được sử dụng theo sáng chế bao gồm việc sử dụng vùng globulin miễn dịch (immunoglobulin: Ig) C_H3 thứ nhất và vùng Ig C_H3 thứ hai, trong đó các vùng Ig C_H3 thứ nhất và thứ hai khác nhau ít nhất một axit amin, và trong đó ít nhất một khác biệt axit amin làm giảm sự liên kết của kháng thể hai đặc hiệu với Protein A so với kháng thể hai đặc hiệu thiếu khác biệt axit amin. Theo một phương án, vùng Ig C_H3 thứ nhất liên kết với Protein A và vùng Ig C_H3 thứ hai chứa đột biến làm giảm hoặc loại bỏ sự liên kết với Protein A như cải biến H95R (theo cách đánh số vùng mã hóa IMGT; H435R theo cách đánh số EU). C_H3 thứ hai có thể còn chứa cải biến Y96F (theo IMGT; Y436F theo EU). Các cải biến khác mà có thể được tìm thấy trong C_H3 thứ hai bao gồm: D16E, L18M, N44S, K52N, V57M, và V82I (theo IMGT; D356E, L358M, N384S, K392N, V397M, và V422I theo EU) trong trường hợp của kháng thể IgG1; N44S, K52N, và V82I (IMGT; N384S, K392N, và V422I theo EU) trong trường hợp của kháng thể IgG2; và Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q, và V82I (theo IMGT; Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q, và V422I theo EU) trong trường hợp của kháng thể IgG4. Các biến đổi trên dạng kháng thể hai đặc hiệu được mô tả ở trên là thuộc phạm vi của sáng chế.

Các dạng hai đặc hiệu được lấy làm ví dụ khác mà có thể được sử dụng theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ví dụ, dạng hai đặc hiệu hai thành phần hoặc trên cơ sở scFv, thể dung hợp IgG-scFv, vùng biến đổi kép (Dual variable domain: DVD)-Ig, Quadroma, Khóa-Trong-Ổ (knobs-into-holes), chuỗi nhẹ chung (ví dụ, chuỗi nhẹ chung với Khóa-Trong-Ổ, v.v.), CrossMab, CrossFab, thể (SEED), khóa kéoloxin, thể Duo, IgG1/IgG2, Fab tác động kép (dual acting Fab: DAF)-IgG, và dạng hai đặc hiệu Mab² (xem, ví dụ, Klein *et al.* 2012, mAbs.4:6, 1-11, và đưa vào trong bản mô tả này theo cách viện dẫn). kháng thể hai đặc hiệu cũng có thể được cấu trúc bằng cách sử dụng thể liên hợp peptit/axit nucleic, ví dụ, trong đó các axit amin không tự nhiên có khả năng phản ứng hóa học trực giao được sử dụng để tạo ra thể liên hợp kháng thể-oligonucleotit

đặc hiệu vị trí mà tiếp theo tự tổ hợp thành phức chất multime có thành phần, hóa trị và hình học xác định. (Xem, ví dụ, Kazane *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* [Epub: Dec. 4, 2012]).

Dược phẩm và sử dụng để điều trị

Sáng chế đề xuất dược phẩm chứa kháng thể kháng MERS-CoV-S hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo sáng chế. Dược phẩm theo sáng chế sẽ được sử dụng với các chất mang, tá dược và các chất khác thích hợp được đưa vào chế phẩm để cải thiện sự vận chuyển, phân phối, dung nạp, v.v.. Nhiều chế phẩm thích hợp đã được tìm thấy trong công thức pha chế được tất cả các nhà hóa dược biết rõ: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Các chế phẩm này bao gồm, ví dụ, dạng bột, dạng bột nhão, thuốc mỡ, keo đông, sáp, dầu, lipid, lipid (cation hoặc anion) chất chất dẫn (như LIPOFECTIN™), thể liên hợp ADN, bột nhão hấp thu khan, nhũ tương dầu trong nước hoặc nước trong dầu, cacbovac (các polyetylen glycol có trọng lượng phân tử khác nhau), gel bán rắn, và hỗn hợp bán rắn chứa cacbovac. Cũng xem Powell *et al.* "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

Liều kháng thể có thể thay đổi phụ thuộc vào độ tuổi và kích thước đối tượng được sử dụng, bệnh đích, tình trạng bệnh lý, đường dùng, v.v.. Khi kháng thể theo sáng chế được sử dụng để điều trị bệnh hoặc rối loạn ở bệnh nhân trưởng thành, hoặc để ngăn ngừa bệnh này, thuận lợi nếu sử dụng kháng thể theo sáng chế một cách bình thường ở liều duy nhất nằm trong khoảng từ 0,1 đến 60mg/kg thể trọng, tốt hơn nữa là 5 đến 60, nằm trong khoảng từ 10 đến 50, hoặc nằm trong khoảng từ 20 đến 50mg/kg thể trọng. tùy thuộc vào mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh lý, tần suất và thời gian điều trị có thể được điều chỉnh. Theo một số phương án, kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo sáng chế có thể được sử dụng ở liều ban đầu ít nhất là nằm trong khoảng từ 0,1mg đến 800mg, nằm trong khoảng từ 1 đến 500mg, nằm trong khoảng từ 5 đến 300mg, hoặc nằm trong khoảng từ 10 đến 200mg, đến 100mg, hoặc đến 50mg. Theo một số phương án, liều ban đầu này có thể được kế tiếp bằng việc sử dụng liều thứ hai hoặc nhiều liều kế tiếp kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó với lượng bằng hoặc nhỏ hơn liều lượng ban đầu, trong đó các liều kế tiếp có thể cách nhau ít nhất 1 đến 3 ngày; ít nhất một tuần, ít nhất 2 tuần; ít nhất 3 tuần; ít nhất 4 tuần; ít nhất 5 tuần; ít nhất 6 tuần; ít nhất 7 tuần; ít nhất 8 tuần; ít nhất 9 tuần; ít nhất 10 tuần; ít nhất 12 tuần; hoặc ít nhất 14 tuần.

Nhiều hệ phân phối là đã được biết và có thể được sử dụng để cấp dược phẩm theo sáng chế, ví dụ, bao trong nang liposom, vi hạt, vi nang, tế bào tái tổ hợp có khả năng biểu hiện virus đột biến, nhập bào qua trung gian thụ thể (xem, ví dụ, Wu *et al.* (1987) J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Phương pháp phân phối bao gồm, nhưng không chỉ giới

hạn ở, qua đường trong da, qua da, qua đường trong bắp, qua đường trong màng bụng, qua đường trong tĩnh mạch, qua đường dưới da, qua đường trong mũi, qua đường ngoài màng cứng và qua đường miệng. dược phẩm có thể được dùng qua đường thích hợp bất kỳ, ví dụ, bằng cách truyền hoặc tiêm liều lớn, bằng cách hấp thu qua lớp lót biểu mô hoặc niêm mạc da (ví dụ, màng nhầy miệng, màng nhầy trực tràng và ruột, v.v.) và có thể được dùng cùng với các hoạt chất sinh học khác. Việc dùng có thể là toàn thân hoặc khu trú. Dược phẩm cũng có thể được phân phối trong túi, cụ thể là thể mỡ (xem, ví dụ, Langer (1990) Science 249:1527-1533).

Việc sử dụng hạt nano để phân phối kháng thể theo sáng chế cũng được bao gồm trong bản mô tả này. Các hạt nano liên hợp với kháng thể có thể được sử dụng cả cho ứng dụng điều trị lẫn ứng dụng chẩn đoán. Các hạt nano liên hợp với kháng thể và phương pháp bào chế và sử dụng được mô tả chi tiết bởi Arruebo, M., et al. 2009 (“Antibody-conjugated nanoparticles for biomedical applications” in J. Nanomat. Volume 2009, Article ID 439389, 24 pages, doi: 10.1155/2009/439389), được đưa vào trong bản mô tả này theo cách viện dẫn. Hạt nano có thể được phát triển và liên hợp với kháng thể chứa trong dược phẩm để hướng đích tế bào bị nhiễm virus. Các hạt nano để phân phối được chất cũng được mô tả, ví dụ, trong US 8257740, hoặc US 8246995, các tài liệu này được đưa vào trong bản mô tả này theo cách viện dẫn.

Trong một số trường hợp, dược phẩm có thể được phân phối trong hệ thống giải phóng có kiểm soát. Theo một phương án, bơm có thể được sử dụng. Theo phương án khác, vật liệu polyme có thể được sử dụng. Theo phương án khác, hệ thống giải phóng có kiểm soát có thể được đặt gần đích của dược phẩm, do đó chỉ cần một phân liều toàn thân.

Dược phẩm tiêm có thể bao gồm các dạng liều để tiêm trong tĩnh mạch, dưới da, trong da, trong sọ, trong màng bụng và trong bắp, thuyên nhỏ giọt, v.v. Các dược phẩm tiêm này có thể được bào chế theo cách đã được công bố. Ví dụ, dược phẩm tiêm có thể được bào chế, ví dụ, bằng cách hòa tan, tạo huyền phù hoặc nhũ hóa kháng thể hoặc muối của nó được mô tả ở trên trong môi trường nước vô trùng hoặc môi trường dầu thường dùng để tiêm. Ví dụ, môi trường nước dùng để tiêm là nước muối sinh lý, dung dịch đẳng trương chứa glucoza và các chất phụ trợ khác, v.v., có thể được sử dụng kết hợp với chất gây hòa tan thích hợp như rượu (ví dụ, etanol), rượu đa chức (ví dụ, propylen glycol, polyetylen glycol), chất hoạt động bề mặt không ion [ví dụ, polysorbate 80, HCO-50 (polyoxyetylen (50 mol) sản phẩm cộng của dầu thầu dầu hydro hóa)], v.v. Môi trường dầu được sử dụng, ví dụ, là dầu vừng, dầu đậu nành, v.v., môi trường này có thể được sử dụng kết hợp với chất gây hòa tan như benzyl benzoat, rượu benzylic, v.v. Do đó, tốt hơn là, dược phẩm tiêm bào chế được được nạp vào ống tiêm thích hợp.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được phân phối qua đường dưới da hoặc qua đường trong tĩnh mạch bằng kim và ống tiêm chuẩn. Ngoài ra, liên quan đến việc phân phối qua đường dưới da, dụng cụ phân phối dạng bút dễ dàng được sử dụng để phân phối dược phẩm theo sáng chế. Dụng cụ phân phối dạng bút này có thể được tái sử dụng hoặc dùng một lần. Nói chung, dụng cụ phân phối dạng bút tái sử dụng bao gồm ống thay thế được chứa dược phẩm. Khi toàn bộ dược phẩm trong ống đã được dùng hết và ống trống rỗng, ống rỗng này dễ dàng được loại bỏ và thay bằng ống mới chứa dược phẩm. Tiếp theo, dụng cụ phân phối dạng bút được tái sử dụng. Trong dụng cụ phân phối dạng bút dùng một lần, không có ống thay thế. Thay vào đó, dụng cụ phân phối dạng bút dùng một lần được nạp sẵn dược phẩm giữ trong nguồn bên trong dụng cụ. Khi nguồn này hết dược phẩm, toàn bộ dụng cụ được loại bỏ.

Nhiều dụng cụ phân phối dạng bút hoặc tự tiêm đã được sử dụng để phân phối dưới da dược phẩm theo sáng chế. Các ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), bút DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Burghdorf, Switzerland), bút HUMALOG MIX 75/25™, bút HUMALOG™, bút HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II và III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), bút BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™, và OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany), v.v.. Các ví dụ về dụng cụ phân phối dạng bút dùng một lần để phân phối dưới da dược phẩm theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bút SOLOSTAR™ (Sanofi-Aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk), và KWIKPEN™ (Eli Lilly), thiết bị tự tiêm SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN (Dey, L.P.) và bút HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park, IL), v.v..

Thuận lợi, nếu dược phẩm để dùng qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa được mô tả ở trên được bào chế thành dạng liều đơn vị để phù hợp với liều hoạt chất. Các dạng liều đơn vị này bao gồm, ví dụ, viên nén, viên tròn, viên nang, thuốc tiêm, thuốc đạn, v.v. Nói chung, lượng kháng thể được chứa là nằm trong khoảng từ 5 đến 500mg trên dạng liều trong một liều đơn vị; đặc biệt là ở dạng tiêm, tốt hơn, nếu kháng thể được chứa nằm trong khoảng từ 5 đến 100mg và nằm trong khoảng từ 10 đến 250mg đối với các dạng liều khác.

Sử dụng kháng thể để điều trị

Kháng thể theo sáng chế hữu ích để điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh hoặc tình trạng bệnh lý liên quan đến virus MERS-corona như nhiễm MERS và/hoặc để làm giảm

nhẹ ít nhất một triệu chứng liên quan đến bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý này. Theo một phương án, kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo sáng chế có thể được sử dụng ở liều điều trị cho bệnh nhân nhiễm MERS.

Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế hữu ích để điều trị cho các đối tượng mắc bệnh nhiễm hô hấp cấp nghiêm trọng do virus MERS-corona gây ra. Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế hữu ích để làm giảm hiệu giá virus hoặc làm giảm tải lượng virus ở vật chủ. Theo một phương án, kháng thể theo sáng chế hữu ích để ngăn ngừa hoặc làm giảm bệnh viêm ở phổi của đối tượng nhiễm MERS. Theo một phương án, kháng thể theo sáng chế hữu ích để ngăn ngừa hoặc làm giảm bệnh viêm ở ruột, quanh phế quản hoặc quanh mạch, tổn thương phế nang và các thay đổi màng phổi ở đối tượng nhiễm MERS.

Một hoặc nhiều kháng thể theo sáng chế có thể được sử dụng để làm giảm hoặc ngăn ngừa hoặc làm giảm mức độ nghiêm trọng của một hoặc nhiều triệu chứng hoặc tình trạng bệnh lý của bệnh hoặc rối loạn. kháng thể này có thể được sử dụng để làm giảm nhẹ hoặc làm giảm mức độ nghiêm trọng của ít nhất một triệu chứng nhiễm MERS bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, sốt, ho, khó thở, viêm phổi, tiêu chảy, suy tạng (ví dụ, suy thận và loạn chức năng thận), sốc nhiễm trùng và tử vong.

Cũng được bao gồm trong bản mô tả này là sử dụng một hoặc nhiều kháng thể theo sáng chế mang tính phòng bệnh cho đối tượng có nguy cơ phát triển bệnh nhiễm MERS như các cá thể tổn thương miễn dịch, người cao tuổi (trên 65 tuổi), trẻ lớn hơn 2 tuổi, người du lịch tới các nước Trung Đông (ví dụ, Ả Rập Saudi, Tiểu vương quốc Ả Rập thống nhất, và Qatar), nhân viên y tế, người có tiếp xúc nghề nghiệp hoặc giải trí với lạc đà hoặc dơi, các thành viên gia đình tiếp xúc gần gũi với bệnh nhân MERS, người lớn hoặc trẻ em tiếp xúc gần gũi với người được xác định hoặc nghi nhiễm MERS, và các bệnh nhân có bệnh án (ví dụ, gia tăng nguy cơ mắc bệnh nhiễm phổi, bệnh tim hoặc bệnh đái tháo đường).

Theo phương án khác của sáng chế, kháng thể được sử dụng để bào chế được phẩm hoặc thuốc để điều trị bệnh nhân mắc bệnh nhiễm MERS. Theo phương án khác của sáng chế, kháng thể được sử dụng dưới dạng liệu pháp bổ sung với chất khác bất kỳ hoặc liệu pháp khác bất kỳ được chuyên gia trong lĩnh vực này biết rõ mà hữu ích để điều trị hoặc làm giảm nhẹ bệnh nhiễm MERS.

Liệu pháp kết hợp

Liệu pháp kết hợp bao gồm kháng thể kháng MERS-CoV-S theo sáng chế và chất điều trị bổ sung bất kỳ mà có thể kết hợp thuận lợi với kháng thể theo sáng chế, hoặc đoạn có hoạt tính sinh học của kháng thể theo sáng chế. Kháng thể theo sáng chế có thể

được kết hợp hiệp đồng với một hoặc nhiều dược chất hoặc liệu pháp được sử dụng để điều trị MERS. Theo một số phương án, kháng thể theo sáng chế có thể được kết hợp với chất điều trị thứ hai để làm giảm tải lượng virus ở bệnh nhân nhiễm MERS, hoặc để làm giảm nhẹ một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh nhiễm này.

Kháng thể theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với dược chất chống viêm (ví dụ, corticosteroid, dược chất chống viêm không phải steroid), dược chất chống nhiễm, kháng thể khác đối với protein gai của MERS-CoV, dược chất kháng virus, interferon-alpha-2b cộng với ribavirin trong bắp, huyết tương của bệnh nhân mới phục hồi, chất ức chế proteaza chính của virus, và chất ức chế lỗi vào/dung hợp hướng đích protein gai của MERS-CoV, vacxin ngừa MERS-CoV, chất kháng sinh, thực phẩm chức năng như chất chống oxy hóa và liệu pháp giảm đau khác bất kỳ để điều trị bệnh nhiễm MERS.

Theo một số phương án, chất điều trị thứ hai là kháng thể khác đối với protein gai của MERS-CoV. Dược bao gồm trong bản mô tả này là sử dụng tổ hợp (“hỗn hợp”) các kháng thể có hoạt tính trung hòa hoặc ức chế phổ rộng đối với MERS-CoV. Theo một số phương án, các kháng thể không cạnh tranh có thể được tổ hợp và dùng cho đối tượng cần điều trị, để làm giảm khả năng virus MERS trốn thoát do sự đột biến nhanh do kết quả của áp lực chọn lọc. Theo một số phương án, kháng thể chứa tổ hợp này liên kết với các epitop khác biệt không cạnh tranh trên protein gai. Kháng thể chứa tổ hợp này có thể phong bế sự liên kết của MERS-CoV với DPP4 hoặc có thể ngăn ngừa/ức chế sự dung hợp màng. Kháng thể chứa tổ hợp này có thể ức chế hoạt tính của MERS-CoV của một hoặc nhiều thể phân lập MERS-CoV bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, EMC/2012, Jordan-N3/2012, England-Qatar/2012, Al-Hasa_1_2013, Al-Hasa_2_2013, Al-Hasa_3_2013, Al-Hasa_4_2013, Al-Hasa_12, Al-Hasa_15, Al-Hasa_16, Al-Hasa_17, Al-Hasa_18, Al-Hasa_19, Al-Hasa_21, Al-Hasa_25, Bisha_1, Buraidah_1, England 1, Hafr-Al-Batin_1, Hafr-Al-Batin_2, Hafr-Al-Batin_6, Jeddah_1, KFU-HKU 1, KFU-HKU 13, Munich, Qatar3, Qatar4, Riyadh_1, Riyadh_2, Riyadh_3, Riyadh_3, Riyadh_4, Riyadh_5, Riyadh_9, Riyadh_14, Taif_1, UAE, và Wadi-Ad-Dawasir.

Cũng được bao gồm trong bản mô tả này là sử dụng tổ hợp kháng thể kháng MERS-CoV-S theo sáng chế, trong đó tổ hợp bao gồm một hoặc nhiều kháng thể không cạnh tranh chéo. Theo một số phương án, tổ hợp này bao gồm kháng thể thứ nhất có hoạt tính trung hòa phổ rộng với kháng thể thứ hai có hoạt tính kháng các thể phân lập phổ hẹp và không cạnh tranh chéo với kháng thể thứ nhất.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “tổ hợp với” có nghĩa là các thành phần hoạt tính điều trị bổ sung có thể được dùng trước, đồng thời với, hoặc sau khi dùng kháng thể kháng MERS-CoV-S theo sáng chế. Thuật ngữ “tổ hợp với” còn bao gồm

việc dùng theo trình tự hoặc đồng thời kháng thể MERS-CoV-S và chất điều trị thứ hai.

Các thành phần hoạt tính điều trị bổ sung có thể được dùng trước khi dùng kháng thể kháng MERS-CoV-S theo sáng chế. Ví dụ, thành phần thứ nhất có thể được dùng "trước" thành phần thứ hai nếu thành phần thứ nhất được dùng 1 tuần, 72 giờ, 60 giờ, 48 giờ, 36 giờ, 24 giờ, 12 giờ, 6 giờ, 5 giờ, 4 giờ, 3 giờ, 2 giờ, 1 giờ, 30 phút, 15 phút, 10 phút, 5 phút, hoặc nhỏ hơn 1 phút trước khi dùng thành phần thứ hai. Theo các phương án khác, thành phần hoạt tính điều trị bổ sung có thể được dùng cho đối tượng sau khi dùng kháng thể kháng MERS-CoV-S theo sáng chế. Ví dụ, thành phần thứ nhất có thể được dùng "sau" thành phần thứ hai nếu thành phần thứ nhất được dùng 1 phút, 5 phút, 10 phút, 15 phút, 30 phút, 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 12 giờ, 24 giờ, 36 giờ, 48 giờ, 60 giờ, 72 giờ sau khi dùng thành phần thứ hai. Theo các phương án khác, thành phần hoạt tính điều trị bổ sung có thể được dùng cho đối tượng đồng thời với việc dùng kháng thể kháng MERS-CoV-S theo sáng chế. Việc dùng "đồng thời", nhằm mục đích của sáng chế, bao gồm, ví dụ, dùng kháng thể kháng MERS-CoV-S và thành phần hoạt tính điều trị bổ sung cho đối tượng ở dạng liều duy nhất, hoặc ở các dạng liều riêng biệt được dùng cho đối tượng cách nhau trong vòng 30 phút hoặc nhỏ hơn. Nếu dùng ở các dạng liều riêng biệt, mỗi dạng liều có thể được dùng qua cùng đường (ví dụ, cả kháng thể kháng MERS-CoV-S lẫn thành phần hoạt tính điều trị bổ sung đều có thể được dùng qua đường trong tĩnh mạch, v.v.); theo cách khác, mỗi dạng liều có thể được dùng qua đường khác (ví dụ, kháng thể kháng MERS-CoV-S có thể được dùng qua đường trong tĩnh mạch, còn thành phần hoạt tính điều trị bổ sung có thể được dùng qua đường miệng). Trong trường hợp bất kỳ, việc dùng các thành phần này ở dạng liều duy nhất, ở các dạng liều riêng biệt qua cùng đường, hoặc ở các dạng liều riêng biệt qua các đường khác nhau đều được coi là "dùng đồng thời," nhằm mục đích của sáng chế. Nhằm mục đích của sáng chế, dùng kháng thể kháng MERS-CoV-S "trước khi", "đồng thời với" hoặc "sau khi" (khi các thuật ngữ này được xác định ở trên trong bản mô tả này) dùng thành phần hoạt tính điều trị bổ sung được coi là dùng kháng thể kháng MERS-CoV-S "kết hợp với" thành phần hoạt tính điều trị bổ sung.

Sáng chế bao gồm dược phẩm trong đó kháng thể kháng MERS-CoV-S theo sáng chế được bào chế cùng với một hoặc nhiều thành phần hoạt tính điều trị bổ sung như được mô tả đầu đó trong bản mô tả này.

Chế độ dùng

Theo một số phương án, liều duy nhất của kháng thể kháng MERS-CoV-S theo sáng chế (hoặc dược phẩm chứa tổ hợp của kháng thể kháng MERS-CoV-S và thành phần bất kỳ trong số các thành phần hoạt tính điều trị bổ sung nêu trong bản mô tả này)

có thể được dùng cho đối tượng cần điều trị. Theo một số phương án của sáng chế, nhiều liều kháng thể kháng MERS-CoV-S (hoặc được phẩm chứa tổ hợp của kháng thể kháng MERS-CoV-S và thành phần bất kỳ trong số các thành phần hoạt tính điều trị bổ sung nêu trong bản mô tả này) có thể được dùng cho đối tượng trong khoảng thời gian xác định. Phương pháp theo khía cạnh này của sáng chế bao gồm cho đối tượng dùng theo trình tự nhiều liều kháng thể kháng MERS-CoV-S. Khi được sử dụng trong bản mô tả này, "dùng theo trình tự" có nghĩa là mỗi liều kháng thể kháng MERS-CoV-S được dùng cho đối tượng ở thời điểm khác nhau, ví dụ, vào các ngày khác nhau các nhau một khoảng thời gian định trước (ví dụ, giờ, ngày, tuần hoặc tháng). Sáng chế đề cập đến phương pháp bao gồm cho đối tượng dùng theo trình tự liều ban đầu duy nhất của kháng thể kháng MERS-CoV-S, tiếp theo là một hoặc nhiều liều thứ hai của kháng thể kháng MERS-CoV-S, và tùy ý tiếp theo là một hoặc nhiều liều thứ ba của kháng thể kháng MERS-CoV-S.

Các thuật ngữ "liều ban đầu", "liều thứ hai", và "liều thứ ba," chỉ trình tự tạm thời dùng kháng thể kháng MERS-CoV-S theo sáng chế. Do đó, "liều ban đầu" là liều được dùng ở lúc bắt đầu chế độ điều trị (còn gọi là "liều cơ sở"); "liều thứ hai" là liều được dùng sau liều ban đầu; và "liều thứ ba" là liều được dùng sau liều thứ hai. Các liều ban đầu, thứ hai và thứ ba đều có thể chứa cùng lượng kháng thể kháng MERS-CoV-S, song nói chung có thể khác nhau về tần suất dùng. Theo một số phương án, tuy nhiên, lượng kháng thể kháng MERS-CoV-S chứa trong các liều ban đầu, thứ hai và/hoặc thứ ba theo là thay đổi (ví dụ, được điều chỉnh tăng giảm nếu thích hợp) trong quá trình điều trị. Theo một số phương án, hai hoặc nhiều (ví dụ, 2, 3, 4, hoặc 5) liều được dùng ở lúc bắt đầu chế độ điều trị dưới dạng "liều tải" tiếp theo là các liều trình tự được dùng trên cơ sở tần suất thấp hơn (ví dụ, "liều duy trì").

Theo một số phương án được lấy làm ví dụ của sáng chế, mỗi liều thứ hai và/hoặc thứ ba được dùng ở 1 đến 48 giờ (ví dụ, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½, hoặc hơn) sau liều ngay trước đó. Cụm từ "liều ngay trước đó", khi được sử dụng trong bản mô tả này, nghĩa là, trong trình tự nhiều lần dùng, liều kháng thể kháng MERS-CoV-S mà được dùng cho bệnh nhân trước khi dùng liều ngay tiếp theo trong trình tự này mà không có các liều xen vào.

Phương pháp theo khía cạnh này của sáng chế có thể bao gồm cho bệnh nhân dùng số liều thứ hai và/hoặc thứ ba bất kỳ của kháng thể kháng MERS-CoV-S. Ví dụ, theo một số phương án, chỉ có liều thứ hai duy nhất được dùng cho bệnh nhân. Theo các phương án

khác, hai hoặc nhiều (ví dụ, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, hoặc hơn) liều thứ hai được dùng cho bệnh nhân. Tương tự, theo một số phương án, chỉ có liều thứ ba duy nhất được dùng cho bệnh nhân. Theo các phương án khác, hai hoặc nhiều (ví dụ, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, hoặc hơn) liều thứ ba được dùng cho bệnh nhân

Theo một số phương án của sáng chế, tần suất liều thứ hai và/hoặc thứ ba được dùng cho bệnh nhân có thể thay đổi trong thời gian thực hiện chế độ điều trị. Tần suất dùng cũng có thể được điều chỉnh trong quá trình điều trị bởi bác sỹ tùy theo nhu cầu của từng bệnh nhân thực hiện xét nghiệm lâm sàng.

Sử dụng kháng thể để chẩn đoán

Kháng thể kháng MERS-CoV-S theo sáng chế có thể được sử dụng để phát hiện và/hoặc đo MERS-CoV trong mẫu, ví dụ, để chẩn đoán. Một số phương án bao gồm sử dụng một hoặc nhiều kháng thể theo sáng chế trong thử nghiệm để phát hiện bệnh hoặc rối loạn như bệnh nhiễm virus. Các thử nghiệm chẩn đoán được lấy làm ví dụ đối với MERS-CoV có thể bao gồm, ví dụ, cho mẫu, thu được từ bệnh nhân, tiếp xúc với kháng thể kháng MERS-CoV-S theo sáng chế, trong đó kháng thể kháng MERS-CoV-S được đánh dấu bằng chất đánh dấu phát hiện được hoặc phân tử thông báo hoặc được sử dụng dưới dạng phối tử bẫy để phân lập chọn lọc MERS-CoV từ mẫu bệnh nhân. Theo cách khác, kháng thể kháng MERS-CoV-S không được đánh dấu có thể được sử dụng trong các ứng dụng chẩn đoán kết hợp với kháng thể thứ cấp mà tự được đánh dấu phát hiện được. Chất đánh dấu phát hiện được hoặc phân tử thông báo có thể là chất đồng vị phóng xạ, như ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , hoặc ^{125}I ; nhóm phát huỳnh quang hoặc phát quang hóa học như fluorescein isothiocyanat, hoặc rhodamin; hoặc enzym như phosphatase kiềm, β -galactosidase, peroxidase cải ngựa, hoặc luciferase. Các thử nghiệm được lấy làm ví dụ cụ thể mà có thể được sử dụng để phát hiện hoặc đo MERS-CoV trong mẫu bao gồm thử nghiệm chất hấp phụ miễn dịch gắn enzym (Enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA), thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (Radioimmunoassay: RIA), và phân loại tế bào được hoạt hóa huỳnh quang (Fluorescence-activated cell sorting: FACS).

Mẫu mà có thể được sử dụng trong thử nghiệm chẩn đoán MERS-CoV theo sáng chế bao gồm mẫu mô hoặc dịch bất kỳ thu được từ bệnh nhân, chứa lượng phát hiện được của protein gai của MERS-CoV, hoặc đoạn của nó, trong tình trạng bình thường hoặc bệnh lý. Nói chung, mức protein gai của MERS-CoV trong mẫu cụ thể thu được từ bệnh nhân khỏe mạnh (ví dụ, bệnh nhân không bị đau bởi bệnh liên quan đến MERS-CoV) sẽ được đo để ban đầu thiết lập mức MERS-CoV cơ sở, chuẩn. Tiếp theo, mức cơ sở của MERS-CoV có thể được so sánh với mức MERS-CoV đo được trong các mẫu thu được từ các cá thể bị nghi là có tình trạng bệnh lý liên quan đến MERS-CoV, hoặc các triệu

chứng liên quan đến tình trạng bệnh lý này.

Kháng thể đặc hiệu với protein gai của MERS-CoV có thể không chứa các chất đánh dấu hoặc nhóm bổ sung, hoặc chúng có thể chứa chất đánh dấu hoặc nhóm ở đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C. Theo một phương án, chất đánh dấu hoặc nhóm là biotin. Trong thử nghiệm liên kết, vị trí của chất đánh dấu (nếu có) có thể xác định hướng của peptit so với bề mặt mà trên đó peptit này được liên kết. Ví dụ, nếu bề mặt được bao avidin, thì peptit chứa biotin ở đầu tận cùng N sẽ được định hướng sao cho phần đầu tận cùng C của peptit này sẽ cách xa bề mặt.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau được đưa ra để cung cấp cho chuyên gia trong lĩnh vực này việc bộc lộ và mô tả đầy đủ về cách tạo ra và sử dụng phương pháp và được phẩm theo sáng chế, và không dự tính làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Các nỗ lực đã được tạo ra nhằm đảm bảo độ chính xác liên quan đến các con số được sử dụng (ví dụ, lượng, nhiệt độ, v.v.) song một số sai số và độ lệch thực nghiệm cần được giải thích. Trừ khi có quy định khác, các phần là phần trọng lượng, trọng lượng phân tử là trọng lượng phân tử trung bình, nhiệt độ là độ C, nhiệt độ trong phòng là khoảng 25°C, và áp suất là ở hoặc gần áp suất khí quyển.

Ví dụ 1: Tạo kháng thể người đối với protein gai của MERS-CoV

Kháng thể người đối với protein gai của MERS-CoV đã được tạo ra ở chuột VELOCIMMUNE® chứa ADN mã hóa các vùng biến đổi của globulin miễn dịch chuỗi nặng và chuỗi nhẹ kappa của người. Chuột được gây miễn dịch bằng cấu trúc ADN mã hóa protein gai của MERS-CoV có chiều dài đầy đủ, tiếp theo là liều tăng cường chứa đoạn tinh sạch của protein gai nằm trong khoảng các axit amin 367 – 606 của GenBank Accession AFS88936.1 (SEQ ID NO: 457). Trình tự ADN bổ trợ có codon tối ưu hóa mã hóa protein MERS-CoV S (EMC/2012 – GenBank JX869059) được tổng hợp bằng GeneArt và tách dòng trong vector biểu hiện chuẩn. Plasmit mã hóa biến thể protein MERS-CoV S trong vùng liên kết với thụ thể (RBD) được tạo ra bằng cách gây đột biến bằng QuikChange II (Agilent Technologies) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Đáp ứng miễn dịch của kháng thể được theo dõi bằng thử nghiệm miễn dịch đặc hiệu với MERS-CoV-S. Khi đạt được đáp ứng miễn dịch mong muốn, tế bào lách được thu và dung hợp với tế bào u tủy của chuột để bảo tồn khả năng sống của chúng và tạo ra dòng tế bào lai. Các dòng tế bào lai được sàng lọc để nhận dạng dòng tế bào sản sinh kháng thể đặc hiệu với MERS-CoV-S. Trong tổng số 696 dòng tế bào lai biểu hiện kháng thể đặc hiệu với kháng nguyên, 182 dòng được phát hiện phong bế sự tương tác giữa

DPP4 và protein gai và 123 dòng phong bế MERSpp đi vào tế bào đích. Các dòng tế bào được lấy làm ví dụ tạo ra được bằng cách này được ký hiệu là HBVX06H05, HBVX11H04, HBVX11D02, HBVZ10E10, HBVY09F08, HBVZ05G02, HBVZ09B06, HBVY01F08, HBVY10G02, HBVY04B06, HBVY07D10, HBVZ08A09, HBVZ05G04, HBVY06C07, HBVY03H06, HBVZ10G06, HBVZ04F10, HBVX11E09, HBVY06H09, HBVZ05B11, HBVY02E05 và HBVZ04C07. Các dòng tế bào này được sử dụng để thu một số kháng thể dạng khảm kháng MERS-CoV-S (tức là kháng thể có các vùng biến đổi của người và các vùng ổn định của chuột); các kháng thể được lấy làm ví dụ tạo ra được bằng cách này được ký hiệu là H1M15277N, H2aM15279N, H1M15280N, H2aM15278N, H2aM15271N, H1M15267N, H2bM15292N, H2bM15291N, H1M15290N, H1M15293N, H1M15289N, H1M15269N, H2aM15287N, H1M15288N, H2aM15268N, H2aM15270N, H2aM15281N, và H2aM15272N.

Bảng 1 thể hiện các kháng thể dạng khảm chọn lọc thu được từ các dịch nổi tế bào lai tương ứng.

Bảng 1

Ab PID #	Tên dòng
H1M15267N	HBVX11H04
H1M15269N	HBVY07D10
H1M15277N	HBVX06H05
H1M15280N	HBVZ09B06
H1M15288N	HBVY02E05
H1M15289N	HBVY03H06
H1M15290N	HBVZ04F10
H1M15293N	HBVZ10G06
H2aM15268N	HBVY04B06
H2aM15270N	HBVY09F08
H2aM15271N	HBVY10G02
H2aM15272N	HBVZ05G02
H2aM15278N	HBVX11D02
H2aM15279N	HBVY01F08
H2aM15281N	HBVZ10E10
H2aM15287N	HBVX11E09
H2bM15291N	HBVZ05G04
H2bM15292N	HBVZ08A09

Kháng thể kháng MERS-CoV-S cũng được phân lập trực tiếp từ tế bào B của chuột dương tính với kháng nguyên mà không dung hợp với tế bào u tủy, như được mô tả trong patent Mỹ số 7582298, tài liệu này được đưa vào trong bản mô tả này theo cách viện dẫn. Bằng cách sử dụng phương pháp này, một số kháng thể kháng MERS-CoV-S của người hoàn toàn (tức là các kháng thể có vùng biến đổi của người và vùng ổn định của người) được thu; các kháng thể được lấy làm ví dụ tạo ra được bằng cách này được ký hiệu là H4sH15188P, H1H15188P, H1H15211P, H1H15177P, H4sH15211P, H1H15260P2, H1H15259P2, H1H15203P, H4sH15260P2, H4sH15231P2, H1H15237P2, H1H15208P, H1H15228P2, H1H15233P2, H1H15264P2, H1H15231P2, H1H15253P2, H1H15215P, và H1H15249P2.

Các đặc tính sinh học của các kháng thể được lấy làm ví dụ tạo ra được bằng các phương pháp của Ví dụ này được mô tả chi tiết trong các ví dụ nêu ở dưới.

Ví dụ 2: Xác định đặc điểm của dịch nổi tế bào lai

Thử nghiệm liên kết ELISA được thực hiện để nhận dạng dịch nổi kháng thể (thu được từ tế bào lai như được mô tả ở trên) mà liên kết với protein gai của MERS-CoV. Protein gồm vùng liên kết với thụ thể của MERS-CoV-S (aa E367-Y606) được biểu hiện với phần Fc của phân tử IgG1 của người ở đầu tận cùng C (MERS RBD-hFc; SEQ ID NO: 458) được bao ở 2 $\mu\text{g/ml}$ trên đĩa 96 lỗ trong dung dịch đệm PBS qua đêm ở 4°C. Tiếp theo, các vị trí liên kết không đặc hiệu được phong bế bằng cách sử dụng dung dịch BSA 0,5% (w/v) trong PBS. Dịch nổi tế bào lai được pha loãng 1:50 trong dung dịch đệm phong bế và cho liên kết với đĩa đã được bao MERS RBD trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi rửa, kháng thể liên kết được phát hiện bằng kháng thể đa dòng a-hFc liên hợp với HRP (Jackson Immunochemical). Mẫu được phát triển bằng dung dịch 3,3',5,5' - tetramethylbenzidin (TMB; BD Biosciences) để tạo phản ứng tạo màu tiếp theo trung hòa bằng axit sulfuric 1M trước khi đo độ hấp thụ ở 450nm bằng máy đọc đĩa Victor (Perkin Elmer). Kết quả được thể hiện trên Fig.1. Cường độ tín hiệu ở 450nm được sử dụng để chọn kháng thể cho bước xác định đặc điểm tiếp theo.

Các hằng số tổ hợp và phân ly (lần lượt là k_a và k_d), hằng số phân ly cân bằng và thời gian bán hủy phân ly (lần lượt là K_D và $t_{1/2}$) đối với kháng nguyên liên kết với dịch nổi tế bào lai được xác định bằng thử nghiệm cảm biến sinh học bề mặt thời gian thực trên thiết bị Biacore 4000 hoặc Biacore T200 (được mô tả chi tiết trong ví dụ 4). Như được thể hiện trên Fig.1, 21 trong số 22 kháng thể lai liên kết với protein gai của MERS-CoV với trị số K_D nằm trong khoảng từ 245pM đến 21,5nM.

Khả năng của kháng thể kháng protein gai của MERS virus corona phong bế vùng liên kết với thụ thể của MERS (MERS-RBD) liên kết với phần liên kết cùng họ,

dipeptidyl peptidaza 4 của người (hDPP4), được đánh giá bằng thử nghiệm miễn dịch trên cơ sở ELISA. Nói vắn tắt, dipeptidyl peptidaza 4 của người có đuôi 6xHistidin ở đầu tận cùng C (hDPP4-6His; R&D cat#1180-SE) được bao ở 2 μ g/mL trên đĩa 96 lỗ trong dung dịch đệm PBS qua đêm ở 4°C. Tiếp theo, các vị trí liên kết không đặc hiệu được phong bế bằng cách sử dụng dung dịch BSA 0,5% (w/v) trong PBS. Đĩa này được sử dụng để đo MERS-RBD (aa E367-Y606) có phần Fc của phân tử IgG1 của người ở đầu tận cùng C (MERS RBD-hFc; SEQ ID NO: 458) trong dung dịch MERS RBD-hFc được cân bằng trước bằng dịch nổi kháng thể kháng MERS pha loãng. Nồng độ không đổi của 300pM MERS RBD-hFc được trộn sơ bộ với 10% thể tích dịch nổi kháng thể kháng MERS, tiếp theo ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng (RT) để liên kết kháng nguyên-kháng thể đạt tới sự cân bằng. Tiếp theo, dung dịch mẫu đã cân bằng được chuyển sang đĩa đã bao hDPP4-6his. Sau 1 giờ liên kết ở RT, đĩa được rửa và MERS RBD được liên kết được phát hiện bằng kháng thể đa dòng a-hFc liên hợp với HRP (Jackson Immunochemical). Mẫu được phát triển bằng dung dịch TMB (BD Biosciences, #51-2606KC và #51-2607KC) để tạo ra phản ứng tạo màu và tiếp theo trung hòa bằng axit sulfuric 1M trước khi đo độ hấp thụ ở 450nm bằng máy đọc đĩa Victor X5. Độ hấp thụ đo được đối với nồng độ không đổi của một mình MERS RBD-hFc được xác định là 0% phong bế và độ hấp thụ đo được đối với MERS RBD-hFc không được bổ sung được xác định là 100% phong bế. Phần trăm phong bế được tính là tỷ lệ giảm tín hiệu quan sát được khi có mặt kháng thể so với hiệu số giữa tín hiệu với một mình MERS RBD-hFc và nền (tín hiệu từ một mình kháng thể a-hFc liên hợp với HRP) được trừ đi bởi 100% phong bế như xác định được trước đó.

Như được thể hiện trên Fig.1, 17 trong số 22 kháng thể kháng MERS-CoV-S được tạo ra từ các dòng tế bào lai độc lập khác biệt phong bế hơn 90% liên kết của protein gai của MERS-CoV với DPP4.

Các kháng thể kháng MERS-CoV-S được tạo ra từ các dòng tế bào lai độc lập khác biệt được thử nghiệm về việc trung hòa tính nhiễm MERS (chi tiết thử nghiệm trong ví dụ 5). Như được thể hiện trên Fig.1, 12 trong số 22 kháng thể tế bào lai kháng MERS-CoV-S ức chế hoặc trung hòa hơn 90% tính nhiễm MERS và với IC₅₀ nằm trong khoảng từ 68,4pM đến 3,58nM.

Ví dụ 3: Các trình tự axit amin và nucleotit của vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ

Bảng 2 nêu các ký hiệu nhận dạng trình tự axit amin của các vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ và các CDR của các kháng thể kháng MERS-CoV-S chọn lọc theo sáng chế.

Bảng 2: Ký hiệu nhận dạng trình tự axit amin

	SEQ ID NO:							
Ký hiệu kháng thể	HCV R	HCDR 1	HCDR 2	HCDR 3	LCV R	LCDR 1	LCDR 2	LCDR 3
H1H15177P	2	4	6	8	10	12	14	16
H1H15188P	18	20	22	24	26	28	30	32
H1H15203P	34	36	38	40	42	44	46	48
H1H15208P	50	52	54	56	58	60	62	64
H1H15211P	66	68	70	72	74	76	78	80
H1H15215P	82	84	86	88	90	92	94	96
H1H15228P2	98	100	102	104	106	108	110	112
H1H15231P2	114	116	118	120	106	108	110	112
H1H15233P2	122	124	126	128	106	108	110	112
H1H15237P2	130	132	134	136	106	108	110	112
H1H15249P2	138	140	142	144	106	108	110	112
H1H15253P2	146	148	150	152	106	108	110	112
H1H15259P2	154	156	158	160	162	164	166	168
H1H15260P2	170	172	174	176	162	164	166	168
H1H15264P2	178	180	182	184	162	164	166	168
H1M15267N 2	186	188	190	192	194	196	198	200
H1M15269N	202	204	206	208	210	212	214	216
H1M15277N	218	220	222	224	226	228	230	232
H1M15280N	234	236	238	240	242	244	246	248
H1M15289N	250	252	254	256	258	260	262	264
H1M15290N	266	268	270	272	274	276	278	280
H1M15293N	282	284	286	288	290	292	294	296
H2M15268N	298	300	302	304	306	308	310	312
H2M15270N	314	316	318	320	322	324	326	328
H2M15271N	330	332	334	336	338	340	342	344
H2M15272N	346	348	350	352	354	356	358	360
H2M15278N	362	364	366	368	370	372	374	376
H2M15279N	378	380	382	384	386	388	390	392
H2M15281N	394	396	398	400	402	404	406	408
H2M15287N	410	412	414	416	418	420	422	424

H2M15291N	426	428	430	432	434	436	438	440
H2M15292N	442	444	446	448	450	452	454	456

Các ký hiệu nhận dạng trình tự axit amin tương ứng được nêu trong bảng 3.

Bảng 3: Các ký hiệu nhận dạng trình tự axit nucleic

Ký hiệu kháng thể	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR 1	HCDR 2	HCDR 3	LCV R	LCDR 1	LCDR 2	LCDR 3
H1H15177P	1	3	5	7	9	11	13	15
H1H15188P	17	19	21	23	25	27	29	31
H1H15203P	33	35	37	39	41	43	45	47
H1H15208P	49	51	53	55	57	59	61	63
H1H15211P	65	67	69	71	73	75	77	79
H1H15215P	81	83	85	87	89	91	93	95
H1H15228P2	97	99	101	103	105	107	109	111
H1H15231P2	113	115	117	119	105	107	109	111
H1H15233P2	121	123	125	127	105	107	109	111
H1H15237P2	129	131	133	135	105	107	109	111
H1H15249P2	137	139	141	143	105	107	109	111
H1H15253P2	145	147	149	151	105	107	109	111
H1H15259P2	153	155	157	159	161	163	165	167
H1H15260P2	169	171	173	175	161	163	165	167
H1H15264P2	177	179	181	183	161	163	165	167
H1M15267N2	185	187	189	191	193	195	197	199
H1M15269N	201	203	205	207	209	211	213	215
H1M15277N	217	219	221	223	225	227	229	231
H1M15280N	233	235	237	239	241	243	245	247
H1M15289N	249	251	253	255	257	259	261	263
H1M15290N	265	267	269	271	273	275	277	279
H1M15293N	281	283	285	287	289	291	293	295
H2M15268N	297	299	301	303	305	307	309	311
H2M15270N	313	315	317	319	321	323	325	327
H2M15271N	329	331	333	335	337	339	341	343

H2M15272N	345	347	349	351	353	355	357	359
H2M15278N	361	363	365	367	369	371	373	375
H2M15279N	377	379	381	383	385	387	389	391
H2M15281N	393	395	397	399	401	403	405	407
H2M15287N	409	411	413	415	417	419	421	423
H2M15291N	425	427	429	431	433	435	437	439
H2M15292N	441	443	445	447	449	451	453	455

Các kháng thể thường được viện dẫn trong bản mô tả này theo các danh pháp sau: Đầu ngữ Fc (ví dụ, "H4sH," "H1M," "H2M," v.v.), tiếp theo là ký hiệu nhận dạng bằng số (ví dụ, "15177," "15228," "15268," v.v., như được thể hiện trong bảng 2), tiếp theo là tiếp ngữ "P," "P2," "N," hoặc "B". Do đó, theo danh pháp này, kháng thể có thể được viện dẫn trong bản mô tả này là, ví dụ, "H1H15177P," "H1H15228P2," "H2M15268N," v.v. Các đầu ngữ H4sH, H1M, và H2M đối với các ký hiệu kháng thể được sử dụng trong bản mô tả này chỉ ra isotyp vùng Fc cụ thể. Ví dụ, kháng thể "H4sH" có IgG4 Fc của người với 2 hoặc nhiều thay đổi axit amin như được bộc lộ trong US20100331527, kháng thể "H1M" có IgG1 Fc của chuột, và kháng thể "H2M" có IgG2 Fc của chuột (hoặc isotyp a hoặc b) (tất cả các vùng biến đổi đều là của người hoàn toàn như được biểu thị bằng chữ 'H' đầu tiên trong ký hiệu kháng thể). Như được chuyên gia trong lĩnh vực này biết rõ, kháng thể có isotyp Fc cụ thể có thể được chuyển hóa thành kháng thể có isotyp Fc khác (ví dụ, kháng thể có IgG1 Fc của chuột có thể được chuyển hóa thành kháng thể có IgG4 của người, v.v.), song trong trường hợp bất kỳ, các vùng biến đổi (bao gồm các CDR) – mà được chỉ ra bằng các ký hiệu nhận dạng trong bảng 2 – sẽ vẫn giống nhau, và các đặc tính liên kết với kháng nguyên được tin là giống nhau hoặc hầu như tương tự bất kể tính chất của vùng Fc.

Ví dụ 4: Kháng thể liên kết với MERS-CoV-S khi xác định bằng cộng hưởng plasmon bề mặt

Các hằng số tốc độ tổ hợp và phân ly (lần lượt là k_a và k_d), hằng số phân ly cân bằng và thời gian bán hủy phân ly (lần lượt là K_D và $t_{1/2}$) đối với kháng nguyên liên kết với kháng thể hoặc dịch nổi tế bào lai kháng MERS-CoV-S được xác định bằng thử nghiệm cảm biến sinh học plasmon bề mặt thời gian thực trên thiết bị Biacore 4000 hoặc Biacore T200. Bề mặt cảm biến của Biacore được tạo dẫn xuất bằng kháng thể thỏ đa dòng kháng chuột (GE, # BR-1008-38) hoặc bằng kháng thể chuột đơn dòng kháng Fc của người (GE, # BR-1008-39) để bẫy khoảng 100-900 RU kháng thể đơn dòng kháng MERS-CoV-S, lần

lượt được biểu hiện bằng Fc của chuột hoặc Fc của người. Chất phản ứng MERS-CoV được thử nghiệm về việc liên kết với kháng thể kháng MERS-CoV-S bao gồm vùng liên kết với thụ thể MERS-CoV-S tái tổ hợp được biểu hiện bằng IgG1 Fc của người ở đầu tận cùng C (MERS RBD-hFc; SEQ ID NO: 458). Nồng độ khác nhau của chất phản ứng MERS-CoV nằm trong khoảng từ 3,7nM đến 200nM được tiêm lên bề mặt đã bất kháng thể đơn dòng kháng MERS-CoV-S ở lưu tốc 30µL/phút trên Biacore 4000 hoặc ở 50µL/phút trên Biacore T200. Sự liên kết của chất phản ứng MERS-CoV với kháng thể đơn dòng đã bất được theo dõi trong 3 đến 5 phút trong khi sự phân ly của chúng khỏi kháng thể được theo dõi trong 7 đến 10 phút trong dung dịch đệm chạy HBST (0,01M HEPES độ pH 7,4, 0,15M NaCl, 3mM EDTA, 0,05% v/v Surfactant P20). Các thí nghiệm được thực hiện ở 25°C. Các hằng số tốc độ tổ hợp (k_a) và phân ly (k_d) động học được xác định bằng cách xử lý và điều chỉnh liệu theo mô hình liên kết 1:1 bằng phần mềm điều chỉnh đường cong Scrubber 2.0c. Tiếp theo, hằng số cân bằng phân ly liên kết (K_D) và thời gian bán hủy phân ly ($t_{1/2}$) được tính từ các hằng số tốc độ động học là: K_D (M) = k_d / k_a và $t_{1/2}$ (phút) = $[\ln 2 / (60 * k_d)]$.

Trong thí nghiệm đầu tiên, hằng số cân bằng phân ly liên kết và thời gian bán hủy phân ly được xác định đối với 22 dịch nổi tế bào lai (được mô tả trong ví dụ 2).

Trong các thí nghiệm tiếp theo, các kháng thể tinh sạch được thử nghiệm về sự liên kết với protein gai của MERS-CoV bằng cách sử dụng thử nghiệm cộng hưởng plasmon bề mặt được mô tả ở trên.

Bảng 4

Động học liên kết @ 25°C						
mAb được bắt	Mức bắt mAb (RU)	100nM Ag được liên kết (RU)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (phút)
H2aM15281N	223 ± 0,8	127	2,10E+06	8,18E-04	3,90E-10	14
H1M15289N	224 ± 1,5	88	2,10E+05	4,41E-05	2,10E-10	262
H1M15267N	173 ± 0,7	109	8,43E+05	1,53E-04	1,81E-10	75
H2aM15272N	229 ± 1,1	120	1,65E+06	7,33E-04	4,43E-10	16
H2aM15279N	195 ± 0,7	127	8,70E+05	8,91E-05	1,02E-10	130
H2aM15278N	230 ± 1	118	1,72E+06	8,73E-04	5,06E-10	13
H2aM15268N	174 ± 0,6	121	2,68E+06	9,50E-04	3,55E-10	12
H2aM15270N	182 ± 0,7	107	7,79E+05	6,05E-04	7,76E-10	19
H1M15277N	211 ± 1	150	2,63E+06	9,10E-04	3,46E-10	13

H2bM15292N	185 ± 1,2	95	4,57E+05	1,55E-04	3,40E-10	75
H2aM15271N	227 ± 1,4	112	9,08E+05	1,24E-03	1,37E-09	9
H1M15269N	268 ± 2,8	83	1,76E+05	1,08E-04	6,16E-10	107
H1M15290N	210 ± 1,9	108	4,82E+05	2,11E-04	4,38E-10	55
H1M15293N	187 ± 0,9	91	6,04E+05	1,98E-04	3,28E-10	58
H2bM15291N	179 ± 1,8	83	2,52E+05	1,41E-04	5,59E-10	82
H1M15288N	149 ± 1	55	1,73E+05	7,16E-04	4,15E-09	16
H2aM15287N	186 ± 1,9	50	6,33E+04	4,42E-04	6,98E-09	26
H1M15280N	168 ± 0,8	56	2,83E+05	5,25E-03	1,85E-08	2,2
H1H15233P2	250 ± 13,2	141	1,99E+05	4,56E-05	2,29E-10	253
H1H15231P2	228 ± 3,8	154	6,39E+05	7,44E-05	1,16E-10	155
H1H15188P	189 ± 1,4	158	1,48E+06	1,22E-04	8,25E-11	95
H1H15211P	226 ± 1,1	180	1,13E+06	8,72E-05	7,75E-11	133
H1H15249P2	195 ± 1,2	99	3,49E+05	7,91E-05	2,27E-10	146
H1H15260P2	242 ± 2	164	1,16E+06	1,60E-04	1,38E-10	72
H1H15203P	128 ± 1,4	100	4,43E+05	1,21E-04	2,73E-10	95
H1H15237P2	171 ± 2,2	131	4,39E+05	1,20E-04	2,74E-10	96
H1H15264P2	110 ± 2,9	66	2,23E+05	1,86E-04	8,33E-10	62
H1H15228P2	144 ± 4,3	113	4,43E+05	1,85E-04	4,18E-10	63
H1H15208P	114 ± 4,3	98	4,39E+05	2,43E-04	5,53E-10	48
H1H15177P	135 ± 1,3	105	4,93E+05	1,92E-04	3,90E-10	60
H1H15253P2	127 ± 1,7	94	3,56E+05	1,24E-04	3,48E-10	93
H1H15215P	171 ± 1	86	1,44E+05	9,67E-05	6,71E-10	119
H1H15259P2	234 ± 2,1	142	2,26E+05	3,77E-04	1,67E-09	31

Bảng 5

	Động học liên kết @ 37°C					
mAb được bắt	Mức bắt mAb (RU)	100nM Ag (RU)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	t½ (phút)
H2aM15281N	276 ± 1,6	140	2,55E+06	5,43E-04	2,13E-10	21
H1M15289N	271 ± 2,2	119	4,59E+05	1,26E-04	2,75E-10	92
H1M15267N	202 ± 1,1	132	2,37E+06	7,45E-04	3,14E-10	16
H2aM15272N	284 ± 1,9	135	2,00E+06	6,34E-04	3,16E-10	18
H2aM15279N	229 ± 1	150	1,39E+06	4,45E-04	3,20E-10	26

H2aM15278N	266 ± 1,1	127	2,17E+06	1,13E-03	5,19E-10	10
H2aM15268N	208 ± 1,1	126	3,75E+06	2,02E-03	5,37E-10	6
H2aM15270N	219 ± 0,8	128	1,75E+06	1,14E-03	6,51E-10	10
H1M15277N	246 ± 1,1	156	3,24E+06	2,18E-03	6,71E-10	5
H2bM15292N	242 ± 0,6	117	5,44E+05	5,24E-04	9,63E-10	22
H2aM15271N	276 ± 1,5	117	1,45E+06	1,45E-03	1,00E-09	8
H1M15269N	319 ± 1,7	107	2,54E+05	3,39E-04	1,34E-09	34
H1M15290N	243 ± 1,8	117	6,66E+05	9,84E-04	1,48E-09	12
H1M15293N	213 ± 1,7	112	5,12E+05	8,53E-04	1,66E-09	14
H2bM15291N	229 ± 1,7	97	3,42E+05	6,40E-04	1,87E-09	18
H1M15288N	176 ± 1	69	2,73E+05	2,08E-03	7,61E-09	6
H2aM15287N	228 ± 1,4	61	1,74E+05	1,89E-03	1,09E-08	6
H1M15280N	196 ± 1	59	4,97E+05	6,57E-03	1,32E-08	1,8
H1H15233P2	317 ± 6,9	184	3,74E+05	4,74E-05	1,27E-10	244
H1H15231P2	306 ± 4,3	228	6,59E+05	9,19E-05	1,39E-10	126
H1H15188P	267 ± 1,6	217	1,59E+06	2,65E-04	1,67E-10	44
H1H15211P	305 ± 2,7	232	8,27E+05	1,60E-04	1,94E-10	72
H1H15249P2	260 ± 2,3	157	4,42E+05	1,27E-04	2,88E-10	91
H1H15260P2	322 ± 2,5	220	1,05E+06	5,47E-04	5,19E-10	21
H1H15203P	179 ± 1,2	106	5,01E+05	3,23E-04	6,45E-10	36
H1H15237P2	218 ± 1,4	181	5,14E+05	4,09E-04	7,97E-10	28
H1H15264P2	149 ± 2,1	106	5,07E+05	4,75E-04	9,36E-10	24
H1H15228P2	188 ± 2	157	4,76E+05	4,64E-04	9,75E-10	25
H1H15208P	151 ± 3,6	145	5,25E+05	5,31E-04	1,01E-09	22
H1H15177P	181 ± 1,5	149	5,68E+05	7,01E-04	1,23E-09	16
H1H15253P2	172 ± 0,7	139	4,36E+05	6,29E-04	1,44E-09	18
H1H15215P	224 ± 2,1	96	1,38E+05	2,33E-04	1,68E-09	50
H1H15259P2	282 ± 3,8	173	4,78E+05	8,88E-04	1,86E-09	13

Như được thể hiện trong các Bảng 4 và 5, các kháng thể liên kết với protein gai của MERS-CoV có trị số K_D nằm trong khoảng từ 77,5pM đến 18,5nM ở 25°C và nằm trong khoảng từ 127pM đến 13,2nM ở 37°C. Các kháng thể này có trị số thời gian bán hủy phân ly ($t_{1/2}$) nằm trong khoảng từ 2,2 đến 262 phút ở 25°C và nằm trong khoảng từ 1,8 đến 244 phút ở 37°C.

Ví dụ 5: Trung hòa tính nhiễm MERS qua trung gian kháng thể

Vật liệu và phương pháp

Tạo hạt giả

Hạt giả MERS (MERSpp; còn gọi là hạt tương tự virus – VLP) được tạo ra bằng cách cùng chuyển nhiễm tế bào 293T bằng hỗn hợp cấu trúc plasmid biểu hiện protein gai của MERS-CoV, gag-pol của HIV, và vectơ tiền virus HIV mã hóa luciferaza đom đóm. Dịch nổi chứa MERSpp được thu ở 72 giờ sau chuyển nhiễm, làm sạch bằng cách ly tâm, cô, chia thành phần mẫu và làm lạnh ở -80°C . Hạt giả đối chứng được tạo ra bằng cách thay thế plasmid biểu hiện protein gai của MERS-CoV bằng plasmid mã hóa Glycoprotein của virus gây bệnh viêm miệng có mụn nước (Vesicular Stomatitis Virus Glycoprotein: VSVg).

Thử nghiệm trên cơ sở MERSpp

Các dung dịch kháng thể pha loãng được ủ với MERSpp trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Các tế bào Huh7 trong môi trường DMEM đầy đủ được tách bằng EDTA 1%, rửa và ủ với hỗn hợp kháng thể/MERSpp trong 72 giờ. Hiệu quả gây nhiễm được định lượng bằng cách phát hiện luciferaza bằng thử nghiệm luciferaza BrightGlo® (Promega, San Luis Obispo, CA, USA) và đọc bằng máy đọc đĩa Victor® X3 (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) để tạo ra ánh sáng.

Thử nghiệm trên cơ sở virus

1×10^4 tế bào Vero E6/lỗ được cấy vào đĩa 96 lỗ ở 1 ngày trước khi thử nghiệm. 500 TCID₅₀ của chủng MERS-CoV EMC/2012 được trộn với lượng kháng thể đã định trong 100ul môi trường sinh trưởng Vero E6 bình thường và ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút và tiếp theo hỗn hợp này được thêm vào tế bào Vero E6. Ở 2 ngày sau nhiễm, tế bào chết được đánh giá bằng CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay (Promega) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Mức phát quang được đọc bằng máy đọc đĩa Spectramax M (Molecular Devices). Số liệu được trình bày dưới dạng phần trăm đối chứng bị nhiễm giả.

Kết quả

Trung hòa MERS-CoV bằng kháng thể kháng MERS-CoV-S

Trong thử nghiệm đầu tiên, kháng thể kháng MERS-CoV-S được tạo ra từ các dòng tế bào lai độc lập khác biệt được thử nghiệm về việc trung hòa tính nhiễm MERS. Như được thể hiện trên Fig.1, 12 trong số 22 kháng thể tế bào lai kháng MERS-CoV-S ức chế hoặc trung hòa hơn 90% tính nhiễm MERS và với IC₅₀ nằm trong khoảng từ 68,4pM đến 3,58nM.

Trong các thử nghiệm tiếp theo, các kháng thể tinh sạch được thử nghiệm về việc trung hòa MER Spp và virus MERS sống (thể phân lập: EMC/2012). Kết quả được thể hiện trong bảng 6 và Bảng 7.

Bảng 6

Kháng thể	IC ₅₀ kháng MER Spp (M)	IC ₅₀ kháng virus sống (EMC2012) (M)
H1M15277N	6,46E-11	2,87E-10
H2aM15279N	9,39E-11	8,25E-10
H1M15280N	1,11E-10	7,63E-10
H2aM15278N	1,42E-10	6,44E-10
H2aM15271N	1,27E-10	1,03E-09
H1M15267N	9,98E-11	8,91E-10
H2bM15292N	1,13E-10	2,26E-09
H2bM15291N	1,86E-10	2,22E-09
H1M15290N	2,10E-10	2,55E-09
H1M15293N	2,58E-10	2,58E-09
H1M15289N	2,81E-10	3,15E-09
H1M15269N	6,88E-10	6,80E-09
H2aM15287N	2,93E-09	8,92E-09
H1M15288N	~0,1209	2,66E-08
H2aM15268N	5,89E-11	2,72E-10
H2aM15270N	1,02E-10	7,11E-10
H2aM15281N	7,85E-11	2,92E-10
H2aM15272N	7,23E-11	5,69E-10

Bảng 7

Kháng thể	IC ₅₀ kháng MER Spp (M)	IC ₅₀ kháng virus sống (EMC2012) (M)
H1H15211P	4,74E-11	3,69E-10
H1H15188P	6,20E-11	5,05E-10
H1H15177P	4,57E-11	6,29E-10
H1H15203P	7,65E-11	8,26E-10
H1H15228P2	9,75E-11	8,98E-10
H1H15231P2	1,02E-10	9,20E-10

H1H15237P2	6,60E-11	1,01E-09
H1H15233P2	8,73E-11	1,37E-09
H1H15259P2	7,64E-11	1,63E-09
H1H15264P2	1,34E-10	2,39E-09
H1H15208P	8,27E-11	2,41E-09
H1H15253P2	1,51E-10	2,42E-09
H1H15215P	1,92E-10	2,67E-09
H1H15260P2	6,43E-11	6,70E-09
H1H15249P2	2,27E-10	1,20E-08
H4sH15188P	2,91E-11	NA
H4sH15211P	6,08E-11	NA
H4sH15260P2	6,24E-11	NA
H4sH15231P2	7,33E-11	NA

Số liệu ở trên chỉ ra rằng kháng thể kháng MERS-CoV-S theo sáng chế có khả năng phong bế MERS-CoV đi vào tế bào dễ bị nhiễm và trung hòa tính nhiễm.

Trung hòa thể phân lập lâm sàng bằng kháng thể kháng MERS-CoV-S

Virut ARN mã hóa bộ máy sao chép hệ gen chính xác thấp, cho phép chúng thích nghi nhanh với môi trường vật chủ của chúng (Malpica et al 2002; Genetics 162: 1505-1511). Tuy nhiên, các virut corona, như MERS-CoV, mã hóa protein không cấu trúc với hoạt tính 3'-đến-5' exo-ribonucleaza, tạo ra chức năng đọc sửa trong quá trình sao chép của chúng và làm gia tăng đáng kể khả năng mã hóa của hệ gen mà không dẫn đến thảm họa đột biến (Cotton et al 2013; Lancet doi:10.1016/S0140-6736(13)61887-5). Mặc dù vậy, việc xác định trình tự của nhiều thể phân lập lâm sàng được lấy mẫu trong hai năm đầu của dịch bệnh MERS-CoV chỉ ra rằng protein MERS-CoV S của virut này đang tiến hóa (Cotton et al 2014; MBio 5 doi:10.1128/mBio.01062-13). Đối với nghiên cứu này, 38 trình tự của các thể phân lập lâm sàng MERS-CoV lưu giữ tại NCBI được sắp hàng và so sánh với trình tự của chủng phân lập ban đầu, EMC/2012. Trên cơ sở thiết kế thử nghiệm sàng lọc, kháng thể theo sáng chế được tin là liên kết bên trong RBD của protein MERS-CoV S, nên việc so sánh trình tự đặc biệt tập trung vào các axit amin 367-606. Bảy axit amin khác nhau đã được nhận dạng là khác nhau giữa các thể phân lập lâm sàng đã xác định được trình tự và trình tự EMC/2012 ban đầu, A431P, S457G, S460F, A482V, L506F, D509G và V534A (Bảng 8).

Bảng 8

Thay đổi axit amin	Thế phân lập
A431P	Riyadh_9
S457G	KFU-HKU 1; KFU-HKU 13
S469F	Qatar3; Qatar4
A482V	Riyadh_9
L506F	England 1; England-Qatar/2012
D509G	Bisha_1; Riyadh_1
V534A	Riyadh_2

Để thử nghiệm khả năng kháng thể liên kết với các vùng bảo toàn bên trong RBD và trung hòa tất cả các thế phân lập lâm sàng MERS-CoV đã xác định được trình tự vào tháng 7-2014, phương pháp gây đột biến định vị được sử dụng để tạo ra các cấu trúc plasmit mã hóa tất cả các biến thể protein S. Chúng được sử dụng để tạo ra MERspp kiểu giả với protein S được cải biến và thực hiện các thử nghiệm trung hòa. Kháng thể tinh sạch (được mô tả trong ví dụ 1) được thử nghiệm về việc trung hòa tính nhiễm MERS bằng cách sử dụng MERspp tạo ra được với các đột biến nêu trên. Các Bảng 9 và 10 thể hiện phần trăm trung hòa biến thể của MERspp.

Bảng 9

Biến thể RBD	wt	A431P	S457G	S460F	A482V	L506F	D509G
Kháng thể $\mu\text{g/mL}$	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
H1M15267N	71,65%	68,15%	70,81%	76,82%	66,78%	57,11%	84,91%
H1M15269N	7,19%	11,87%	27,48%	19,57%	7,74%	21,09%	7,08%
H1M15280N	56,69%	59,42%	74,42%	73,14%	65,89%	65,90%	38,21%
H1M15277N	75,83%	89,05%	90,07%	89,35%	75,14%	83,27%	62,26%
H2aM15268N	79,86%	89,51%	93,08%	89,11%	83,50%	88,63%	87,74%
H2aM15270N	63,45%	81,24%	81,64%	80,51%	67,96%	79,63%	45,28%
H2aM15271N	53,38%	63,32%	67,50%	65,52%	52,90%	4,79%	38,21%
H2aM15272N	62,88%	72,97%	78,34%	80,51%	58,90%	16,58%	7,08%
H2aM15281N	78,99%	85,38%	86,76%	83,70%	73,96%	17,87%	19,81%
H2aM15279N	48,92%	68,84%	69,91%	65,27%	55,36%	71,27%	53,77%
H2aM15278N	50,50%	65,39%	70,81%	73,87%	48,97%	56,25%	-29,72%
H1M15288N	1,29%	11,64%	20,86%	26,45%	23,68%	8,22%	-2,83%

H1M15289N	43,74%	44,26%	45,54%	51,27%	36,86%	42,32%	28,30%
H1M15290N	36,55%	39,20%	43,73%	48,08%	22,89%	-0,14%	-39,62%
H1M15293N	27,91%	29,10%	34,40%	40,21%	20,33%	1,57%	-15,57%
H2aM15287N	11,65%	5,90%	12,14%	15,15%	19,06%	15,30%	-1,42%
H2bM15291N	45,90%	38,74%	50,05%	49,80%	28,30%	-3,57%	18,40%
H2bM15292N	42,01%	41,04%	49,45%	51,02%	40,21%	14,87%	-16,98%
Đối chứng isotyp (mIgG1)	-0,14%	10,03%	-3,81%	1,39%	-5,25%	2,64%	-24,06%
Đối chứng isotyp (mIgG2a)	5,32%	-1,00%	7,32%	8,76%	10,30%	5,65%	-26,89%
Đối chứng isotyp (mIgG2b)	0,43%	-5,13%	26,88%	5,08%	13,35%	6,08%	-4,25%
H1H15211P	87,77%	90,20%	93,98%	93,78%	88,82%	91,85%	80,66%
H4sH15211P	91,65%	95,02%	98,80%	91,81%	95,41%	96,35%	67,92%
Đối chứng isotyp (hIgG1)	11,80%	10,26%	-11,63%	3,60%	15,61%	6,08%	-8,49%
Đối chứng isotyp (hIgG4)	-4,60%	-0,54%	-0,50%	-0,33%	13,84%	-5,50%	8,49%

Bảng 10

Biến thể RBD	wt	A431P	S457G	S460F	A482V	L506F	D509G
Ab ID µg/mL	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
H4sH15188P	81,6%	89,7%	95,7%	92,6%	74,2%	93,6%	101,4%
H4sH15211P	77,1%	91,6%	88,1%	86,0%	73,8%	88,2%	57,2%
H4sH15231P2	70,6%	72,3%	74,5%	75,7%	70,5%	80,6%	60,0%
H4sH15260P2	73,3%	82,8%	77,7%	74,8%	79,0%	73,3%	73,8%
H1H15177P	82,8%	83,2%	84,4%	84,5%	75,9%	90,9%	35,2%
H1H15188P	81,4%	88,9%	86,8%	85,5%	86,4%	92,4%	90,3%
H1H15203P	61,0%	80,5%	74,5%	74,0%	74,0%	61,3%	35,2%
H1H15208P	53,9%	79,3%	73,8%	77,7%	65,2%	76,5%	82,1%
H1H15211P	77,8%	87,3%	93,5%	94,6%	80,2%	82,6%	79,3%
H1H15215P	20,2%	43,0%	42,4%	44,0%	41,7%	15,8%	-47,6%
H1H15228P2	47,8%	64,1%	68,4%	57,4%	63,1%	74,8%	62,8%

H1H15231P2	48,1%	60,6%	71,4%	55,7%	60,0%	55,2%	46,2%
H1H15233P2	55,4%	66,8%	69,7%	59,9%	65,0%	50,8%	65,5%
H1H15237P2	52,6%	74,4%	82,7%	73,5%	70,5%	73,8%	79,3%
H1H15249P2	15,6%	34,6%	19,8%	34,2%	37,2%	30,7%	29,7%
H1H15253P2	52,9%	66,4%	56,0%	57,7%	58,2%	56,9%	51,7%
H1H15259P2	61,2%	79,3%	77,1%	63,8%	68,1%	73,0%	79,3%
H1H15260P2	68,8%	85,6%	74,5%	86,7%	80,4%	82,1%	54,5%
H1H15264P2	23,1%	55,5%	52,3%	52,3%	40,1%	47,4%	-20,0%
Đối chứng isotyp (hIgG1)	-38,0%	-0,3%	1,6%	-36,9%	0,8%	-16,9%	15,9%
Đối chứng isotyp (hIgG4)	-19,9%	1,1%	-4,5%	-8,1%	6,7%	-7,4%	15,9%
H1M15277N	35,2%	86,7%	83,1%	65,0%	75,1%	73,0%	71,0%
Đối chứng isotyp (mIgG1)	-8,8%	2,6%	-3,6%	3,7%	0,2%	-9,6%	26,9%

Số liệu này chỉ ra rằng kháng thể theo sáng chế liên kết với các vùng của protein gai của MERS-CoV được bảo toàn trong quá trình tiến hóa của virus.

Kháng thể kháng MERS-CoV-S theo sáng chế là chất trung hòa hữu hiệu hơn so với các kháng thể kháng MERS-CoV được phân lập trước đó

Hiệu nghiệm của kháng thể được chọn theo sáng chế được so sánh với các kháng thể đơn dòng được phân lập trước đó. Ba nhóm đã sử dụng các phương pháp phân lập kháng thể *in vitro*, biểu hiện thể thực khuẩn (Tang et al 2014, PNAS doi:10.1073/pnas.1402074111; và Ying et al 2014, J. Virol. doi:10.1128/JVI.00912-14) và biểu hiện nấm men (Jiang et al 2014, Sci. Transl. Med. doi:10.1126/scitranslmed.3008140), để chọn các kháng thể liên kết với protein MERS-CoV S và phong bế lối vào của virus. Đối với nghiên cứu này, nhóm gồm ba kháng thể với các trình tự vùng biến đổi đã được công bố mà được thông báo là trung hòa MERS-CoV và liên kết với các epitop khác nhau được chọn. Các trình tự đối với kháng thể 3B12 (Tang et al 2014, PNAS doi:10.1073/pnas.1402074111), MERS-4 và MERS-27 (Jiang et al 2014, Sci. Transl. Med. doi:10.1126/scitranslmed.3008140) được tách dòng đối với các vùng ổn định của IgG1, tiếp theo biểu hiện và tinh chế theo cách tương tự như các kháng thể được chọn theo sáng chế. Tác dụng trung hòa của tất cả các kháng thể được thử

nghiệm bằng cách sử dụng hạt giả được tạo ra bằng trình tự EMC/2012 gốc và tất cả các thể phân lập lâm sàng được mô tả ở trên.

IC₅₀ trung hòa của các kháng thể được chọn kháng biến thể MERSSpp được thể hiện trong bảng 11. Như được thấy trong bảng 11, H1H15211P có thể trung hòa tất cả các thể phân lập với trị số IC₅₀ nằm trong khoảng từ 1,3E-11M đến 6,5E-11M. Các trị số tương tự cũng được ghi nhận đối với H1H15277N, ngoại trừ biến thể V534A, biến thể này biểu hiện tính kháng một phần đối với kháng thể. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng thay đổi axit amin này chỉ được ghi nhận ở thể phân lập MERS-CoV duy nhất (Riyadh_2), nó được phân lập vào năm 2012 và là một phần của nhánh chết của cây tiến hóa MERS-CoV.

H1H15211P và H1H277N trung hòa MERSSpp với trị số IC₅₀ ít nhất một loga thấp hơn kháng thể so sánh hiệu nghiệm nhất, MERS-4. Ngoài ra, cả 3B12 lẫn MERS-27 đều liên kết với các vị trí bảo toàn thấp hơn trên protein MERS-CoV S, do các hạt giả chứa các trình tự của nhiều thể phân lập lâm sàng không thể bị trung hòa bởi các kháng thể này.

Bảng 11

	H1H15177P	H1H15188P	H1H15211P	H1H15277N	H1H15267N2	3B12	MERS-4	MERS-27
wt	5,374E-11	4,819E-11	6,525E-11	6,978E-11	7,621E-11	1,69E-09	3,90E-10	8,36E-09
A431P	1,924E-11	1,323E-11	2,15E-11	3,162E-11	4,877E-11	6,35E-10	2,02E-10	4,50E-09
S457G	3,022E-11	1,99E-11	2,578E-11	3,532E-11	4,973E-11	7,43E-10	2,81E-10	5,06E-09
S460F	2,435E-11	1,49E-11	2,031E-11	3,19E-11	6,805E-11	6,69E-10	3,14E-10	6,36E-09
A482V	2,044E-11	1,955E-11	2,735E-11	8,094E-11	6,533E-11	9,58E-10	6,83E-10	1,26E-08
L506F	1,624E-11	1,017E-11	1,341E-11	3,967E-11	3,537E-11	~0,001534	5,64E-10	6,64E-09
D509G	1,792E-10	1,682E-11	4,036E-11	4,322E-11	4,846E-11	1,17E-07	1,37E-09	4,57E-09
V534A	3,663E-11	2,034E-11	3,195E-11	7,064E-09	4,317E-10	5,63E-08	2,19E-10	1,31E-07

Số liệu này chỉ ra rằng kháng thể theo sáng chế có khả năng trung hòa các thể phân lập MERS-CoV ở phạm vi rộng hơn với hiệu nghiệm được cải thiện so với một số kháng thể phân lập được chỉ trên cơ sở các đặc tính sinh hóa *in vitro*.

Ví dụ 6: Cạnh tranh chéo Octet giữa các kháng thể kháng MERS-CoV-S

Sự cạnh tranh liên kết giữa các kháng thể kháng MERS-CoV S được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm giao thoa kế lớp sinh học không đánh dấu trên cảm biến sinh học Octet® RED96 (Pall ForteBio Corp). Toàn bộ thử nghiệm được thực hiện ở 25°C trong dung dịch đệm HBS-P Octet (10mM HEPES, 150mM NaCl, và 0,05% v/v

Surfactant Tween-20, độ pH 7,4, 1mg/mL BSA) có lắc đĩa ở tốc độ 1000rpm. Để đánh giá liệu các kháng thể có cạnh tranh với nhau để liên kết với các epitop tương ứng của chúng trên vùng liên kết với thụ thể của protein gai của MERS-CoV được biểu hiện bằng con đường tái tổ hợp dung hợp với đuôi Fc của người (MERS RBD-hFc; SEQ ID: 458), kiểu thử nghiệm trộn sơ bộ được làm thích ứng và 50nM MERS-CoV-RBD-mFc được ủ sơ bộ với 500nM kháng thể đơn dòng kháng MERS khác (sau đây ký hiệu là mAb-2) trong ít nhất 2 giờ trước khi thực hiện thử nghiệm cạnh tranh liên kết. Kháng thể đơn dòng không đặc hiệu được ủ với MERS-RBS.mFc dưới dạng đối chứng isotyp. Cảm biến sinh học Octet đã bao kháng thể đa dòng kháng hFc (Pall ForteBio Corp., Cat# 18-5060) trước hết được ngâm vào lỗ chứa dung dịch 50µg/mL trong 4 phút để bẫy khoảng 2nm kháng thể kháng MERS (sau đây ký hiệu là mAb-1). Sau bước bẫy, các kháng thể đa dòng kháng hFc trống được làm bão hòa bằng cách ngâm cảm biến sinh học Octet vào lỗ chứa 100µg/mL kháng thể đơn dòng của người hoàn toàn không đặc hiệu. Cuối cùng, cảm biến sinh học được nhúng trong 4 phút vào lỗ chứa mẫu đã trộn sơ bộ gồm 50nM MERS-RBD-mFc và 500nM mAb-2. Cảm biến sinh học được rửa trong dung dịch đệm HBS-P Octet sau mỗi bước thử nghiệm. Đáp ứng liên kết thời gian thực được theo dõi trong suốt thời gian thử nghiệm và đáp ứng liên kết khi kết thúc mỗi bước được đo. Đáp ứng của mAb-1 liên kết với phức chất sơ bộ MERS-RBD-mFc và mAb-2 được so sánh và trạng thái cạnh tranh/không cạnh tranh của các kháng thể đơn dòng kháng MERS khác nhau được xác định.

Trong các điều kiện thực nghiệm được sử dụng trong ví dụ này, cạnh tranh chéo (tức là cạnh tranh giữa các kháng thể theo cả hai hướng) được quan sát, ví dụ, đối với: (a) H2aM15281N, H1M15290N, H1M15293N, và H2bM15291N; (b) H2aM15272N, H2bM15292N, và H2aM15271N; và (c) H2aM15268N, H1M15267N, H2M15279N, H1M15289N, và H1M15277N (Fig.2).

Trong thí nghiệm khác, cạnh tranh liên kết giữa các kháng thể được chọn được phân lập trực tiếp từ tế bào B của chuột dương tính với kháng nguyên (được mô tả trong ví dụ 1) được xác định. Trong các điều kiện thực nghiệm được sử dụng trong ví dụ này, cạnh tranh chéo (tức là cạnh tranh giữa các kháng thể theo cả hai hướng) được quan sát, ví dụ, đối với: (a) H1H15215P, H1H15177P, H1H15203P, và H1H15211P; (b) H1H15188P, H1H15208P, H1H15228P2, H1H15233P2, H1H15237P2, H1H15253P2, và H1H15259P2; và (c) H1H15231P2, H1H15249P2, H1H15260P2, và H1H15264P2 (Fig.3).

Trong thí nghiệm khác, cạnh tranh liên kết giữa hai kháng thể H1H15211P và H1H15277N được theo dõi.

Bảng 12

		Liên kết của phức chất sơ bộ mAb2 và MERS-RBD-mFc với mAb1 được bày			
mAb1	Mức bày mAb1 (nm)	H1H15277N	H1H15211P	Đối chứng isotyp mAb	Không có mAb
H1H15277N	2,19	0,22	0,55	1,03	0,96
H1H15211P	2,08	0,68	0,22	0,73	0,69

Bảng 12 cho thấy rằng hai kháng thể không ức chế nhau và sự liên kết của một kháng thể với MERS-CoV RBD vẫn cho phép sự liên kết của kháng thể thứ hai. Số liệu này chỉ ra rằng hai kháng thể liên kết với các epitop riêng biệt, không chồng lấp. Đột biến của một epitop do áp lực chọn lọc bởi một kháng thể không ảnh hưởng đến sự liên kết của kháng thể còn lại.

Ví dụ 7: Tác dụng in vivo của kháng thể kháng MERS-CoV-S

Vật liệu và phương pháp

Tạo ra chuột có DPP4 hỏng

Do protein gai của MERS-CoV không tương tác với DPP4 của chuột, mô hình nhiễm MERS-CoV nhân hóa được tạo ra bằng công nghệ VelociGene® (Valenzuela et al 2003, Nat. Biotechnol. 21: 652-659). Nói vắn tắt, virus hướng đích lớn (large targeting vector: LTVEC) được cấu trúc để chứa ADN hệ gen DPP4 dài 82kb từ các exon 2 đến 26 bao gồm 3' UTR để thay thế trình tự bản sao Dpp4 dài 79kb. BAC RP11-68L22 của người và BAC RP23-362N15 của chuột chứa gen Dpp4 được nhận dạng bằng Blast và trình tự được xác nhận bằng Illumina bench top sequencer MiSeq. LTVEC được tiêm điện vào tế bào ES (129S6SvEvTac/C57BL6NTac) thể hệ lai F1. Các khuẩn lạc kháng G418 được thu ở 10 ngày sau tiêm điện và sàng lọc về sự hướng đích đúng bằng thử nghiệm mất alen. Phương pháp VelociMouse® được sử dụng (Poueymirou, et. al. 2007; Nature Biotechnology 25: 91-99), trong đó tế bào ES được tiêm vào phôi Swiss Webster giai đoạn 8 tế bào không kết lại, tạo ra chuột thể hệ F0 được tạo ra từ tế bào ES hoàn toàn mang alen gen DPP4 của người. Tất cả các quy trình trên động vật đều được thực hiện nghiêm ngặt theo khuyến cáo trên theo khuyến cáo trong hướng dẫn chăm sóc và sử dụng động vật phòng thí nghiệm (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals) của NIH. Quy trình được phê chuẩn bởi ủy ban chăm sóc và sử dụng động vật (Regeneron Pharmaceuticals Institutional Animal Care and Use Committee: IACUC). Phương pháp này được mô tả chi tiết trong Đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 62/051,626, nộp ngày 17-09-2014, được đưa vào trong bản mô tả này theo cách viện dẫn. Chuột chuyển gen cũng

được tạo ra bằng cách cài ngẫu nhiên gen hDPP4 vào hệ gen của chuột.

Thử nghiệm động vật

Chuột DPP4 nhân hóa 6 đến 8 tuần tuổi được tiêm qua đường trong màng bụng (intraperitoneally: i.p.) lượng được chỉ rõ của kháng thể hoặc nước muối vô trùng làm đối chứng ở 1 ngày trước nhiễm hoặc 1 ngày sau nhiễm, tùy theo thử nghiệm. Trước khi tiêm vào mũi, chuột được gây mê bằng cách tiêm qua đường trong màng bụng hỗn hợp gồm xylazin (0,38mg/chuột; Lloyd laboratories) và ketamin (1,3mg/chuột; Henry Schein animal health), đã pha loãng trong PBS để tạo ra tổng thể tích 50 μ l cho mỗi chuột. Sau khi gây mê, chuột được tiêm vào mũi PBS hoặc 2x10⁵ pfu MERS-CoV (Jordan) đã pha loãng trong PBS đối với tổng thể tích tiêm 50 μ l. Trong quá trình thử nghiệm, chuột được cân trước khi nhiễm và hằng ngày của thử nghiệm để đánh giá sự giảm trọng lượng do MERS-CoV. Chuột được gây chết yên bình ở ngày 2 hoặc ngày 4 sau nhiễm bằng liều gây chết isofluran (Butler Animal Health Supply). Phổi được thu để tiếp tục phân tích sự sao chép và bệnh học của MERS-CoV.

Phân tích ARN của MERS-CoV

ARN được chiết từ phổi chuột bằng cách nghiền trong 1ml Trizol® (Life Technologies Inc) bằng máy Magnalyzer (Roche) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Mức ARN của MERS-CoV được đánh giá bằng hỗn hợp chủ một bước dùng cho virus Taqman® (Applied Biosystems) theo hướng dẫn của nhà sản xuất bằng cách sử dụng cặp mồi mua từ Life Technologies hướng đích vùng hệ gen ngược dòng với gen vỏ (UpE); trình tự dẫn của ARN thông tin của capsit nhân (mồi dẫn) và so sánh với ARN ribosom 18S (đối chứng nội sinh). Các phản ứng qPCR trong đĩa phản ứng quang học nhanh Microamp® (Applied Biosystems) được đọc bằng thiết bị PCR thời gian thực DX nhanh 7500 (Applied Biosystems) và số liệu được phân tích bằng phương pháp delta Ct, với đối chứng không bị nhiễm được đặt bằng 1. Phần trăm ARN của MERS-CoV phát hiện được được biểu diễn theo mức ARN phát hiện được ở chuột bị nhiễm được điều trị bằng kháng thể đối chứng khớp isotyp.

Thử nghiệm vết tan để đo hiệu giá MERS-CoV

Phổi chuột được nghiền trong 1ml PBS với hạt thủy tinh trong 60 giây ở 6000rpm bằng máy Magnalyzer (Roche). Tiếp theo, dịch nghiền được ly tâm trong 10 phút ở 10,000rpm và dịch nổi được phân tích bằng thử nghiệm vết tan trên tế bào Vero E6 để định lượng mức virus còn lại sau điều trị. Thử nghiệm vết tan được thực hiện như được mô tả trước đó, ngoại trừ ở chỗ các đĩa được để trong 3 ngày để vết tan xuất hiện.

Phân tích mô

Các tiêu bản mô được chuẩn bị từ các lát cắt 5- μ m của mô gắn trong parafin đã được cố định, và nhuộm hematoxylin và eosin. Các trường được kiểm tra bằng kính hiển vi quang học và được phân tích. Mức độ viêm kẽ, quanh phế quản và quanh mạch được tính điểm từ 0 đến 5. Đối với mỗi nhóm thử nghiệm, các tiêu bản là không được biết và được tính điểm từ 0 đến 5 và được lập bảng để so sánh các chủng, thời điểm và điều trị. Các đặc điểm mô học khác, như xuất hiện tổn thương biểu mô phổi và phế nang, các thay đổi về màng phổi và phạm vi viêm quanh mạch phổi, cũng được lưu ý đối với mỗi nhóm trong trường hợp này. Tổng điểm số viêm đối với mỗi chuột được tính trung bình đối với mỗi nhóm, và được trình bày dưới dạng điểm số trung bình của tất cả các chuột trong mỗi nhóm và thời điểm.

Kết quả

Chuột nhân hóa đối với DPP4 là dễ bị nhiễm MERS-CoV

Thử nghiệm *in vivo* đối với các phân tử kháng virus đòi hỏi mô hình động vật nhỏ dễ bị nhiễm MERS-CoV. Chuột (chuột nhắt) không dễ bị nhiễm MERS-CoV. Việc so sánh trình tự của DPP4 của người và của chuột chỉ ra rằng các axit amin đã được nhận dạng trước đó là các vị trí tiếp xúc giữa protein MERS-CoV S và thụ thể của nó khác nhau giữa hai loài này. Ngoài ra, việc biểu hiện DPP4 của người trong tế bào chuột cho phép MERSpp xâm nhập và MERS-CoV nhân lên, chỉ ra rằng lõi vào của virus này là bước giới hạn trong quá trình gây nhiễm tế bào chuột và sự thiếu tương tác giữa DPP4 của chuột và glycoprotein của MERS-CoV xác định tính hướng loài *in vitro*.

Các tác giả sáng chế đặt ra giả thiết rằng chuột biểu hiện DPP4 của người thay cho DPP4 của chuột dễ bị nhiễm MERS-CoV và cho phép thử nghiệm *in vivo* đối với chất điều trị kháng MERS-CoV. Công nghệ VelociGene® được sử dụng để thay thế 79kb gen *Dpp4* của chuột bằng 82kb gen trực giao tương ứng của người. Chuột tạo ra biểu hiện DPP4 của người hoàn toàn dưới sự kiểm soát của các yếu tố điều hòa của chuột, để duy trì chính xác quá trình điều hòa biểu hiện và quá trình phân bố protein trong mô.

Để kiểm tra liệu chuột nhân hóa và chuột chuyển gen có trợ giúp quá trình nhiễm MERS-CoV hay không, trong một thử nghiệm ban đầu, chuột chuyển gen được điều trị qua đường trong màng bụng bằng 200 μ g kháng thể kháng MERS-CoV-S hoặc đối chứng isotyp vào ngày -1 và được gây nhiễm qua đường trong mũi bằng MERS-CoV ($\sim 10^6$ pfu of EMC2012) vào ngày 0. Bốn ngày sau nhiễm, phổi được thu và mức ARN của virus được đo bằng RT-PCR để kiểm tra tác dụng của kháng thể đối với tải lượng virus. Bảng 13 thể hiện mức trung bình của ARN hệ gen virus và ARN sao chép được biểu diễn dưới dạng tỷ lệ phần trăm đối chứng isotyp. Việc điều trị H1H15211P làm giảm 500 lần lượng ARN virus ở chuột bị nhiễm.

Bảng 13

Kháng thể	ARN hệ gen	ARN sao chép (trình tự dẫn)
H1H15177P	0,356839562	0,273565089
H1H15211P	0,254493202	0,206006238
H4sH15211P	1,989548316	1,112094283
IgG1 đối chứng isotyp	104,0889287	101,2578723
IgG4 đối chứng isotyp	100	100

Trong thí nghiệm khác, chuột 6 đến 8 tuần tuổi có DPP4 nhân hóa (huDPP4) được tiêm MERS-CoV vào mũi. Mặc dù không có tử vong hoặc dấu hiệu lâm sàng của bệnh được ghi nhận cho đến ngày 4, ở các ngày 2 và 4 sau tiêm chuột được gây chết bình yên và phổi của chúng được cắt ra. Để định mức ARN virus, phổi được nghiền trong Trizol®, và phân tích bằng Realtime PCR bằng cách sử dụng cặp mồi đặc hiệu với MERS-CoV (Fig.4 và Fig.5). Để xác định hiệu giá virus, phổi được nghiền trong PBS, lọc bằng cách ly tâm và đo hiệu giá trên tế bào Vero E6 (Fig.6). Sự sao chép MERS-CoV mạnh trong phổi là rõ ràng ở ngày 2 và 4 ngày sau nhiễm. Việc định lượng ARN, bằng cách sử dụng bộ mồi đặc hiệu với trình tự dẫn của MERS-CoV, bộ mồi này được thiết kế để chỉ khuếch đại MERS-CoV sao chép, cho thấy mức cao ARN sao chép của MERS-CoV trong phổi thu được ở ngày 2, và mức này được duy trì qua ngày 4 sau nhiễm (Fig.5). Thử nghiệm vết tan đối với dịch nghiền phổi trên tế bào Vero E6 định lượng mức MERS-CoV (Jordan) $\sim 7,27 \times 10^4$ pfu/g phổi ở ngày 2 và $\sim 3,75 \times 10^5$ pfu/g phổi ở 4 ngày sau nhiễm (Fig.6), chứng tỏ rằng có hoạt động sao chép MERS-CoV trong phổi của chuột huDPP4. Số liệu này chỉ ra rằng việc nhân hóa thụ thể DPP4 bằng công nghệ VelociGene® đã tạo ra mô hình MERS-CoV mạnh ở chuột có thể được sử dụng để đánh giá điều trị MERS-CoV *in vivo*.

Phổi từ chuột huDPP4 được tiêm MERS-CoV (chủng Jordan) hoặc PBS (giả nhiễm) vào mũi được phân tích về các thay đổi bệnh lý. Ở ngày 2 sau nhiễm, viêm quanh phế quản là rõ ràng với các biến đổi trong cấu trúc tế bào phổi được tìm thấy ở khắp phổi. Viêm quanh phế quản tối thiểu hoặc tác dụng đối với các cấu trúc phế nang được lưu ý tại thời điểm này. Ở 4 ngày sau nhiễm, thâm nhiễm kẽ đáng kể được ghi nhận với sự tạo viên quanh mạch và sự dày phế nang mở rộng. Các biến đổi của phế quản cũng vẫn xuất hiện. Quan trọng là, bệnh lý này phù hợp với các phát hiện bằng ảnh phóng xạ về sự phát triển bệnh viêm phổi kẽ và bệnh phổi đáng kể quan sát được ở người nhiễm MERS-CoV, chỉ ra rằng mô hình nhiễm MERS-CoV có DPP4 nhân hóa *in vivo* dẫn đến các di chứng bệnh lý được quan sát thấy ở bệnh nhiễm MERS-CoV của người.

Trong các thí nghiệm tiếp theo (xem ở dưới), chuột bị nhiễm được dùng một hoặc nhiều liều kháng thể tinh sạch (như được mô tả trong ví dụ 1) hoặc tổ hợp kháng thể phòng và/hoặc điều trị để thử tác dụng của chúng kháng nhiễm MERS.

H1H15211P và H1H15277N ngăn ngừa chuột DPP4 nhân hóa khỏi bị nhiễm MERS-CoV

Do đã chứng minh được chuột DPP4 nhân hóa dễ bị nhiễm MERS-CoV, mô hình này được sử dụng để đánh giá hoạt tính của hai kháng thể đơn dòng *in vivo*. Chuột được tiêm i.p. 200ug, 20ug hoặc 2ug H1H15211P hoặc H1H15277N hoặc 200ug kháng thể đối chứng isotyp hIgG1 ở 24 giờ trước khi gây nhiễm qua đường trong mũi bằng 1×10^5 pfu MERS-CoV (chủng Jordan). Như được thấy trên các Fig. 7 và Fig.8, cả hai kháng thể đều có khả năng làm giảm đáng kể mức ARN đặc hiệu với MERS-CoV trong phổi tới mức trên 2 loga ở liều 200ug/chuột, so với kháng thể đối chứng isotyp. H1H15211P hiệu quả hơn trong việc làm giảm mức ARN của MERS-CoV ở liều 20ug so với H1H15277N ở cùng liều. Việc dùng liều 2ug kháng thể không có hiệu quả làm giảm mức ARN virus so với chuột được điều trị bằng đối chứng isotyp. Khi hiệu giá MERS-CoV được phân tích trong phổi (Fig.9) đã phát hiện ra rằng cả liều 200ug lẫn liều 20ug H1H15211P đều làm giảm mức virus tới gần mức phát hiện trong thử nghiệm (2×10^3 pfu/ml). H1H15277N có hiệu quả ngang bằng ở mức liều 200ug so với H1H15211P, trong khi liều 20ug và 2ug biểu hiện sự ức chế phụ thuộc liều trong việc ức chế virus. Số liệu này chỉ ra rằng H1H15211P và H1H15277N có thể phong bế hữu hiệu bệnh nhiễm MERS-CoV *in vivo*.

Phân tích mô cũng được thực hiện đối với chuột được điều trị 24 giờ trước nhiễm bằng H1H15277N, H1H15211P hoặc kháng thể đối chứng isotyp hIgG1 ở 4 ngày sau nhiễm. Phổi từ chuột được điều trị sơ bộ bằng kháng thể đối chứng isotyp hIgG1 biểu hiện bệnh lý phổi đáng kể với viêm kẽ gia tăng, tạo viên quanh mạch, và dày thành phế nang. Chuột được điều trị bằng 200ug H1H15277N hoặc H1H15211P có giảm viêm với ổ tế bào viêm tối thiểu trong kẽ và viên phế quản tối thiểu. Ở chuột được điều trị sơ bộ bằng 20ug H1H15277N và H1H15211P, phát hiện thấy mức tạo viên quanh mạch và viêm phổi kẽ vừa phải so với nhóm kháng thể cao hơn. In contrast, Nhóm được điều trị sơ bộ bằng 2ug kháng thể có bệnh lý tương tự như đối chứng isotyp hIgG1 là viêm kẽ đáng kể và viêm quanh mạch nổi bật. Cách tính điểm số mô học không biết trước (Fig.10) phản ánh điểm số viêm giảm đối với chuột được điều trị. Các phát hiện này chứng minh rằng H1H15277N và REGN 3051 làm giảm bệnh lý phổi phụ thuộc liều sau nhiễm MERS-CoV chứng thực mức ARN virus và hiệu giá virus xác định được đối với các chuột này.

Tóm lại, số liệu này chỉ ra rằng H1H15211P và H1H15277N có thể phong bế sự nhiễm và bệnh nhiễm MERS-CoV *in vivo* khi được tiêm 1 ngày trước nhiễm. Theo các

tác giả sáng chế, H1H15211P và H1H15277N là các kháng thể của người hoàn toàn đầu tiên được chứng minh là có tác dụng trong mô hình nhiễm MERS-CoV *in vivo*.

H1H15211P và H1H15277N có thể điều trị cho chuột có DPP4 nhân hóa bị nhiễm MERS-CoV

Khả năng ức chế sự sao chép của MERS-CoV và bệnh lý phổi sau nhiễm là đặc điểm mong muốn trong liệu pháp tiềm năng. Để đánh giá liệu H1H15211P có khả năng tạo ra tác dụng điều trị hay không, chuột huDPP4 được gây nhiễm MERS-CoV, và 24 giờ sau được tiêm i.p. bằng 500ug đối chứng isotyp hIgG hoặc H1H15211P ở 500ug hoặc 200ug. Ở 4 ngày sau nhiễm, chuột được gây chết bình yên và phổi chuột được phân tích về ARN virus, hiệu giá virus và bệnh lý phổi. Cả hai liều 500ug và 200ug H1H15211P đều có khả năng làm giảm mức ARN virus tới 10 lần trong phổi chuột so với chuột được điều trị bằng kháng thể đối chứng (Fig.11 và Fig.12). Hiệu giá virus trong phổi của các chuột này chứng minh mức virus trong phổi giảm đáng kể với mức giảm lớn hơn 2 loga ở ngày 4 sau nhiễm (Fig.13). Số liệu này chứng minh H1H15211P có thể ức chế đáng kể sự sao chép virus ngay cả khi được dùng 24 giờ sau tiêm virus.

Phân tích mô được thực hiện ở chuột được điều trị 24 giờ sau nhiễm bằng kháng thể đối chứng hIgG, 500ug hoặc 200ug H1H15211P. Chuột được điều trị bằng kháng thể đối chứng biểu hiện bệnh lý tương tự như trường hợp đối chứng ở trên với viêm kẽ đáng kể, tạo viên quanh mạch và dày thành phế nang. Chuột được điều trị bằng 200ug hoặc 500ug H1H15211P có viêm kẽ tối thiểu và viêm quanh mạch giảm và dạng ổ duy nhất ở khắp phổi. Các tính điểm số mô học không biết trước chứng minh các điểm số viêm giảm đối với các chuột được điều trị (Fig.14). Số liệu này chứng minh rằng các liều điều trị của H1H15211P làm giảm bệnh lý phổi do MERS-CoV gây ra ngay cả khi dùng 24 giờ sau nhiễm.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể đơn dòng ở người hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó mà liên kết đặc hiệu với protein gai của virus corona gây hội chứng hô hấp Trung Đông (Middle East Respiratory Syndrome corona virus - MERS-CoV), trong đó kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên này chứa ba vùng quyết định tính bổ trợ (complementarity determining region - CDR) của chuỗi nặng (HCDR1, HCDR2 và HCDR3) chứa trong một trình tự bất kỳ trong số các trình tự vùng biến đổi của chuỗi nặng (heavy chain variable region - HCVR) được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 122, 130, 138, 146, 154, 170, 178, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346, 362, 378, 394, 410, 426, và 442; và ba CDR của chuỗi nhẹ (LCDR1, LCDR2 và LCDR3) chứa trong một trình tự bất kỳ trong số các trình tự vùng biến đổi của chuỗi nhẹ (light chain variable region - LCVR) được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 162, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338, 354, 370, 386, 402, 418, 434, và 450, trong đó kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên này bao gồm cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/106, 122/106, 130/106, 138/106, 146/106, 154/162, 170/162, 178/162, 186/194, 202/210, 218/226, 234/242, 250/258, 266/274, 282/290, 298/306, 314/322, 330/338, 346/354, 362/370, 378/386, 394/402, 410/418, 426/434, và 442/450.

2. Kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo điểm 1, trong đó kháng thể này có một hoặc nhiều đặc tính sau:

(a) tương tác với một hoặc nhiều gốc axit amin trong vùng liên kết với thụ thể của protein gai của MERS-CoV được chọn từ các gốc axit amin 367 đến 606 của SEQ ID NO: 457;

(b) liên kết với protein gai của MERS-CoV với hằng số phân ly (K_D) nhỏ hơn 18,5nM, khi đo bằng thử nghiệm cộng hưởng plasmon bề mặt;

(c) phong bế sự liên kết của protein gai của MERS-CoV với dipeptidyl peptidaza 4 (DPP4) ở mức lớn hơn 90%, khi đo bằng thử nghiệm ELISA phong bế;

(d) trung hòa khả năng nhiễm MERS-CoV của tế bào chủ người với mức trung hòa lớn hơn 90% và với IC_{50} nhỏ hơn 4nM, khi đo bằng thử nghiệm trung hòa hạt tương tự virus (Virus-like particle - VLP);

(e) trung hòa khả năng nhiễm MERS-CoV trong đó MERS-CoV bao gồm thể phân lập virus được chọn từ nhóm bao gồm EMC/2012, Jordan-N3/2012, England-Qatar/2012, Al-Hasa_1_2013, Al-Hasa_2_2013, Al-Hasa_3_2013, Al-Hasa_4_2013, Al-Hasa_12, Al-Hasa_15, Al-Hasa_16, Al-Hasa_17, Al-Hasa_18, Al-Hasa_19, Al-Hasa_21, Al-Hasa_25, Bisha_1, Buraidah_1, England_1, Hafr-Al-batin_1, Hafr-Al-Batin_2, Hafr-Al-Batin_6, Jeddah_1, KFU-HKU_1, KFU-HKU_13, Munich, Qatar3, Qatar4, Riyadh_1, Riyadh_2, Riyadh_3, Riyadh_3, Riyadh_4, Riyadh_5, Riyadh_9, Riyadh_14, Taif_1, UAE, và Wadi-Ad-Dawasir; và

(f) ngăn cản việc đi vào trong tế bào chủ của MERS-CoV.

3. Kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo điểm 1, bao gồm HCVR có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 122, 130, 138, 146, 154, 170, 178, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346, 362, 378, 394, 410, 426, và 442.

4. Kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo điểm 1, bao gồm LCVR có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 162, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338, 354, 370, 386, 402, 418, 434, và 450.

5. Kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo điểm 1, chứa:

(a) vùng HCDR1 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 124, 132, 140, 148, 156, 172, 180, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332, 348, 364, 380, 396, 412, 428, và 444;

(b) vùng HCDR2 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 126, 134, 142, 150, 158, 174, 182, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 334, 350, 366, 382, 398, 414, 430, và 446;

(c) vùng HCDR3 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 128, 136, 144, 152, 160, 176, 184, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 304, 320, 336, 352, 368, 384, 400, 416, 432, và 448;

(d) vùng LCDR1 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 164, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 324, 340, 356, 372, 388, 404, 420, 436, và 452;

(e) vùng LCDR2 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 166, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 326, 342, 358, 374, 390, 406, 422, 438, và 454; và

(f) vùng LCDR3 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 168, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 296, 312, 328, 344, 360, 376, 392, 408, 424, 440, và 456.

6. Kháng thể ở người được phân lập hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó mà cạnh tranh liên kết với MERS-CoV-S với kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên theo điểm 1.

7. Kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo điểm 6, trong đó kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên này tương tác với protein gai của thể phân lập MERS-CoV được chọn từ nhóm bao gồm EMC/2012, Jordan-N3/2012, England-Qatar/2012, Al-Hasa_1_2013, Al-Hasa_2_2013, Al-Hasa_3_2013, Al-Hasa_4_2013, Al-Hasa_12, Al-Hasa_15, Al-Hasa_16, Al-Hasa_17, Al-Hasa_18, Al-Hasa_19, Al-Hasa_21, Al-Hasa_25, Bisha_1, Buraidah_1, England_1, Hafr-Al-batin_1, Hafr-Al-Batin_2, Hafr-Al-Batin_6, Jeddah_1, KFU-HKU_1, KFU-HKU_13, Munich, Qatar3, Qatar4, Riyadh_1, Riyadh_2, Riyadh_3, Riyadh_3, Riyadh_4, Riyadh_5, Riyadh_9, Riyadh_14, Taif_1, UAE, và Wadi-Ad-Dawasir.

8. Kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo điểm 7, trong đó kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó phong bế sự liên kết của MERS-CoV với DPP4 trên tế bào người.

9. Kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo điểm 8, trong đó kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó được phân lập từ dòng tế bào lai được chọn từ nhóm bao gồm HBVX06H05, HBVX11H04, HBVX11D02, HBVZ10E10, HBVY09F08, HBVZ05G02, HBVZ09B06, HBVY01F08, HBVY10G02, HBVY04B06, HBVY07D10, HBVZ08A09, HBVZ05G04, HBVY06C07, HBVY03H06, HBVZ10G06, HBVZ04F10, HBVX11E09, HBVY06H09, HBVZ05B11, HBVY02E05 và HBVZ04C07.

10. Kháng thể đơn dòng của người tái tổ hợp được phân lập hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó mà liên kết với cùng epitop giống như kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên theo điểm 1.

11. Dược phẩm chứa kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo điểm 1 và chất mang hoặc chất pha loãng được dụng.

12. Dược phẩm chứa: (a) kháng thể thứ nhất hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó mà liên kết với protein gai của MERS-CoV ở epitop thứ nhất; (b) kháng thể thứ hai hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó mà liên kết với protein gai của MERS-CoV ở epitop thứ hai, và (c) chất mang hoặc chất pha loãng được dụng, trong đó kháng thể thứ nhất hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó là kháng thể ở người hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó bao gồm cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/106, 122/106, 130/106, 138/106, 146/106, 154/162, 170/162, 178/162, 186/194, 202/210, 218/226, 234/242, 250/258, 266/274, 282/290, 298/306, 314/322, 330/338, 346/354, 362/370, 378/386, 394/402, 410/418, 426/434, và 442/450.

13. Dược phẩm theo điểm 12, trong đó ít nhất kháng thể thứ nhất hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó hoặc kháng thể thứ hai hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó phong bế sự liên kết của MERS-CoV-S với DPP4.

14. Dược phẩm theo điểm 13, trong đó các epitop thứ nhất và thứ hai có mặt trong vùng liên kết với thụ thể của protein gai của MERS-CoV và là khác biệt và không chồng lấp.

15. Dược phẩm theo điểm 14, trong đó kháng thể thứ nhất hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó bao gồm HCVR, trong đó HCVR này chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 2, 18, 66, 114, 170, và 218; và LCVR, trong đó LCVR này chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 10, 26, 74, 106, 162, và 226.

16. Kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo điểm 5, bao gồm cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 66/74 và 218/226.

17. Kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo điểm 16, bao gồm cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR là SEQ ID NO: 66/74.

18. Kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo điểm 16, bao gồm cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR là SEQ ID NO: 218/226.
19. Kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo điểm 5, bao gồm các vùng HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 của SEQ ID NO: 68-70-72-76-78-80.
20. Kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo điểm 5, bao gồm các vùng HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 của SEQ ID NO: 220-222-224-228-230-232.
21. Dược phẩm chứa một hoặc nhiều kháng thể hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó theo điểm 5 và chất mang hoặc chất pha loãng dược dụng.
22. Dược phẩm theo điểm 15, trong đó kháng thể thứ nhất hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó bao gồm trình tự axit amin HCVR/LCVR được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 66/74 và 218/226.
23. Dược phẩm theo điểm 22, trong đó kháng thể thứ nhất hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó bao gồm cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR là SEQ ID NO: 66/74.
24. Dược phẩm theo điểm 22, trong đó kháng thể thứ nhất hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó bao gồm cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR là SEQ ID NO: 218/226.
25. Dược phẩm theo điểm 23, trong đó kháng thể thứ hai hoặc đoạn liên kết với kháng nguyên của nó bao gồm cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR là SEQ ID NO: 218/226.

Mã nhận dạng mẫu	ELISA liên kết	ELISA phong bế	% trung hòa (0,025µg/ml)	Trung hòa IC50 (M)	KD (M)	T ½ (phút)
HBVX06H05	2,676	99,7	99%	1,328E-10	1,72E-09	11,1
HBVX11H04	2,623	99,7	99%	1,492E-10	3,28E-10	94,1
HBVX11D02	2,420	97,8	98%	2,108E-10	2,05E-09	13,5
HBVZ10E10	2,537	90,8	98%	4,636E-10	2,77E-09	10,4
HBVY09F08	2,044	99,3	98%	3,245E-10	1,79E-09	17,3
HBVZ05G02	2,515	92,7	97%	2,212E-10	2,72E-09	9,5
HBVZ09B06	2,751	100,2	97%	1,759E-10	6,53E-09	7,4
HBVY01F08	2,182	99,0	97%	1,377E-10	2,66E-10	96,0
HBVY10G02	2,587	100,1	97%	2,737E-10	3,73E-09	7,7
HBVY04B06	2,463	100,1	96%	6,845E-11	1,51E-09	13,3
HBVY07D10	2,417	25,9	40%	1,02E-09	9,39E-09	29,5
HBVZ08A09	2,782	100,1	91%	3,567E-10	5,93E-10	67,8
HBVZ05G04	2,675	99,8	90%	3,054E-10	4,77E-10	≥115
HBVY06C07	2,508	90,9	89%	5,56E-10	3,94E-10	≥115
HBVY03H06	2,735	97,6	89%	4,253E-10	6,69E-10	≥115
HBVZ10G06	2,383	98,7	86%	4,357E-10	4,72E-10	≥115
HBVZ04F10	2,756	96,3	83%	5,843E-10	7,78E-10	80,7
HBVX11E09	2,533	100,3	5%	3,587E-09	2,45E-10	≥115
HBVY06H09	2,806	7,4	2%	-	7,12E-09	18,8
HBVZ05B11	2,677	2,6	-6%	-	2,97E-09	94,8
HBVY02E05	2,644	74,4	-10%	-	2,15E-08	13,3
HBVZ04C07	2,405	14,8	40%	1,534E-09	IC	IC

Fig.1

mAb-2 liên kết với phức chất sơ bộ gồm mAb-1 & MERS.hFc																								
mAb-1	Chủng chuột	KD (nM)/t1/2 @ 25°C	Mức bẫy (nm)	Liên kết của mAb-1 (nm)	mAb #	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
H2aM15281N	1633	0,39 / 14	0,67±0,03	0,67±0,02	1	0,08	0,11	0,08	0,08	0,08	0,08	0,07	0,41	0,36	0,56	0,53	0,55	0,51	0,61	0,62	0,41	0,50	0,48	0,02
H1M15290N	1633	0,44 / 55	0,68±0,02	0,71±0,02	2	0,08	0,08	0,06	0,08	0,08	0,07	0,07	0,39	0,29	0,52	0,50	0,50	0,44	0,60	0,61	0,39	0,49	0,55	0,03
H1M15293N	1633	0,33 / 58	0,67±0,03	0,67±0,02	3	0,11	0,10	0,08	0,10	0,11	0,10	0,09	0,47	0,35	0,57	0,53	0,54	0,48	0,64	0,61	0,39	0,51	0,51	0,03
H2bM15291N	1633	0,56 / 82	0,73±0,07	0,62±0,01	4	0,09	0,09	0,08	0,10	0,09	0,08	0,09	0,33	0,32	0,55	0,53	0,53	0,47	0,60	0,59	0,41	0,52	0,60	0,04
H2aM15272N	1633	0,44 / 16	0,68±0,04	0,67±0,03	5	0,08	0,11	0,07	0,07	0,09	0,07	0,07	0,15	0,38	0,56	0,53	0,54	0,49	0,63	0,60	0,38	0,52	0,46	0,03
H2bM15292N	1633	0,34 / 75	0,64±0,03	0,62±0,02	6	0,10	0,11	0,08	0,09	0,10	0,14	0,08	0,33	0,39	0,57	0,52	0,55	0,48	0,61	0,62	0,43	0,53	0,54	0,04
H2aM15271N	1633	1,37 / 9	0,68±0,04	0,68±0,02	7	0,09	0,10	0,07	0,08	0,08	0,07	0,08	0,11	0,40	0,52	0,50	0,23	0,47	0,58	0,60	0,39	0,50	0,46	0,00
H2aM15270N	Adam6/V1-3	0,78 / 19	0,69±0,03	0,74±0,02	8	0,32	0,27	0,21	0,16	0,09	0,14	0,06	0,10	0,11	0,06	0,06	0,06	0,05	0,09	0,05	0,40	0,49	0,50	0,02
H1M15280N		18,5 / 2	0,56±0,02	0,63±0,02	9	0,45	0,49	0,44	0,48	0,48	0,48	0,50	0,29	0,18	0,24	0,24	0,25	0,22	0,26	0,27	0,38	0,42	0,42	0,04
H2aM15268N	1633	0,36 / 12	0,82±0,10	0,69±0,01	10	0,60	0,62	0,53	0,53	0,56	0,53	0,55	0,14	0,14	0,08	0,08	0,07	0,09	0,11	0,59	0,42	0,55	0,65	0,03
H1M15267N	Adam6/V1-3	0,18 / 75	0,80±0,10	0,68±0,02	11	0,57	0,58	0,53	0,52	0,58	0,50	0,58	0,13	0,14	0,08	0,07	0,09	0,06	0,10	0,55	0,43	0,53	0,60	0,05
H2aM15279N	Adam6/V1-3	0,1 / 130	0,68±0,03	0,66±0,02	12	0,58	0,58	0,50	0,53	0,55	0,49	0,39	0,12	0,14	0,06	0,08	0,08	0,07	0,09	0,55	0,42	0,52	0,54	0,03
H1M15289N	Adam6/V1-3	0,21 / 262	0,78±0,09	0,67±0,02	13	0,60	0,58	0,54	0,55	0,56	0,55	0,54	0,14	0,13	0,08	0,07	0,08	0,07	0,10	0,59	0,44	0,52	0,57	0,03
H1M15277N	Adam6/V1-3	0,35 / 13	0,54±0,01	0,72±0,02	14	0,62	0,61	0,52	0,58	0,63	0,54	0,57	0,10	0,10	0,06	0,05	0,07	0,05	0,07	0,64	0,33	0,42	0,38	0,01
H2aM15278N	Adam6/V1-3	0,51 / 13	0,79±0,09	0,67±0,01	15	0,61	0,64	0,58	0,56	0,60	0,58	0,58	0,13	0,11	0,55	0,46	0,48	0,51	0,60	0,07	0,41	0,50	0,61	0,00
H2aM15287N	Adam6/V1-3	6,98 / 26	0,66±0,03	0,59±0,02	16	0,60	0,57	0,50	0,53	0,56	0,57	0,57	0,62	0,44	0,58	0,55	0,55	0,51	0,66	0,58	0,10	0,14	0,49	0,03
H1M15288N	Adam6/V1-3	4,15 / 16	0,66±0,04	0,66±0,02	17	0,59	0,56	0,48	0,52	0,54	0,56	0,56	0,60	0,41	0,56	0,51	0,56	0,51	0,60	0,61	0,08	0,08	0,40	0,03
H1M15269N	Adam6/V1-3	0,62 / 107	0,62±0,05	0,66±0,11	18	0,61	0,58	0,51	0,58	0,62	0,60	0,60	0,59	0,49	0,49	0,49	0,49	0,47	0,53	0,58	0,31	0,41	0,08	0,04
Dung dịch đệm	N/A	N/A	0,63±0,03	0,11±0,01	19	0,61	0,61	0,56	0,58	0,57	0,58	0,58	0,61	0,50	0,56	0,57	0,59	0,55	0,61	0,61	0,51	0,58	0,50	0,04

Fig.2

mAb-2 liên kết với phức chất sơ bộ gồm mAb-1 & MERS.mFc																				
Hiệu giá mAb	mAb-1	Mức bẫy MERS.mFc của mAb- (nm)	Liên kết I (nm)	mAb #	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
9,18	H1H15215P	0,38±0,01	0,56±0,02	1	0,02	0,04	0,02	0,19	0,03	0,03	0,04	0,05	0,04	0,03	0,03	0,30	0,29	0,12	0,33	0,04
16,6	H1H15177P	0,45±0,01	0,60±0,02	2	0,04	0,06	0,03	0,22	0,05	0,03	0,05	0,05	0,07	0,07	0,06	0,39	0,36	0,21	0,36	0,06
9,7	H1H15203P	0,36±0,02	0,51±0,02	3	0,01	0,04	0,02	0,20	0,04	0,01	0,02	0,03	0,04	0,01	0,03	0,31	0,33	0,19	0,34	0,04
11	H1H15211P	0,45±0,01	0,76±0,03	4	0,01	0,02	0,01	0,14	0,01	0,00	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,35	0,32	0,18	0,36	0,02
6,64	H1H15188P	0,38±0,02	0,54±0,02	5	0,02	0,05	0,03	0,19	0,04	0,03	0,03	0,02	0,04	0,02	0,03	0,04	0,04	0,03	0,03	0,06
6,64	H1H15208P	0,35±0,02	0,46±0,03	6	0,02	0,03	0,03	0,25	0,04	0,01	0,03	0,02	0,03	0,03	0,03	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02
8,29	H1H15228P2	0,37±0,01	0,52±0,02	7	0,00	0,03	0,01	0,19	0,03	0,01	0,02	0,02	0,02	0,00	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02
8,51	H1H15233P2	0,34±0,02	0,46±0,03	8	0,01	0,03	0,01	0,23	0,04	0,02	0,01	0,02	0,03	0,00	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	0,03
9,43	H1H15237P2	0,32±0,02	0,39±0,02	9	0,01	0,05	0,01	0,21	0,03	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	0,04
9,56	H1H15253P2	0,32±0,02	0,38±0,02	10	0,03	0,06	0,05	0,27	0,02	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,03	0,00	0,01	0,02	0,03
9,13	H1H15259P2	0,33±0,01	0,42±0,01	11	0,12	0,15	0,12	0,30	0,01	0,00	0,00	0,02	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02
6,32	H1H15231P2	0,37±0,01	0,50±0,02	12	0,33	0,38	0,35	0,53	0,02	0,01	0,02	0,03	0,01	0,01	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,03
7,45	H1H15249P2	0,32±0,02	0,40±0,02	13	0,29	0,33	0,30	0,52	0,04	0,01	0,01	0,02	0,03	0,02	0,02	0,03	0,01	0,01	0,02	0,02
0,24	H1H15260P2	0,32±0,01	0,39±0,01	14	0,28	0,39	0,35	0,54	0,04	0,02	0,04	0,04	0,05	0,02	0,03	0,04	0,02	0,03	0,04	0,02
7,22	H1H15264P2	0,33±0,01	0,41±0,01	15	0,32	0,38	0,34	0,55	0,03	0,02	0,01	0,01	0,02	0,00	0,02	0,01	0,00	0,01	0,02	0,02
10	REGNI536	0,33±0,01	0,12±0,01	16	0,35	0,38	0,33	0,55	0,25	0,27	0,28	0,29	0,28	0,24	0,30	0,29	0,27	0,24	0,30	0,03

Fig.3

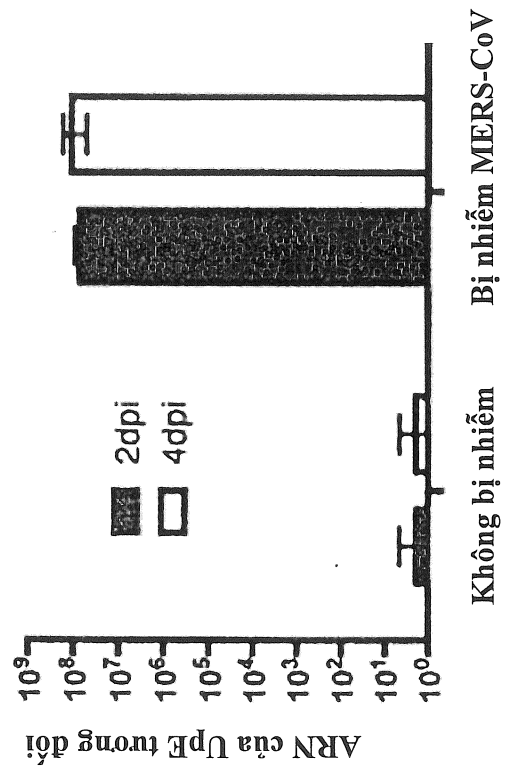


Fig.4

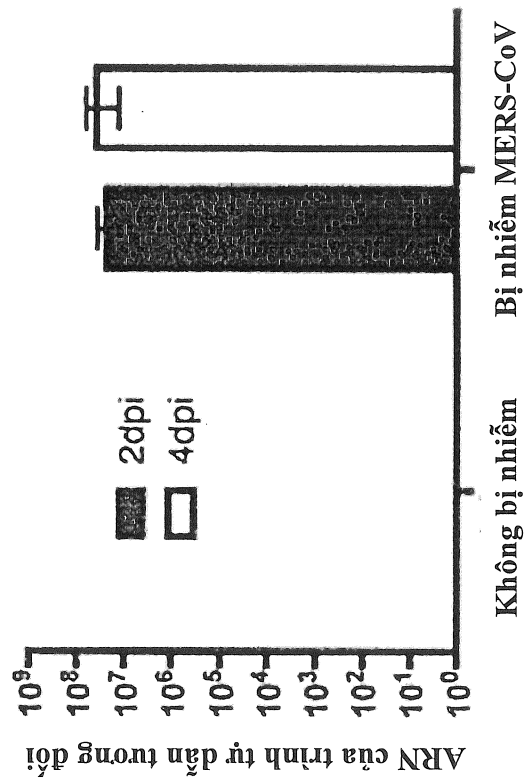


Fig.5

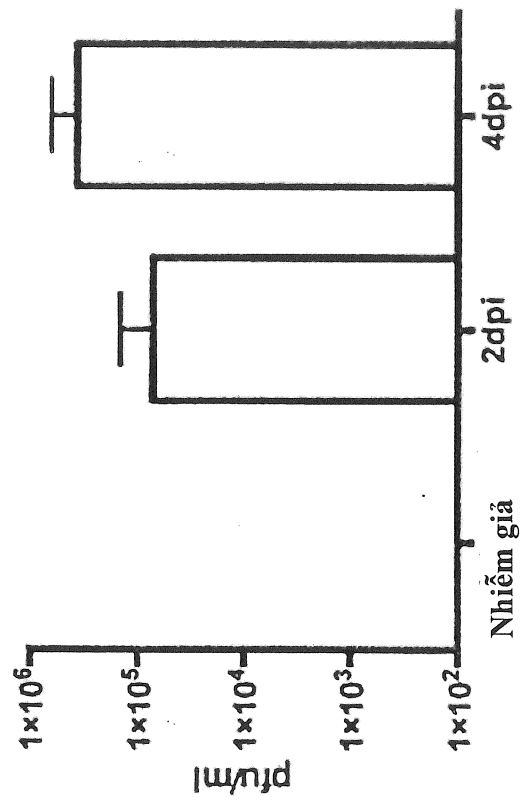


Fig.6

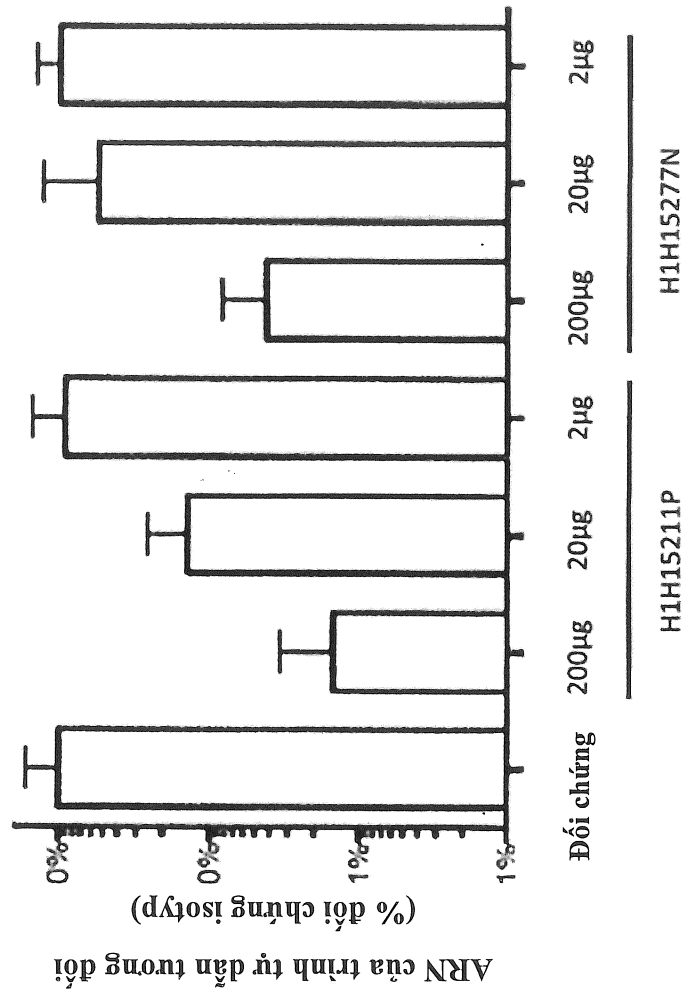


Fig.7

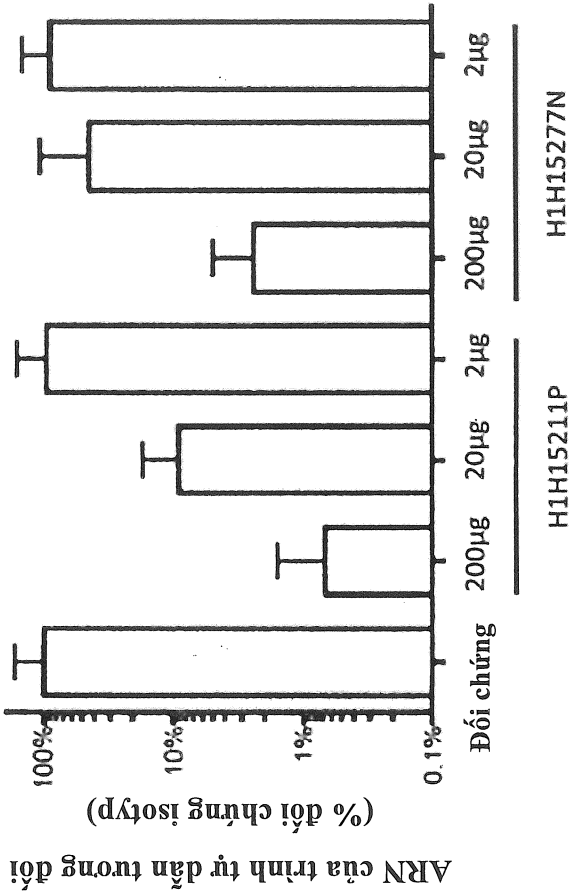


Fig.8

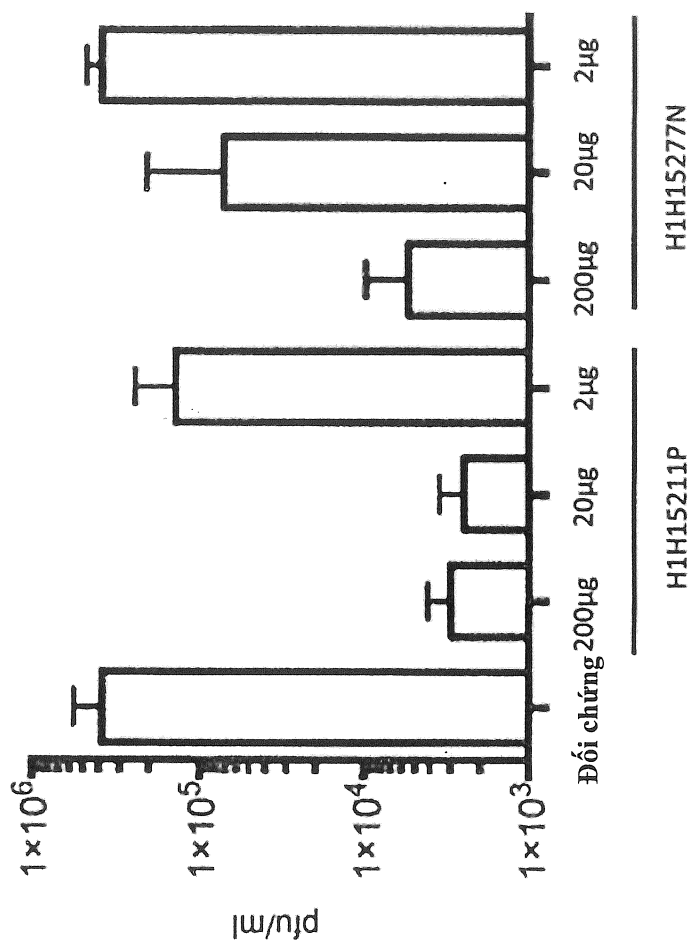


Fig.9

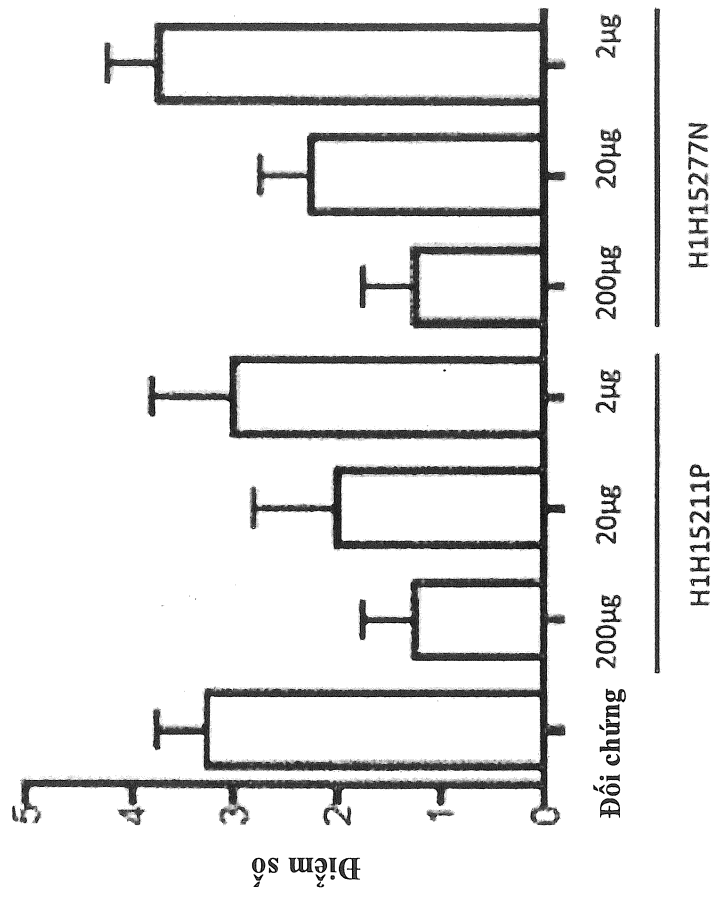


Fig.10

11/14

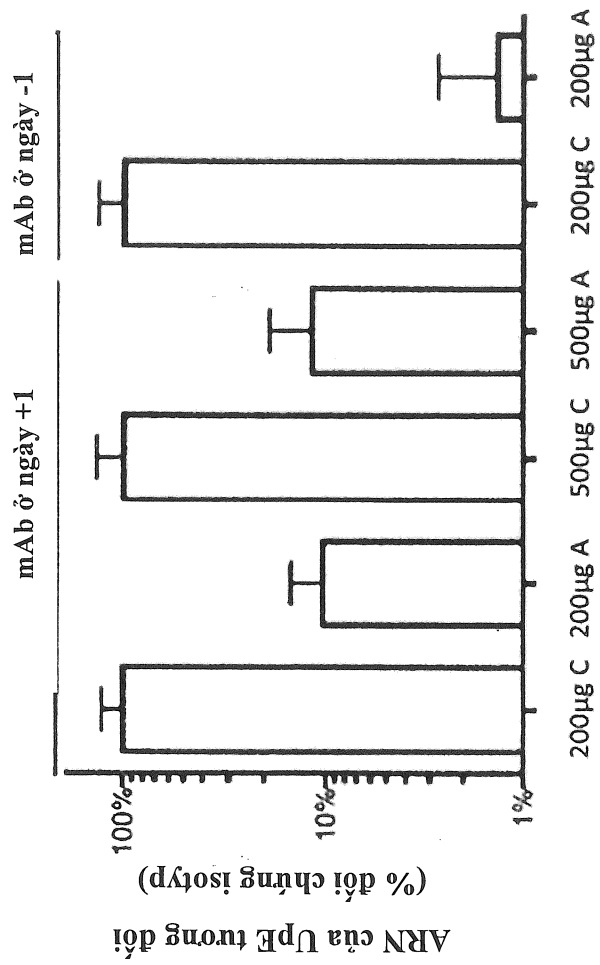


Fig.11

12/14

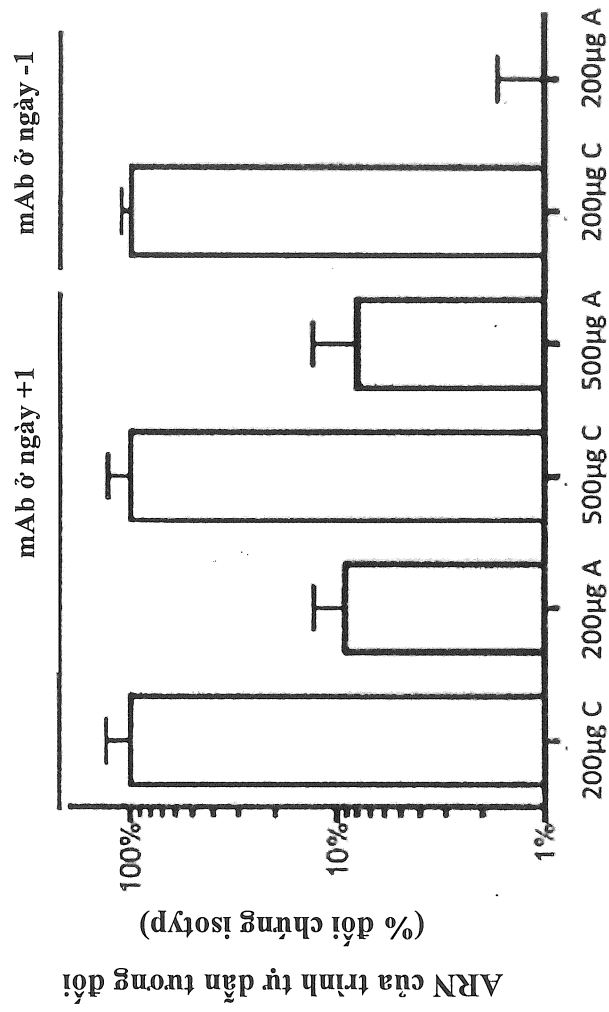


Fig.12

13/14

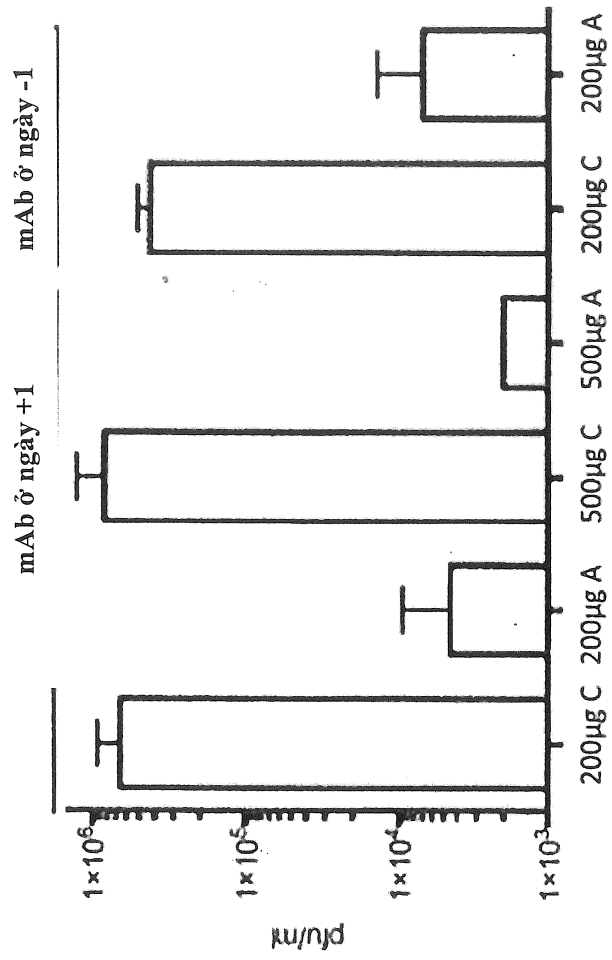


Fig.13

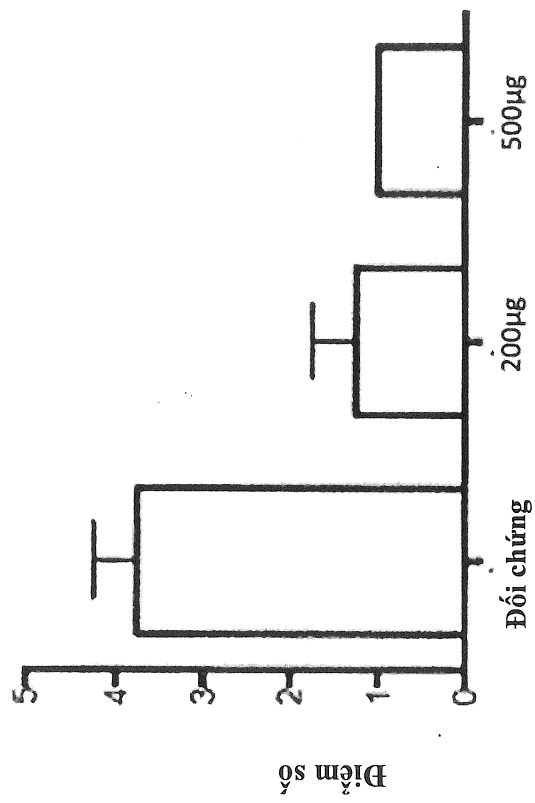


Fig.14

DANH MỤC TRÌNH TỰ

- <110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.
Christos Kyratsous
Neil Stahl
Sumathi Sivapalasingam
- <120> Kháng thể đơn dòng ở người liên kết đặc hiệu với protein gai của virus corona gây hội chứng hô hấp Trung Đông và được phẩm chứa kháng thể này
- <130> A0027W001
- <150> 62/002,233
<151> 2014-05-23
- <150> 62/004,971
<151> 2014-05-30
- <150> 62/051,717
<151> 2014-09-17
- <150> 62/072,716
<151> 2014-10-30
- <160> 458
- <170> FastSEQ cho Windows phiên bản 4.0
- <210> 1
<211> 354
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
- <220>
<223> Tổng hợp
- <400> 1
gagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggttcagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgttcag cctctggatt caccttttagc agctatgaca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attcgtggta gtggtcatac cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgttgtat 240
ctggaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attattgtgt gaaagatggg 300
agtatcgtag gggtcgaccc ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354
- <210> 2
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 2

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 Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Arg Gly Ser Gly His Thr 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 Glu Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Lys Asp Gly Ser Ile Val Gly Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 3

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 3

ggattcacct ttagcagcta tgac

24

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 4

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Asp
 1 5

<210> 5

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 5

attcgtggta gtggtcatac caca

24

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 6

Ile Arg Gly Ser Gly His Thr Thr

1

5

<210> 7

<211> 33

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 7

gtgaaagatg ggagtatcgt agggttcgac ccc

33

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 8

Val Lys Asp Gly Ser Ile Val Gly Phe Asp Pro

1

5

10

<210> 9

<211> 321

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 9

```
gacatccaga tgacccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtca gactattagt agctggttg cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attcgtagac ttttgccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321
```

<210> 10

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 10

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

<210> 11

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 11

cagactatta gtagctgg

18

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 12

Gln Thr Ile Ser Ser Trp

1

5

<210> 13

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 13

aaggcgtct

9

<210> 14

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 14

Lys Ala Ser

1

<210> 15

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 15

caacagtata atagttattc gtacact

27

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 16
 Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Tyr Thr
 1 5

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 17
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggagg ctccttcagc gtctatgcta tcagctgggt gcgccaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatcccaa tctttggtac agcaaaactac 180
 gcacagaagt tccaggacag attcacgatt accacggacg aatccacgag cacagcctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccatgt attactgtgc gagagagggg 300
 gatattgtag tactaccagc tggttaagggg ggtatggacg tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cctca 375

<210> 18
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 18
 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 Ser Phe Ser Val 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 Asp Arg Phe Thr Ile Thr Thr Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

33082

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Gly Asp Ile Val Val Leu Pro Ala Gly Lys Gly Gly Met
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 19
 ggaggctcct tcagcgtcta tgct 24

<210> 20
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 20
 Gly Gly Ser Phe Ser Val Tyr Ala
 1 5

<210> 21
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 21
 atcatcccaa tctttggtac agca 24

<210> 22
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 22

Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala

1

5

<210> 23

<211> 54

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 23

gcgagagagg gggatattgt agtactacca gctggtaagg ggggtatgga cgtc 54

<210> 24

<211> 18

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 24

Ala Arg Glu Gly Asp Ile Val Val Leu Pro Ala Gly Lys Gly Gly Met

1

5

10

15

Asp Val

<210> 25

<211> 336

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 25

gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catggtaatg gatacaacta tttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttggtttc tcatcgggcc 180
tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagatcttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaagctct acaaagtcct 300
tggacgttcg gccaagggac caaggtggaa atcaaa 336

<210> 26
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 26
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Gly
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser His Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 Leu Gln Ser Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 27
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 27
 cagagcctcc tgcattggttaa tggatatacaac tat

33

<210> 28
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 28
 Gln Ser Leu Leu His Gly Asn Gly Tyr Asn Tyr
 1 5 10

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 29
 ttggtttct

9

<210> 30
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 30
 Leu Val Ser
 1

<210> 31
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 31
 atgcaagctc tacaaagtcc ttggacg

27

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 32
 Met Gln Ala Leu Gln Ser Pro Trp Thr
 1 5

<210> 33
 <211> 354
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 33
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac ttggtacagc cggggggggtc cctgagagtc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc aactatgaca tgtactgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagtt attagtggta ttggtgctac cacatattac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccata tccagagaca attccaagaa cacggtgttt 240
 ctgcaaata atagtctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgt gaaaggggga 300
 cctatagtgg ctacggatta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 34
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 34
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Val Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Val Ile Ser Gly Ile Gly Ala Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Phe
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Lys Gly Gly Pro Ile Val Ala Thr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 35
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 35

ggattcacct ttagcaacta tgac

24

<210> 36

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 36

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Asp

1

5

<210> 37

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 37

attagtggtta ttggtgctac caca

24

<210> 38

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 38

Ile Ser Gly Ile Gly Ala Thr Thr

1

5

<210> 39

<211> 33

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 39

gtgaaagggg gacctatagt ggctacggat tac

33

<210> 40

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 40

Val Lys Gly Gly Pro Ile Val Ala Thr Asp Tyr

1

5

10

<210> 41

<211> 321

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 41

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggccagtca gactattagt agctggttgg cctggcatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attcgtggac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 42

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 42

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr 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 Trp

20

25

30

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

35

40

45

33082

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

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 43
 cagagtatta gtagctgg 18

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 44
 Gln Ser Ile Ser Ser Trp
 1 5

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 45
 aaggcgtct 9

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

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 46

Lys Ala Ser

1

<210> 47

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 47

caacagtata atagttattc gtggacg

27

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 48

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Trp Thr

1

5

<210> 49

<211> 354

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 49

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagac ttggtacagc ctggaggggc cctaagactc 60
tcctgtacag cctctggatt caccttcagt aattatgaaa tgaactgggt ccgccaggct 120
ccagagaagg ggctggactg ggtttcattc attagtagta gtggtggtgc catatactac 180
gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctactgtat 240
ctgcaaata acagcctgag agccgaggac tcggctattt atttctgtgc gcgatccgac 300
tccggtggta actcgaggta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 50
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

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

<210> 51
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 51
 ggattcacct tcagtaatta tgaa

24

<210> 52
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

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

<210> 53

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 53

attagtagta gtggtggtgc cata

24

<210> 54

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 54

Ile ser ser Ser Gly Gly Ala Ile

1

5

<210> 55

<211> 33

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 55

gcgcgatccg actccggtgg taactcgagg tac

33

<210> 56

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 56

Ala Arg Ser Asp Ser Gly Gly Asn Ser Arg Tyr

1

5

10

<210> 57
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 57
 gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 gtcacttgtc gggcgagtca ggatattagc aactgggttag tctgggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagttcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctacagcct 240
 gaagattttg cgacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tccctcctac tttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 58
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 58
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Trp
 20 25 30
 Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe 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 Ala Asn Ser Phe Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 59
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 59

caggatatta gcaactgg

18

<210> 60

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 60

Gln Asp Ile Ser Asn Trp

1

5

<210> 61

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 61

gctgcatcc

9

<210> 62

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 62

Ala Ala Ser

1

<210> 63

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 63

caacaggcta acagtttccc tcctact

27

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 64

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Pro Thr

1

5

<210> 65

<211> 354

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 65

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgtag tttctggatt caccttttagt aattatgaca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaggg ggctggagtg ggtctcagct attaggggta gtggttttta cacaattattac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cagctgttat 240
ctgcaaata acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatggg 300
tctatagtga gtatggacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 66

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 66

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 Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

33082

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

<210> 67
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 67
 ggattcacct ttagtaatta tgac

24

<210> 68
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 68
 Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Asp
 1 5

<210> 69
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 69
 attaggggta gtggttttaa caca

24

<210> 70
 <211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 70

Ile Arg Gly Ser Gly Phe Asn Thr

1

5

<210> 71

<211> 33

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 71

gcgaaagatg ggtctatagt gagtatggac tac

33

<210> 72

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 72

Ala Lys Asp Gly Ser Ile Val Ser Met Asp Tyr

1

5

10

<210> 73

<211> 321

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 73

gacatccaga tgacccagtc tccttccgcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggccagtca gagtattagt agctggttg cctgggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaaactcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

33082

gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attcgtggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 74

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 74

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

<210> 75

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 75

cagagtatta gtagctgg 18

<210> 76

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 76

Gln Ser Ile Ser Ser Trp

1

5

<210> 77

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 77

aaggcgtct

9

<210> 78

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 78

Lys Ala Ser

1

<210> 79

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 79

caacagtata atagttattc gtggacg

27

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 80

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Trp Thr

1

5

<210> 81

<211> 354

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 81

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc cgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc acctatggca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaact attattggtg gtggttataa cacatactac 180
tcagactccg tgaagggccg gttcaccatg tccagagaca attccaagag cacgctgtat 240
ctgcaaataa acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtac gaaagaaggc 300
cctataattg gaaccacgaa ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca      354

```

<210> 82

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 82

```

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

```

<210> 83

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 83

ggattcacct ttagcaccta tggc

24

<210> 84

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 84

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Gly

1

5

<210> 85

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 85

attattggta gtggttataa caca

24

<210> 86

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 86

Ile Ile Gly Ser Gly Tyr Asn Thr

1

5

<210> 87

<211> 33

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 87

acgaaagaag gccctataat tggaaccacg aac

33

<210> 88

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 88

Thr Lys Glu Gly Pro Ile Ile Gly Thr Thr Asn

1

5

10

<210> 89

<211> 321

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 89

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggccagtc gagtattagt agctggttgg cctgggtatca acagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gacgattttg caacttatta ctgccaccaa tataatagtt attcgtggac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaatcaa a 321

<210> 90

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 90

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr 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 Trp

20

25

30

33082

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

<210> 91
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 91
 cagagtatta gtagctgg

18

<210> 92
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 92
 Gln Ser Ile Ser Ser Trp
 1 5

<210> 93
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 93
 aaggcgtct

9

<210> 94
 <211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 94

Lys Ala Ser

1

<210> 95

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 95

caccaatata atagttattc gtggacg

27

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 96

His Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Trp Thr

1

5

<210> 97

<211> 351

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 97

gagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttgggtgcagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag tctttggatt caccttttagc ggctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgggtg gtgggtggtag cacatactac 180
acagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

33082

ctgcaaata acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gtcctactgg 300
aacaacggta tggacgtctg gggccaaggg accacgggtca cgtctcctc a 351

<210> 98

<211> 117

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 98

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1			5					10					15		
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Phe	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Gly	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	Gly	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Thr	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	Ser	Tyr	Trp	Asn	Asn	Gly	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr
					100					105				110	
Val	Thr	Val	Ser	Ser											
					115										

<210> 99

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 99

ggattcacct ttagcggcta tgcc

24

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 100

Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Ala

1

5

<210> 101

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 101

attagtgggtg gtgggtggtag caca

24

<210> 102

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 102

Ile Ser Gly Gly Gly Gly Ser Thr

1

5

<210> 103

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 103

gcgtcctact ggaacaacgg tatggacgtc

30

<210> 104

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 104

Ala Ser Tyr Trp Asn Asn Gly Met Asp Val

1

5

10

<210> 105

<211> 324

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 105

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180
 aggttcagtg gcagtggtac tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
 caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 106

<211> 108

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 106

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 Pro
 85 90 95
 Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 107

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 107

cagagcatta gcagctat

18

<210> 108

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 108

Gln ser Ile ser ser Tyr

1

5

<210> 109

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 109

gctgcatcc

9

<210> 110

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 110

Ala Ala Ser

1

<210> 111

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 111

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 112

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 112

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1

5

10

<210> 113

<211> 360

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 113

cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctagtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agtaatactt actactgggg ctggatccgc 120
 cagccccag ggaaggggct ggagtggatt ggaactatat attatactgg gaacacctac 180
 tacaagtcgt ccctcaagag tcgagtcacc atatccgtag acacgtccag gaaccagttc 240
 tccctgaagc tgacctctgt gaccgccgca gacacggctg tctattactg tgcgcgacag 300
 tttgctgact tgaactacgt tgactactgg ggccagggaa ccctgggtcac cgtctcctca 360

<210> 114

<211> 120

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 114

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

1

5

10

15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asn

33082

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

<210> 115

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

$\langle 220 \rangle$

<223> Tổng hợp

<400> 115

ggtggctcca tcagtagtaa tacttactac

30

<210> 116

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

$\langle 220 \rangle$

<223> Tổng hợp

<400> 116

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

<210> 117

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

$\langle 220 \rangle$

<223> Tổng hợp

<400> 117

atatattata ctgggaacac c

21

<210> 118
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 118
 Ile Tyr Tyr Thr Gly Asn Thr
 1 5

<210> 119
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 119
 gcgcgacagt ttgctgactt gaactacgtt gactac

36

<210> 120
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 120
 Ala Arg Gln Phe Ala Asp Leu Asn Tyr Val Asp Tyr
 1 5 10

<210> 121
 <211> 363
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 121
 gaggtgcagc tgggtggagtc ggggggaggc ttggttcagc ctgggggggc cctgagactc 60

33082

```

tcctgtgcag cctctggatt ctcccttagc agctatggca tgaactgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtgggc gtggtggtaa cacatactcc 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
cttcaaataa atggcctgag agccgaggac tcggcctttt attactgtgc gaaagtgggg 300
acttatagtt cttcgtcccc ctttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
tca 363

```

<210> 122

<211> 121

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 122

```

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

```

<210> 123

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 123

```

ggattctcct ttagcagcta tggc

```

24

<210> 124

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 124

Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr Gly

1

5

<210> 125

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 125

attagtgggc gtgggtggtac caca

24

<210> 126

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 126

Ile Ser Gly Arg Gly Gly Asn Thr

1

5

<210> 127

<211> 42

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 127

gcgaaagtgg ggacttatag ttcttcgtcc ccctttgact ac

42

<210> 128

<211> 14

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 128

Ala Lys Val Gly Thr Tyr Ser Ser Ser Ser Pro Phe Asp Tyr

1

5

10

<210> 129

<211> 348

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 129

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggttcagc ctgggggggc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctctaac agctatccca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccaggaagg ggctggagtg ggtctcaggt attagtggta gaggtggtaa cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cactctgtat 240
 ctgcaaata acagcctgag agtcgaggac acggccgtat attactgtgc ggaaactgga 300
 actgcctttg actactgggg ccaggaacc ctggtcaccg tctcctca 348

<210> 130

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 130

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

<210> 131

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 131

ggattcacct ctaacagcta tccc

24

<210> 132

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 132

Gly Phe Thr Ser Asn Ser Tyr Pro

1

5

<210> 133

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 133

attagtggta gaggtggtaa caca

24

<210> 134

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 134

Ile Ser Gly Arg Gly Gly Asn Thr

1

5

<210> 135

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 135

gcggaaactg gaactgcctt tgactac

27

<210> 136

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 136

Ala Glu Thr Gly Thr Ala Phe Asp Tyr

1

5

<210> 137

<211> 360

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 137

cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc aataataatt actactgggg ctggatccgc 120
 cagcccccag ggaaggggct ggactggatt gggagtatct attatagtgg gaatacctac 180
 tacaaccctg ccctcaagag tcgagtcacc atatccgttg acacgtccaa gaaccagttc 240
 tccctgaaga tgagttctgt gaccgccaca gacacggctc tgtattactg tgcgagacag 300
 ggagcagatc acaactgggt cgacccttg ggccagggaa ccctgggtcac cgtctcctca 360

<210> 138

<211> 120

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 138

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

<210> 139

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 139

ggtggctcca tcagcaataa taattactac

30

<210> 140

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 140

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

<210> 141

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 141

atctattata gtgggaatac c

21

<210> 142

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 142

Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr

1

5

<210> 143

<211> 36

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 143

gcgagacagg gagcagatca caactgggtc gacccc

36

<210> 144

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 144

Ala Arg Gln Gly Ala Asp His Asn Trp Val Asp Pro

1

5

10

<210> 145

<211> 351

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 145

```
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgttg tctctggatt cacctctaga aactatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtgggag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca atcccaagaa cacgttgtat 240
ctacaaatga acagcctgag agccgaggac acggccctat attactgtgc ggaagatcct 300
ggaacttctt ttgactactg gggccaggga accctgggtca ccgtctcctc a 351
```

<210> 146

<211> 117

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 146

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

<210> 147

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 147

ggattcacct ctagaaacta tgcc

24

<210> 148

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 148

Gly Phe Thr Ser Arg Asn Tyr Ala

1

5

<210> 149

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 149

attagtggta gtggtgggag caca

24

<210> 150

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 150

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr

1

5

<210> 151

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 151

gcggaagatc ctggaacttc ttttgactac

30

<210> 152

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 152

Ala	Glu	Asp	Pro	Gly	Thr	Ser	Phe	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 153

<211> 390

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 153

```

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatggca tacactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcaggt atatactatg atggaagtaa taaatactat 180
ggagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctatat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgttt attactgtgc gagagatcgg 300
ggtaataacc actactatca taataatccc tactactatt atcacggttt ggacgtctgg 360
ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 390

```

<210> 154

<211> 130

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 154

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

33082

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Arg Gly Asn Asn His Tyr Tyr His Asn Asn Pro Tyr Tyr
 100 105 110
 Tyr Tyr His Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
 115 120 125
 Ser Ser
 130

<210> 155

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 155

ggattcacct tcagtaacta tggc

24

<210> 156

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 156

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly

1

5

<210> 157

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 157

atatactatg atggaagtaa taaa

24

<210> 158

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 158

Ile Tyr Tyr Asp Gly Ser Asn Lys

1

5

<210> 159

<211> 69

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 159

gcgagagatc ggggtaataa ccactactat cataataatc cctactacta ttatcacggt 60
ttggacgtc 69

<210> 160

<211> 23

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 160

Ala Arg Asp Arg Gly Asn Asn His Tyr Tyr His Asn Asn Pro Tyr Tyr

1

5

10

15

Tyr Tyr His Gly Leu Asp Val

20

<210> 161

<211> 324

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 161

gaaatagttt tgacacagag tcccggcaca ctgtcactct ctcccgggga aagagccacc 60

33082

```

ttgtcatgta gagcaagtca gtcagtctct agctcttatc tcgcctggta ccagcagaag 120
ccgggacagg cccctagact gctgatctac ggggcaagtt ccagggccac cggaatcccc 180
gaccggttca gtggaagcgg aagcggaacc gattttactt tgacgatttc tagactggag 240
ccagaggatt tcgccgttta ctattgtcaa cagtacggaa gcagcccgtg gacgtttggc 300
cagggcacga aggtagaaat caag                                     324

```

<210> 162

<211> 108

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 162

```

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

```

<210> 163

<211> 36

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 163

```

agagcaagtc agtcagtctc tagctcttat ctcgcc                                     36

```

<210> 164

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 164

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 165

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 165

ggggcaagtt ccagggccac c

21

<210> 166

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 166

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
 1 5

<210> 167

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 167

caacagtacg gaagcagccc gtggacg

27

<210> 168

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 168

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr

1

5

<210> 169

<211> 345

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 169

```

cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgctctg tctctggtgg ctccatcact agttcctatt ggagctggat ccggcagccc 120
ccaggaaggg gcctggagtg gattggatat gtctattact acgggaccac caaatacaac 180
ccctccctca agagtcgagt caccacatca atggacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
aaactgaact ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtttatt actgtgagag actggaacta 300
ctctttgact actggggcca gggaaccctg gtcactgtct cctca 345

```

<210> 170

<211> 115

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 170

```

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

```

<210> 171

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 171
 ggtggctcca tcactagttc ctat

24

<210> 172
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 172
 Gly Gly Ser Ile Thr Ser Ser Tyr
 1 5

<210> 173
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 173
 gtctattact acgggaccac c

21

<210> 174
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 174
 Val Tyr Tyr Tyr Gly Thr Thr
 1 5

<210> 175

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 175

gcgagactgg aactactctt tgactac

27

<210> 176

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 176

Ala Arg Leu Glu Leu Leu Phe Asp Tyr

1

5

<210> 177

<211> 363

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 177

cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 acctgcagtg tctctggtgg ctccatcaac aataataatt actactgggg ctggatccgc 120
 cagccccccag ggagggggct ggagtggatt gggagtttct tttatagtgg gccacacctac 180
 tacaaccctg ccctcaggag tcgagtcacc atatccgtag acacgtccaa gaaccagttc 240
 tccctgaagc tgaactctgt aaccgccgca gacacggcta tatattactg tgcgagacag 300
 gatgggaact actaccccct ctttgactac tggggccagg gaaccctggc caccgtctcc 360
 tca 363

<210> 178

<211> 121

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 178

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

<210> 179

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 179

gggggctcca tcaacaataa taattactac

30

<210> 180

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 180

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

<210> 181

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 181

ttcttttata gtgggccac c

21

<210> 182

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 182

Phe Phe Tyr Ser Gly Pro Thr

1

5

<210> 183

<211> 39

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 183

gcgagacagg atgggaacta ctacccctc tttgactac

39

<210> 184

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 184

Ala Arg Gln Asp Gly Asn Tyr Tyr Pro Leu Phe Asp Tyr

1

5

10

<210> 185

<211> 354

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 185

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccaggg ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agttactact ggagctggat ccggcagccc 120
ccagggaagg gactggagtg gattgggtat atctattaca gtgggagccc caactacaac 180
ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
aagctgacct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgcgag atcccttaac 300
tggggacccc cttttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca      354

```

<210> 186

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 186

```

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

```

<210> 187

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 187

```

ggtaggctcca tcagtagtta ctac

```

24

<210> 188

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 188

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr

1

5

<210> 189

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 189

atctattaca gtgggagccc c

21

<210> 190

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 190

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Pro

1

5

<210> 191

<211> 36

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 191

gcgagatccc ttaactgggg accccctttt gactac

36

<210> 192

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 192
 Ala Arg Ser Leu Asn Trp Gly Pro Pro Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 193
 <211> 321
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 193
 gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctctgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtca gagggttagc agcaacttag cctgggtacca gcaaaaacct 120
 ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca ggccactgg tatcccagcc 180
 aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagag ttcactctca ccacgagcag cctgcagtct 240
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag ttttaataact ggccgtacac ttttggccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 194
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 194
 Glu Ile Val 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 Ser Ser Asn
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Asn Trp Pro Tyr
 85 90 95

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

<210> 195

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 195

cagagtgtta gcagcaac

18

<210> 196

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 196

Gln Ser Val Ser Ser Asn
1 5

<210> 197

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 197

ggtgcatcc

9

<210> 198

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 198

Gly Ala Ser

1

<210> 199

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 199

cagcagttta ataactggcc gtacact

27

<210> 200

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 200

Gln Gln Phe Asn Asn Trp Pro Tyr Thr

1

5

<210> 201

<211> 375

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 201

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
 tcctgtccag cctctggatt cacctttagc aactatgcca tgacctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtgctac caciaagtac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatt tccagagaca attccaggaa tacgctatat 240
 ctgcaaatga acagtctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaggggggt 300
 tcggggagtt atttcctta ctactactac ggtttggacg tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cctca 375

<210> 202

<211> 125

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 202

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 Pro Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ala Thr Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg 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 Ser Gly Ser Tyr Phe Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 203

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 203

ggattcacct ttagcaacta tgcc

24

<210> 204

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 204

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala
 1 5

<210> 205

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 205

attagtggta gtggtgctac caca

24

<210> 206

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 206

Ile Ser Gly Ser Gly Ala Thr Thr

1

5

<210> 207

<211> 54

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 207

gcgaaggggg gttcggggag ttatttcct tactactact acggtttgga cgtc

54

<210> 208

<211> 18

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 208

Ala Lys Gly Gly Ser Gly Ser Tyr Phe Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu

1

5

10

15

Asp Val

<210> 209
 <211> 318
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 209
 gaaatagtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga tagtgccacc 60
 ctctcctgca gggccagtca gactgttagc agcaacttag cctggtacca gcagaaacct 120
 ggccaggctc ccaggctcct catctatggc gcatccacca gggccactgg tatcccagcc 180
 aggttcagtg gcagtggtc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
 gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tattataact ggtggacgtt cggccaaggg 300
 accaaggtgg aaatcaaa 318

<210> 210
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

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

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 211
cagactgtta gcagcaac

18

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

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 212
Gln Thr Val Ser Ser Asn
1 5

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

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 213
ggtgcatcc

9

<210> 214
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 214
Gly Ala Ser
1

<210> 215
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 215

cagcagtatt ataactgggtg gacg

24

<210> 216

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 216

Gln Gln Tyr Tyr Asn Trp Trp Thr

1

5

<210> 217

<211> 354

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 217

gagggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggc gtggtggtaa cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
 ctgcaaatac acaccctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatagg 300
 gggtttgggt tcttcgatat ctggggccgt ggcaccctgg ccactgtctc ctca 354

<210> 218

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 218

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 Arg Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

33082

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

<210> 219

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 219

ggattcacct ttagcagcta tgcc

24

<210> 220

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 220

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
 1 5

<210> 221

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 221

attagtggtc gtggtggtta caca

24

<210> 222

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 222

Ile Ser Gly Arg Gly Gly Asn Thr

1

5

<210> 223

<211> 33

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 223

gcgaaagata ggggttttgg gttcttcgat atc

33

<210> 224

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 224

Ala Lys Asp Arg Gly Phe Gly Phe Phe Asp Ile

1

5

10

<210> 225

<211> 321

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 225

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtca ggacattagt aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagtccct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat ttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tcccattcac tttcggccct 300
 gggaccaaaa taaatatcaa a 321

<210> 226
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 226
 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 Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Ile Asn Ile Lys
 100 105

<210> 227
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 227
 caggacatta gtaactat

18

<210> 228
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 228
 Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 1 5

<210> 229
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 229
 gatgcatcc

9

<210> 230
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 230
 Asp Ala Ser
 1

<210> 231
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 231
 caacagtatg ataatctccc attcact

27

<210> 232
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 232
 Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Phe Thr
 1 5

<210> 233
 <211> 351
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 233
 gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtagtag cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cagctgtttt 240
 ctgcaaatac acagcctgag agccgaggac acggccgtct attactgtgc ggaaggggga 300
 gacgtggatt ttgactactg gggccaggga accctgggtca ccgtctcctc a 351

<210> 234
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 234
 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 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 Phe
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Glu Gly Gly Asp Val Asp Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 235
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 235

ggattcacct ttagcagcta tgcc

24

<210> 236

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 236

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1

5

<210> 237

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 237

attagtggta gtggtagtag caca

24

<210> 238

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 238

Ile Ser Gly Ser Gly Ser Ser Thr

1

5

<210> 239

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 239

gcggaagggg gagacgtgga ttttgactac

30

<210> 240

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 240

Ala Glu Gly Gly Asp Val Asp Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 241

<211> 324

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 241

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
agggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 242

<211> 108

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 242

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

33082

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 Pro
 85 90 95
 Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 243

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 243

cagagcatta gcagctat

18

<210> 244

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 244

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1

5

<210> 245

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 245

gctgcatcc

9

<210> 246

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 246

Ala Ala Ser

1

<210> 247

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 247

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 248

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 248

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1

5

10

<210> 249

<211> 348

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 249

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggttg ctccatcagt agttactact ggagctggat ccggcagccc 120
 ccaggaagc gactggaatg gattgggtac atctattaca gtgggagcgc caactacaac 180
 ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
 aagctaagct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgtgag agaccgggac 300
 ctactccttg accactgggg ccaggaacc ctggtcaccg tctcctca 348

<210> 250

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 250

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

<210> 251

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 251

gggtggctcca tcagtagtta ctac

24

<210> 252

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 252

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr
 1 5

<210> 253

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 253

atctattaca gtgggagcgc c

21

<210> 254

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 254

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ala

1

5

<210> 255

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 255

gtgagagacc gggacctact ccttgaccac

30

<210> 256

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 256

Val Arg Asp Arg Asp Leu Leu Leu Asp His

1

5

10

<210> 257

<211> 321

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 257

```

gaaatagtgga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggaa aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc agcaacttag cctggtacca gcagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatggg gcatccacca ggaccactgg tttcccagcc 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240
gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag tataataact ggccgtacac ttttggccag 300
gggaccatgc tggagatcaa a 321

```

<210> 258

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 258

```

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

```

<210> 259

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 259

cagagtgtta gcagcaac

18

<210> 260

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 260

Gln Ser Val Ser Ser Asn

1

5

<210> 261

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 261

ggtgcatcc

9

<210> 262

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 262

Gly Ala Ser

1

<210> 263

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 263

cagcagtata ataactggcc gtacact

27

<210> 264

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 264

Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Tyr Thr

1

5

<210> 265

<211> 387

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 265

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc acttatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatccctt tctttggtac agcaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accacggacg aatccacgag cacagcctac 240
atggagttga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagaggga 300
acgtattacg attctttgac tggttattac acccactact accgtatgga cgtctggggc 360
caagggacca cggtcaccgt ctcctca 387

<210> 266

<211> 129

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 266

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 Thr Tyr

20

25

30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

33082

35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Thr 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 Thr Tyr Tyr Asp Ser Leu Thr Gly Tyr Tyr Thr His
 100 105 110
 Tyr Tyr Arg Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 267
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 267
 ggaggcacct tcagcactta tgct

24

<210> 268
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 268
 Gly Gly Thr Phe Ser Thr Tyr Ala
 1 5

<210> 269
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 269
 atcatccctt tctttggtac agca

24

<210> 270
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 270
 Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Ala
 1 5

<210> 271
 <211> 66
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 271
 gcgagagagg gaacgtatta cgattctttg actgggtatt acaccacta ctaccgtatg 60
 gacgtc 66

<210> 272
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 272
 Ala Arg Glu Gly Thr Tyr Tyr Asp Ser Leu Thr Gly Tyr Tyr Thr His
 1 5 10 15
 Tyr Tyr Arg Met Asp Val
 20

<210> 273
 <211> 324
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 273

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gaccattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg cgacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaa 324

```

<210> 274

<211> 108

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 274

```

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 Thr 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 Pro
85          90          95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100         105

```

<210> 275

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 275

cagaccatta gcagctat

18

<210> 276

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 276

Gln Thr Ile Ser Ser Tyr

1

5

<210> 277

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 277

gctgcatcc

9

<210> 278

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 278

Ala Ala Ser

1

<210> 279

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 279

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 280

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 280

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
 1 5 10

<210> 281

<211> 381

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 281

cagggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggctc 60
 tcctgcaagg tttctggagt caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagt gatgggaggg atcatccctt tctttggtac agcaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcacgggt accacggacg aatccacgag cacagcctac 240
 atggaggtga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagataat 300
 ccggaactaa ctaaggaggg gtactaccac tactacgcta tggacgtctg gggccaaggg 360
 accacgggtca ccgtctcctc a 381

<210> 282

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 282

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

33082

Ala Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 283

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 283

ggagtcacct tcagcagcta tgct

24

<210> 284

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 284

Gly Val Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1

5

<210> 285

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 285

atcatccctt tctttggtac agca

24

<210> 286

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 286

Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Ala

1

5

<210> 287

<211> 60

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 287

gcgagagata atccggaact aactaaggag gggtaactacc actactacgc tatggacgtc 60

<210> 288

<211> 20

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 288

Ala Arg Asp Asn Pro Glu Leu Thr Lys Glu Gly Tyr Tyr His Tyr Tyr

1

5

10

15

Ala Met Asp Val

20

<210> 289

<211> 324

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 289

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
 caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 290

<211> 108

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 290

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 Pro
 85 90 95
 Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 291

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 291

cagagcatta gcagctat

18

<210> 292

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 292

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 1 5

<210> 293

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 293

gctgcatcc

9

<210> 294

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 294

Ala Ala Ser

1

<210> 295

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 295

caacagagtt acagtacccc tccgatacc

30

<210> 296

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 296

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1

5

10

<210> 297

<211> 354

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 297

```

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggagtc ttggtacagc cggggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctttgcca tgagctgggt cgcagggt 120
ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gaggtggtag tacatactac 180
gcagactccg tgatgggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
gtgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatagg 300
gggttcgggg tctttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

```

<210> 298

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 298

```

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

```

<210> 299

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 299

ggattcacct ttagcagctt tgcc

24

<210> 300

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 300

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Ala

1

5

<210> 301

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 301

attagtggta gaggtggtac taca

24

<210> 302

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 302

Ile Ser Gly Arg Gly Gly Thr Thr

1

5

<210> 303

<211> 33

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 303

gcgaaagata ggggggttcgg ggtctttgac tac

33

<210> 304

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 304

Ala Lys Asp Arg Gly Phe Gly Val Phe Asp Tyr

1

5

10

<210> 305

<211> 315

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 305

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagggtcacc 60
 atcacttgcc aggcgagtca ggtcattaac aattatttaa attcgtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagggtcct gatctgcat gcaccaatg tggaaacagg ggtcccgta 180
 aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat ttactttca ccatcagcag cctgcagact 240
 gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tcactttcgg cggaggggacc 300
 aaggtggagg tcaaa 315

<210> 306

<211> 105

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 306

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 Gln Ala Ser Gln Val Ile Asn Asn Tyr

20

25

30

Leu Asn Ser Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile

35

40

45

Cys Asp Ala Ser Asn Val Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50

55

60

33082

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Thr
 65 70 75 80
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Thr Phe
 85 90 95
 Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Val Lys
 100 105

<210> 307

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 307

caggtcatta acaattat

18

<210> 308

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 308

Gln Val Ile Asn Asn Tyr

1

5

<210> 309

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 309

gatgcatcc

9

<210> 310

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 310

Asp Ala Ser

1

<210> 311

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 311

caacagtatg ataatctcac t

21

<210> 312

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 312

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Thr

1

5

<210> 313

<211> 381

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 313

gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggaacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcca tgatctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg gactggagtg ggtctcaact attagtggga gtgggtgttaa cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgcat 240
ctacaaatga acagcctgag agccgaggac acggccggtt atcactgtgc gaaagaggga 300
ttggattgtg ctaatggtgt atgctataac tactacggtg tggacgtctg gggccaaggg 360
accacggtca ccgtctcctc a 381

<210> 314

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 314

```

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

```

<210> 315

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 315

ggattcacct ttagcagcta tgcc

24

<210> 316

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 316

```

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
 1             5

```

<210> 317
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 317
 attagtggga gtggtgttaa caca

24

<210> 318
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 318
 ile ser gly ser gly val asn thr
 1 5

<210> 319
 <211> 60
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 319
 gcgaaagagg gattggattg tgctaattggt gtatgctata actactacgg tatggacgtc 60

<210> 320
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 320
 ala lys glu gly leu asp cys ala asn gly val cys tyr asn tyr tyr
 1 5 10 15

Gly Met Asp Val
20

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

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 321
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattaac agcttttttaa attggtatca tcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaattcct gatctatagt gcatccaatt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccattagcag tctgcaacct 240
gaagattttt caacttacta ctgtcaacag agttacagta tcccgtcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 322
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 322
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 Asn Ser Phe
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn 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 Ser Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 323
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 323

cagagcatta acagcttt

18

<210> 324

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 324

Gln Ser Ile Asn Ser Phe

1

5

<210> 325

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 325

agtgcattcc

9

<210> 326

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 326

Ser Ala Ser

1

<210> 327

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 327

caacagagtt acagtatccc gctcact

27

<210> 328

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 328

Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Pro Leu Thr

1

5

<210> 329

<211> 378

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 329

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggagcc ttggtacagc ctggaggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt catcttcggt agttatgaga tgaactgggt ccgccagggt 120
 ccaggaagg ggctggagt gctttcatac attagtagta gtggtagtag catatactac 180
 gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctactgtat 240
 ctgcaaata acagcctgag agccgaggac acggctgttt attactgtgc gagagaacgg 300
 gggcagctcg gccggggagg gtattactac tacgggtatgg acgtctgggg ccaagggacc 360
 acggtcaccg tctcctca 378

<210> 330

<211> 126

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 330

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Leu Val Gln Pro Gly Gly

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Gly Ser Tyr

33082

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

<210> 331

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 331

ggattcatct tcggtagtta tgag

24

<210> 332

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 332

Gly Phe Ile Phe Gly Ser Tyr Glu

1

5

<210> 333

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 333

attagtagta gtggtagtag cata

24

<210> 334

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 334

Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile

1

5

<210> 335

<211> 57

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 335

gcgagagaac gggggcagct cggccgggga ggggtattact actacgggat ggacgtc 57

<210> 336

<211> 19

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 336

Ala Arg Glu Arg Gly Gln Leu Gly Arg Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

1

5

10

15

Met Asp Val

<210> 337

<211> 327

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

33082

<400> 337

```
gaaattgtgt tgacgcggtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccatcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatgtat ggtacatcca tcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta gctcacctcc gtggacgttc 300
ggccaaggga ccaaggtgga aatcaaa 327
```

<210> 338

<211> 109

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 338

```
Glu Ile Val Leu Thr Arg 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 His Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35          40          45
Met Tyr Gly Thr Ser Ile 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
Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100         105
```

<210> 339

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 339

```
cagagtgtta gcagcagcta c 21
```

<210> 340

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 340

Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr

1

5

<210> 341

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 341

ggtacatcc

9

<210> 342

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 342

Gly Thr Ser

1

<210> 343

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 343

cagcagtatg gtagctcacc tccgtggacg

30

<210> 344

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 344

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Pro Trp Thr
 1 5 10

<210> 345

<211> 384

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 345

cagggtccggc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggaga caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatccctt tctttgttac aactacctac 180
 gcacagaatt tccagggcag agtcacgatt accacggacg aatccacgcg cacagcctac 240
 atggagctga gcagtctgag atctgaggac tcggccgtgt attactgtgc gagagatcgg 300
 ccgtgtatca gctcggctgg tacacgctac cactactgcg ttatggacgt ctggggccaa 360
 gggacaacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 346

<211> 128

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 346

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

<210> 347

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 347

ggagacacct tcagcagcta tgct

24

<210> 348

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 348

Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1

5

<210> 349

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 349

atcatccctt tctttgttac aact

24

<210> 350

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 350

Ile Ile Pro Phe Phe Val Thr Thr

1

5

<210> 351

<211> 63

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 351

```
gcgagagatc ggccgtgtat cagctcggct ggtacacgct accactactg cgttatggac 60
gtc 63
```

<210> 352

<211> 21

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 352

```
Ala Arg Asp Arg Pro Cys Ile Ser Ser Ala Gly Thr Arg Tyr His Tyr
 1           5           10           15
Cys Val Met Asp Val
                20
```

<210> 353

<211> 324

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 353

```
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agttatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaa 324
```

<210> 354

<211> 108

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 354

```

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 Pro
          85           90           95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
          100           105

```

<210> 355

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 355

cagagcatta gcagttat

18

<210> 356

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 356

```

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 1           5

```

<210> 357

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 357

gctgcatcc

9

<210> 358

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 358

Ala Ala Ser

1

<210> 359

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 359

caacagagtt acagtacccc tccgatacc

30

<210> 360

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 360

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1

5

10

<210> 361

<211> 357

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 361

```
caggttcaac tgggtgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc agccatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacagg ggtttgagtg gatgggatgg atcggcactt acaatagtaa cacagactat 180
gcacagaact tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacggcctac 240
atggagctga ggaacctgag atctgacgac acggccgtat attattgtgc gagagaaagg 300
ggtccctatt acggtatgga cgtctggggc caagggacca cggtcaccgt ctcctca 357
```

<210> 362

<211> 119

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 362

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

<210> 363

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 363

ggttacacct ttaccagcca tggc

24

<210> 364

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 364

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser His Gly
1 5

<210> 365

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 365

atcggcactt acaatagtaa caca

24

<210> 366

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 366

Ile Gly Thr Tyr Asn Ser Asn Thr
1 5

<210> 367

<211> 36

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 367

<210> 368

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 368

Ala Arg Glu Arg Gly Pro Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1

5

10

<210> 369

<211> 321

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 369

gaaattgtgt tggcgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtca gagggttaac agcaactact tagcctggta tcagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gtagggccac tggcatcca 180
 gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcaa cagtatggta actcactcac tttcggccct 300
 gggaccaaag tggatttcaa a 321

<210> 370

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 370

Glu Ile Val Leu Ala 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 Asn Ser Asn
 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

33082

65					70					75					80
Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Gly	Asn	Ser	Leu
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Lys	Val	Asp	Phe	Lys					
			100					105							

<210> 371

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 371

cagagtgtta acagcaacta c

21

<210> 372

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 372

Gln Ser Val Asn Ser Asn Tyr

1

5

<210> 373

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 373

ggtgcatcc

9

<210> 374

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 374
Gly Ala Ser
1

<210> 375
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 375
caacagtatg gtaactcact cact

24

<210> 376
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 376
Gln Gln Tyr Gly Asn Ser Leu Thr
1 5

<210> 377
<211> 354
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 377
gaggtgcagc tgttgagtc tgggggaggc ttggtacaga ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc aattatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtata gaggtggtag tatatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgaagtat 240
ctgcaaatgg acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gcaagatagg 300
gggttcgggg tctttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 378
<211> 118
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 378

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

<210> 379

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 379

ggattcacct ttagcaatta tgcc

24

<210> 380

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 380

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala
 1 5

<210> 381

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 381

attagtata gaggtgtag tata

24

<210> 382

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 382

Ile Ser Asp Arg Gly Gly Ser Ile

1

5

<210> 383

<211> 33

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 383

gcgcaagata gggggttcgg ggtctttgac tac

33

<210> 384

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 384

Ala Gln Asp Arg Gly Phe Gly Val Phe Asp Tyr

1

5

10

<210> 385

<211> 321

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 385

```

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggcgagtca ggacattggc aactatttaa attggtttca gcagagacca 120
gggaaagccc ctaatctcct gatctacggt gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
aggttcagtg gaggtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatattg caacatattt ctgtcaacag tatgataatc tccctttcac tttcggccct 300
gggaccaaag tggaaatcaa a                                     321

```

<210> 386

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 386

```

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

```

<210> 387

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 387

caggacattg gcaactat

18

<210> 388

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 388

Gln Asp Ile Gly Asn Tyr

1

5

<210> 389

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 389

ggtgcatcc

9

<210> 390

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 390

Gly Ala Ser

1

<210> 391

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 391

caacagtatg ataatctccc ttctact

27

<210> 392

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 392

Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Phe Thr

1

5

<210> 393

<211> 384

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 393

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaagggtc 60
 tcctgcaagg cttctaaaga caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatccctt tctttggtac aactacctac 180
 gaacagaagt tccagggcag agtcacgatt accacggacg aatccacgcg cacagcctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac tcggccgtgt attactgtgc gagagatcgg 300
 ccgtgtatca gctcggctgg tacacgctac cactactgcg ttatggacgt ctggggccaa 360
 gggacaacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 394

<211> 128

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 394

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 Lys Asp 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 Phe Phe Gly Thr Thr Thr Tyr Glu Gln Lys Phe
 50 55 60

33082

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Thr Asp Glu Ser Thr Arg Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Arg Pro Cys Ile Ser Ser Ala Gly Thr Arg Tyr His Tyr
 100 105 110
 Cys Val Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 395

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 395

aaagacacct tcagcagcta tgct

24

<210> 396

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 396

Lys Asp Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1

5

<210> 397

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 397

atcatccctt tctttggtac aact

24

<210> 398

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 398

Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Thr

1

5

<210> 399

<211> 63

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 399

gcgagagatc ggccgtgtat cagctcggct ggtacacgct accactactg cgttatggac 60
 gtc 63

<210> 400

<211> 21

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 400

Ala Arg Asp Arg Pro Cys Ile Ser Ser Ala Gly Thr Arg Tyr His Tyr

1

5

10

15

Cys Val Met Asp Val
 20

<210> 401

<211> 324

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 401

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagtattagc agttatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

33082

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 402

<211> 108

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 402

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	Pro
				85				90					95		
Ile	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Arg	Leu	Glu	Ile	Lys				
			100					105							

<210> 403

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 403

cagagtatta gcagttat 18

<210> 404

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 404

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1

5

<210> 405

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 405

gctgcatcc

9

<210> 406

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 406

Ala Ala Ser

1

<210> 407

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 407

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 408

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 408

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1

5

10

<210> 409

<211> 357

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 409

```

cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtggttaatt actactgggg ctggatccgc 120
cagccccccg ggaaggggct ggagtgggtt gggactatct attatagtgg gagcacctac 180
tacaaccctg ccctcaagag tcgagtcacc atatccgtag acacgtcaa gaaccagttc 240
tccctgaagc tgagctctgt gaccgccgca gacacggctg tgtattactg tgcgagacgg 300
gcagcagttg gtcactttga ctactggggc cagggaacct tggtcaccgt ctcctca 357

```

<210> 410

<211> 119

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 410

```

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

```

<210> 411

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 411

ggaggctcca tcagcagtg taattactac

30

<210> 412

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 412

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly Asn Tyr Tyr

1

5

10

<210> 413

<211> 21

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 413

atctattata gtgggagcac c

21

<210> 414

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 414

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr

1

5

<210> 415

<211> 33

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 415

gcgagacggg cagcagttgg tcactttgac tac

33

<210> 416

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 416

Ala Arg Arg Ala Ala Val Gly His Phe Asp Tyr

1

5

10

<210> 417

<211> 318

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 417

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggccagtc gagtattagt acctggttgg cctgggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagtcct gatctatgag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatt tgggacagaa ttcaacttca ccatcagccg cctgcagcct 240
 gatgattttg caacttattt ctgccaacag tataatactt attggacggt cgccaagg 300
 accaaggtgg aaatcaaa 318

<210> 418

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 418

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

1

5

10

15

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

20

25

30

33082

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

<210> 419
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 419
 cagagtatta gtacctgg

18

<210> 420
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 420
 Gln Ser Ile Ser Thr Trp
 1 5

<210> 421
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 421
 gaggcgtct

9

<210> 422
 <211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 422

Glu Ala Ser

1

<210> 423

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 423

caacagtata atacttattg gacg

24

<210> 424

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 424

Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr Trp Thr

1

5

<210> 425

<211> 381

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 425

cagggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttctggaga caccttcagc acctatgctg tcagctgggt acgtcaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatccctt tctttggtac atcaaaactac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accacggacg aatccacgac cacagcctac 240

33082

atggaactga acagcctgag atctgaggac acggccgtat attactgtgc gagagaaatt 300
actatgggttc ggggacttac caactaccac ttctacggtg tggacgtctg gggccaaggg 360
accacggtca ccgtctcctc a 381

<210> 426

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 426

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

<210> 427

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 427

ggagacacct tcagcaccta tgct

24

<210> 428

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 428

Gly Asp Thr Phe Ser Thr Tyr Ala

1

5

<210> 429

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 429

atcatccctt tctttggtac atca

24

<210> 430

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 430

Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Ser

1

5

<210> 431

<211> 60

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 431

gcgagagaaa ttactatggt tcggggactt accaactacc acttctacgg tatggacgtc 60

<210> 432

<211> 20

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 432

Ala Arg Glu Ile Thr Met Val Arg Gly Leu Thr Asn Tyr His Phe Tyr
 1 5 10 15
 Gly Met Asp Val
 20

<210> 433

<211> 324

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 433

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta tttccccgat caccttcggc 300
 caggggacac gactggagat taaa 324

<210> 434

<211> 108

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 434

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 Ile Ser Pro
 85 90 95
 Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 435

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 435
 cagagcatta gcagctat 18

<210> 436
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 436
 Gln ser Ile Ser Ser Tyr
 1 5

<210> 437
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 437
 gctgcatcc 9

<210> 438
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 438
 Ala Ala Ser
 1

<210> 439

<211> 30

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 439

caacagagtt acagtatttc cccgatcacc

30

<210> 440

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 440

Gln Gln Ser Tyr Ser Ile Ser Pro Ile Thr

1

5

10

<210> 441

<211> 381

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 441

caggtccagc tgggttcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggttcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggggg caccttcaac aactatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgaatg gatgggaggg atcatccctt tctttggtac aacaaactac 180
gcacagaagt tccaggacag agtcacgatt acctcggacg actcaacgat aacagcctac 240
atggaactga gtcgcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatgaa 300
ccccgtagag atggctacaa ttactaccac tactactata tggacgtctg gggccaaggg 360
accacggtca ccgtctcctc a 381

<210> 442

<211> 127

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 442

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

<210> 443

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 443

gggggcacct tcaacaacta tgct

24

<210> 444

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 444

Gly Gly Thr Phe Asn Asn Tyr Ala
 1 5

<210> 445

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 445

atcatccctt tcttttggtac aaca

24

<210> 446

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 446

Ile Ile Pro Phe Phe Gly Thr Thr

1

5

<210> 447

<211> 60

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 447

gcgagagatg aaccccgtag agatggctac aattactacc actactacta tatggacgtc 60

<210> 448

<211> 20

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 448

Ala Arg Asp Glu Pro Arg Arg Asp Gly Tyr Asn Tyr Tyr His Tyr Tyr

1

5

10

15

Tyr Met Asp Val

20

<210> 449

<211> 324

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 449

```

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattaac agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcatcct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaa                                     324

```

<210> 450

<211> 108

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 450

```

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 Asn Ser Tyr
          20           25           30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn 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 His Pro
65           70           75           80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
          85           90           95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
          100          105

```

<210> 451

<211> 18

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 451

cagagcatta acagctat

18

<210> 452

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 452
 Gln Ser Ile Asn Ser Tyr
 1 5

<210> 453
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 453
 gctgcatcc

9

<210> 454
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 454
 Ala Ala Ser
 1

<210> 455
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 455
 caacagagtt acagtacccc tccgatacc

30

<210> 456

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 456
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
 1 5 10

<210> 457
 <211> 1353
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> MERS-CoV-S
 aa 367-606: RBD

<400> 457
 Met Ile His Ser Val Phe Leu Leu Met Phe Leu Leu Thr Pro Thr Glu
 1 5 10 15
 Ser Tyr Val Asp Val Gly Pro Asp Ser Val Lys Ser Ala Cys Ile Glu
 20 25 30
 Val Asp Ile Gln Gln Thr Phe Phe Asp Lys Thr Trp Pro Arg Pro Ile
 35 40 45
 Asp Val Ser Lys Ala Asp Gly Ile Ile Tyr Pro Gln Gly Arg Thr Tyr
 50 55 60
 Ser Asn Ile Thr Ile Thr Tyr Gln Gly Leu Phe Pro Tyr Gln Gly Asp
 65 70 75 80
 His Gly Asp Met Tyr Val Tyr Ser Ala Gly His Ala Thr Gly Thr Thr
 85 90 95
 Pro Gln Lys Leu Phe Val Ala Asn Tyr Ser Gln Asp Val Lys Gln Phe
 100 105 110
 Ala Asn Gly Phe Val Val Arg Ile Gly Ala Ala Ala Asn Ser Thr Gly
 115 120 125
 Thr Val Ile Ile Ser Pro Ser Thr Ser Ala Thr Ile Arg Lys Ile Tyr
 130 135 140
 Pro Ala Phe Met Leu Gly Ser Ser Val Gly Asn Phe Ser Asp Gly Lys
 145 150 155 160
 Met Gly Arg Phe Phe Asn His Thr Leu Val Leu Leu Pro Asp Gly Cys
 165 170 175
 Gly Thr Leu Leu Arg Ala Phe Tyr Cys Ile Leu Glu Pro Arg Ser Gly
 180 185 190
 Asn His Cys Pro Ala Gly Asn Ser Tyr Thr Ser Phe Ala Thr Tyr His
 195 200 205
 Thr Pro Ala Thr Asp Cys Ser Asp Gly Asn Tyr Asn Arg Asn Ala Ser
 210 215 220

Leu Asn Ser Phe Lys Glu Tyr Phe Asn Leu Arg Asn Cys Thr Phe Met
 225 230 235 240
 Tyr Thr Tyr Asn Ile Thr Glu Asp Glu Ile Leu Glu Trp Phe Gly Ile
 245 250 255
 Thr Gln Thr Ala Gln Gly Val His Leu Phe Ser Ser Arg Tyr Val Asp
 260 265 270
 Leu Tyr Gly Gly Asn Met Phe Gln Phe Ala Thr Leu Pro Val Tyr Asp
 275 280 285
 Thr Ile Lys Tyr Tyr Ser Ile Ile Pro His Ser Ile Arg Ser Ile Gln
 290 295 300
 Ser Asp Arg Lys Ala Trp Ala Ala Phe Tyr Val Tyr Lys Leu Gln Pro
 305 310 315 320
 Leu Thr Phe Leu Leu Asp Phe Ser Val Asp Gly Tyr Ile Arg Arg Ala
 325 330 335
 Ile Asp Cys Gly Phe Asn Asp Leu Ser Gln Leu His Cys Ser Tyr Glu
 340 345 350
 Ser Phe Asp Val Glu Ser Gly Val Tyr Ser Val Ser Ser Phe Glu Ala
 355 360 365
 Lys Pro Ser Gly Ser Val Val Glu Gln Ala Glu Gly Val Glu Cys Asp
 370 375 380
 Phe Ser Pro Leu Leu Ser Gly Thr Pro Pro Gln Val Tyr Asn Phe Lys
 385 390 395 400
 Arg Leu Val Phe Thr Asn Cys Asn Tyr Asn Leu Thr Lys Leu Leu Ser
 405 410 415
 Leu Phe Ser Val Asn Asp Phe Thr Cys Ser Gln Ile Ser Pro Ala Ala
 420 425 430
 Ile Ala Ser Asn Cys Tyr Ser Ser Ile Leu Asp Tyr Phe Ser Tyr
 435 440 445
 Pro Leu Ser Met Lys Ser Asp Leu Ser Val Ser Ser Ala Gly Pro Ile
 450 455 460
 Ser Gln Phe Asn Tyr Lys Gln Ser Phe Ser Asn Pro Thr Cys Leu Ile
 465 470 475 480
 Leu Ala Thr Val Pro His Asn Leu Thr Thr Ile Thr Lys Pro Leu Lys
 485 490 495
 Tyr Ser Tyr Ile Asn Lys Cys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Asp Arg Thr
 500 505 510
 Glu Val Pro Gln Leu Val Asn Ala Asn Gln Tyr Ser Pro Cys Val Ser
 515 520 525
 Ile Val Pro Ser Thr Val Trp Glu Asp Gly Asp Tyr Tyr Arg Lys Gln
 530 535 540
 Leu Ser Pro Leu Glu Gly Gly Gly Trp Leu Val Ala Ser Gly Ser Thr
 545 550 555 560
 Val Ala Met Thr Glu Gln Leu Gln Met Gly Phe Gly Ile Thr Val Gln
 565 570 575
 Tyr Gly Thr Asp Thr Asn Ser Val Cys Pro Lys Leu Glu Phe Ala Asn
 580 585 590
 Asp Thr Lys Ile Ala Ser Gln Leu Gly Asn Cys Val Glu Tyr Ser Leu
 595 600 605
 Tyr Gly Val Ser Gly Arg Gly Val Phe Gln Asn Cys Thr Ala Val Gly
 610 615 620
 Val Arg Gln Gln Arg Phe Val Tyr Asp Ala Tyr Gln Asn Leu Val Gly

33082

625		630		635		640
Tyr Tyr Ser Asp Asp Gly Asn Tyr Tyr Cys Leu Arg Ala Cys Val Ser						
	645		650		655	
Val Pro Val Ser Val Ile Tyr Asp Lys Glu Thr Lys Thr His Ala Thr						
	660		665		670	
Leu Phe Gly Ser Val Ala Cys Glu His Ile Ser Ser Thr Met Ser Gln						
	675		680		685	
Tyr Ser Arg Ser Thr Arg Ser Met Leu Lys Arg Arg Asp Ser Thr Tyr						
	690		695		700	
Gly Pro Leu Gln Thr Pro Val Gly Cys Val Leu Gly Leu Val Asn Ser						
705		710		715		720
Ser Leu Phe Val Glu Asp Cys Lys Leu Pro Leu Gly Gln Ser Leu Cys						
	725		730		735	
Ala Leu Pro Asp Thr Pro Ser Thr Leu Thr Pro Arg Ser Val Arg Ser						
	740		745		750	
Val Pro Gly Glu Met Arg Leu Ala Ser Ile Ala Phe Asn His Pro Ile						
	755		760		765	
Gln Val Asp Gln Leu Asn Ser Ser Tyr Phe Lys Leu Ser Ile Pro Thr						
	770		775		780	
Asn Phe Ser Phe Gly Val Thr Gln Glu Tyr Ile Gln Thr Thr Ile Gln						
785		790		795		800
Lys Val Thr Val Asp Cys Lys Gln Tyr Val Cys Asn Gly Phe Gln Lys						
	805		810		815	
Cys Glu Gln Leu Leu Arg Glu Tyr Gly Gln Phe Cys Ser Lys Ile Asn						
	820		825		830	
Gln Ala Leu His Gly Ala Asn Leu Arg Gln Asp Asp Ser Val Arg Asn						
	835		840		845	
Leu Phe Ala Ser Val Lys Ser Ser Gln Ser Ser Pro Ile Ile Pro Gly						
	850		855		860	
Phe Gly Gly Asp Phe Asn Leu Thr Leu Leu Glu Pro Val Ser Ile Ser						
865		870		875		880
Thr Gly Ser Arg Ser Ala Arg Ser Ala Ile Glu Asp Leu Leu Phe Asp						
	885		890		895	
Lys Val Thr Ile Ala Asp Pro Gly Tyr Met Gln Gly Tyr Asp Asp Cys						
	900		905		910	
Met Gln Gln Gly Pro Ala Ser Ala Arg Asp Leu Ile Cys Ala Gln Tyr						
	915		920		925	
Val Ala Gly Tyr Lys Val Leu Pro Pro Leu Met Asp Val Asn Met Glu						
	930		935		940	
Ala Ala Tyr Thr Ser Ser Leu Leu Gly Ser Ile Ala Gly Val Gly Trp						
945		950		955		960
Thr Ala Gly Leu Ser Ser Phe Ala Ala Ile Pro Phe Ala Gln Ser Ile						
	965		970		975	
Phe Tyr Arg Leu Asn Gly Val Gly Ile Thr Gln Gln Val Leu Ser Glu						
	980		985		990	
Asn Gln Lys Leu Ile Ala Asn Lys Phe Asn Gln Ala Leu Gly Ala Met						
	995		1000		1005	
Gln Thr Gly Phe Thr Thr Thr Asn Glu Ala Phe Gln Lys Val Gln Asp						
	1010		1015		1020	
Ala Val Asn Asn Asn Ala Gln Ala Leu Ser Lys Leu Ala Ser Glu Leu						
1025		1030		1035		1040

33082

Ser Asn Thr Phe Gly Ala Ile Ser Ala Ser Ile Gly Asp Ile Ile Gln
1045 1050 1055
Arg Leu Asp Val Leu Glu Gln Asp Ala Gln Ile Asp Arg Leu Ile Asn
1060 1065 1070
Gly Arg Leu Thr Thr Leu Asn Ala Phe Val Ala Gln Gln Leu Val Arg
1075 1080 1085
Ser Glu Ser Ala Ala Leu Ser Ala Gln Leu Ala Lys Asp Lys Val Asn
1090 1095 1100
Glu Cys Val Lys Ala Gln Ser Lys Arg Ser Gly Phe Cys Gly Gln Gly
1105 1110 1115 1120
Thr His Ile Val Ser Phe Val Val Asn Ala Pro Asn Gly Leu Tyr Phe
1125 1130 1135
Met His Val Gly Tyr Tyr Pro Ser Asn His Ile Glu Val Val Ser Ala
1140 1145 1150
Tyr Gly Leu Cys Asp Ala Ala Asn Pro Thr Asn Cys Ile Ala Pro Val
1155 1160 1165
Asn Gly Tyr Phe Ile Lys Thr Asn Asn Thr Arg Ile Val Asp Glu Trp
1170 1175 1180
Ser Tyr Thr Gly Ser Ser Phe Tyr Ala Pro Glu Pro Ile Thr Ser Leu
1185 1190 1195 1200
Asn Thr Lys Tyr Val Ala Pro Gln Val Thr Tyr Gln Asn Ile Ser Thr
1205 1210 1215
Asn Leu Pro Pro Pro Leu Leu Gly Asn Ser Thr Gly Ile Asp Phe Gln
1220 1225 1230
Asp Glu Leu Asp Glu Phe Phe Lys Asn Val Ser Thr Ser Ile Pro Asn
1235 1240 1245
Phe Gly Ser Leu Thr Gln Ile Asn Thr Thr Leu Leu Asp Leu Thr Tyr
1250 1255 1260
Glu Met Leu Ser Leu Gln Gln Val Val Lys Ala Leu Asn Glu Ser Tyr
1265 1270 1275 1280
Ile Asp Leu Lys Glu Leu Gly Asn Tyr Thr Tyr Tyr Asn Lys Trp Pro
1285 1290 1295
Trp Tyr Ile Trp Leu Gly Phe Ile Ala Gly Leu Val Ala Leu Ala Leu
1300 1305 1310
Cys Val Phe Phe Ile Leu Cys Cys Thr Gly Cys Gly Thr Asn Cys Met
1315 1320 1325
Gly Lys Leu Lys Cys Asn Arg Cys Cys Asp Arg Tyr Glu Glu Tyr Asp
1330 1335 1340
Leu Glu Pro His Lys Val His Val His
1345 1350

<210> 458

<211> 467

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> MERS RBD-hFc

aa1-240: MERS RBD

aa241-467: hFc

<400> 458

Glu Ala Lys Pro Ser Gly Ser Val Val Glu Gln Ala Glu Gly Val Glu
 1 5 10 15
 Cys Asp Phe Ser Pro Leu Leu Ser Gly Thr Pro Pro Gln Val Tyr Asn
 20 25 30
 Phe Lys Arg Leu Val Phe Thr Asn Cys Asn Tyr Asn Leu Thr Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ser Leu Phe Ser Val Asn Asp Phe Thr Cys Ser Gln Ile Ser Pro
 50 55 60
 Ala Ala Ile Ala Ser Asn Cys Tyr Ser Ser Leu Ile Leu Asp Tyr Phe
 65 70 75 80
 Ser Tyr Pro Leu Ser Met Lys Ser Asp Leu Ser Val Ser Ser Ala Gly
 85 90 95
 Pro Ile Ser Gln Phe Asn Tyr Lys Gln Ser Phe Ser Asn Pro Thr Cys
 100 105 110
 Leu Ile Leu Ala Thr Val Pro His Asn Leu Thr Thr Ile Thr Lys Pro
 115 120 125
 Leu Lys Tyr Ser Tyr Ile Asn Lys Cys Ser Arg Leu Leu Ser Asp Asp
 130 135 140
 Arg Thr Glu Val Pro Gln Leu Val Asn Ala Asn Gln Tyr Ser Pro Cys
 145 150 155 160
 Val Ser Ile Val Pro Ser Thr Val Trp Glu Asp Gly Asp Tyr Tyr Arg
 165 170 175
 Lys Gln Leu Ser Pro Leu Glu Gly Gly Gly Trp Leu Val Ala Ser Gly
 180 185 190
 Ser Thr Val Ala Met Thr Glu Gln Leu Gln Met Gly Phe Gly Ile Thr
 195 200 205
 Val Gln Tyr Gly Thr Asp Thr Asn Ser Val Cys Pro Lys Leu Glu Phe
 210 215 220
 Ala Asn Asp Thr Lys Ile Ala Ser Gln Leu Gly Asn Cys Val Glu Tyr
 225 230 235 240
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 245 250 255
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 260 265 270
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 275 280 285
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 290 295 300
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 305 310 315 320
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 325 330 335
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 340 345 350
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 355 360 365
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 370 375 380
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

33082

385					390					395					400
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
				405					410					415	
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
			420					425					430		
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
		435					440					445			
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
	450					455					460				
Pro	Gly	Lys													
465															