



(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)



1-0034228

(51)⁷ C12N 15/09; A61P 37/06; C07K 16/28; (13) B
C07K 16/46; C12N 1/15; C12P 21/08;
C12N 1/21; C12N 15/02; C12N 5/10;
A61K 39/395; C12N 1/19

(21) 1-2017-00410

(22) 05/08/2015

(86) PCT/JP2015/072162 05/08/2015

(87) WO 2016/021621 A1 11/02/2016

(30) 2014-160141 06/08/2014 JP

(45) 26/12/2022 417

(43) 26/06/2017 351A

(73) Astellas Pharma Inc. (JP)

5-1, Nihonbashi-Honcho 2-chome, Chuo-ku, Tokyo 1038411, Japan

(72) YAMAJUKU, Daisuke (JP); SEKI, Mutsumi (JP); HONDA, Takashi (JP); KUBO, Satoshi (JP); SOGA, Shinji (JP); MORINAKA, Akifumi (JP).

(74) Công ty Cổ phần Sở hữu công nghiệp INVESTIP (INVESTIP)

(54) KHÁNG THỂ KHÁNG BETA GLOBULIN MIỄN DỊCH Ở NGƯỜI, PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến kháng thể kháng Ig β ở người mà tạo liên kết ngang với thụ thể tế bào B (BCR) và Fc γ RIIb và có chức năng ngăn chặn miễn dịch được tăng cường. Kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có CDR1 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 31 đến 35 của SEQ ID NO: 2, CDR2 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 50 đến 65 của SEQ ID NO: 2 và CDR3 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 98 đến 108 của SEQ ID NO: 2, vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm CDR1 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 24 đến 38 của SEQ ID NO: 4, CDR2 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 54 đến 60 của SEQ ID NO: 4 và CDR3 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 93 đến 101 của SEQ ID NO: 4, và vùng ổn định chuỗi nặng là vùng ổn định Ig γ 1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp sản xuất và dược phẩm chứa kháng thể này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến kháng thể kháng Ig β ở người mà hữu dụng làm thành phần hoạt tính của dược phẩm, phương pháp sản xuất và dược phẩm chứa kháng thể này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Thụ thể tế bào B (B cell receptor - BCR) chứa các phân tử globulin miễn dịch trên màng (membrane immunoglobulin - mIg) được lắp ráp với các dime khác nhau (dị dime) của Ig α (CD79A) và Ig β (CD79B). Kháng nguyên được liên kết vào mIg và cho phép các thụ thể kết tập và tiểu phần Ig α /Ig β truyền tín hiệu vào bên trong tế bào B (Mol. Immunol., Vol. 41, p. 599-613, 2004).

Như đối với họ protein của thụ thể Fc γ (Fc γ R) là thụ thể Fc chống lại kháng thể IgG, Fc γ RIa (CD64A), Fc γ RIIa (CD32A) và Fc γ RIIIa (CD16A) mà có chức năng hoạt hóa miễn dịch và Fc γ RIIb (CD32B) mà có chức năng ngăn chặn miễn dịch đã được báo cáo. Đã có báo cáo rằng, khi BCR và Fc γ RIIb trên tế bào B được tạo liên kết ngang thông qua phức miễn dịch IgG, hoạt tính của tế bào B được ngăn chặn và do đó việc tăng sinh của tế bào B và sản xuất kháng thể được ngăn chặn (Nat. Rev. Immunol., Vol. 10, p. 328-343, 2010; Nat. Rev. Immunol., Vol. 8, p. 34-47, 2008; Nat. Rev. Immunol., Vol. 2, p. 580-592, 2002).

Đã có báo cáo rằng, việc kiểm soát hoạt tính của tế bào B thông qua Fc γ RIIb này có liên quan sâu sắc trong bệnh lý học của các bệnh tự miễn dịch như là viêm đa khớp dạng thấp và lupus ban đỏ hệ thống.

Như đối với mối tương quan đến viêm đa khớp dạng thấp, đã có báo cáo rằng, ở chuột bất hoạt bởi Fc γ RIIb, miễn dịch thể dịch không được kiểm soát một cách thích đáng (Nature, Vol. 379, p. 346- 349, 1996; J. Immunol., Vol. 163, p. 618- 622, 1999) và tính nhạy đối với viêm khớp được dẫn đến bởi collagen là tăng (J. Exp. Med., Vol. 189, p. 187-194, 1999). Hơn nữa, đã khẳng định được rằng, biểu hiện của

FcγRIIb trong tế bào nhớ B của người bệnh viêm đa khớp dạng thấp là giảm (J. Immunol., Vol. 190, p. 6015-6022, 2013).

Như đối với mối tương quan đến lupus ban đỏ hệ thống, đã có báo cáo rằng, việc khởi phát của lupus ban đỏ hệ thống bệnh được ngăn chặn rõ rệt ở chuột chuyển gen trong đó biểu hiện của FcγRIIb được tăng cường cụ thể là trong tế bào B (J. Exp. Med., Vol. 205, p. 883-895, 2008). Đã khẳng định được rằng, khi xét đến chuột bất hoạt bởi FcγRIIb, tế bào B tự hoạt hóa hoặc các tế bào huyết tương xuất hiện và tình trạng bệnh lupus ban đỏ hệ thống phát triển đồng thời (Immunity, Vol. 13, p. 277-285, 2000; J. Exp. Med., Vol. 207, p. 2767-2778, 2010). Hơn nữa, đã có báo cáo về việc giảm biểu hiện của FcγRIIb trong tế bào nhớ B của người bệnh lupus ban đỏ hệ thống (J. Exp. Med., Vol. 203, p. 2157-2164, 2006; J. Immunol., Vol. 178, p. 3272-3280, 2007) và sự liên quan giữa đa hình di truyền trong vùng xuyên màng tế bào của FcγRIIb và tần xuất khởi phát của lupus ban đỏ hệ thống (Arthritis Rheum., Vol. 46, p. 1242-1254, 2002).

Hơn nữa, việc ngăn chặn sản xuất kháng thể bằng cách kiểm soát hoạt tính của tế bào B thông qua FcγRIIb có tác dụng điều trị bệnh tự miễn dịch trong đó tự kháng thể có liên quan đến điều kiện gây bệnh.

Ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát là bệnh tự miễn dịch trong đó tự kháng thể chống lại tiểu cầu của người bệnh dẫn đến hủy hoại tiểu cầu (Autoimmun. Rev., Vol. 13, p. 577-583, 2014). Đã có báo cáo rằng, ở động vật mà dùng kháng thể kháng tiểu cầu cho nó, sẽ dẫn đến giảm lượng tiểu cầu (Br. J. Haematol., Vol. 167, p. 110-120, 2014) và việc giảm tự kháng thể có tác dụng điều trị ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát (Ther. Apher. Dial. Vol. 16, p. 311-320, 2012; Lupus, Vol. 22, p. 664-674, 2013).

Do đó, nếu kháng thể đơn dòng mà tạo liên kết ngang BCR và FcγRIIb và có thể phát triển việc tăng khả năng ngăn chặn miễn dịch của FcγRIIb, mong đợi rằng kháng thể đơn dòng này là hữu dụng để ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh tự miễn dịch như là viêm đa khớp dạng thấp, lupus ban đỏ hệ thống và ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát.

Đã có báo cáo rằng, DART mà là kháng thể hai đặc hiệu chống lại Ig β và Fc γ RIIb (Tài liệu sáng chế 1 và Tài liệu không phải là sáng chế 1) và S267E/L328F kháng CD19 mà có vùng biến đổi liên kết vào CD19 là một phần của phức BCR và vùng Fc mà ái lực của nó đối với Fc γ RIIb là tăng (Tài liệu sáng chế 2 và các Tài liệu không phải là sáng chế 2 và 3) dùng làm kháng thể tạo liên kết ngang BCR và Fc γ RIIb. Trong số các loại này, S267E/L328F kháng CD19 được xét nghiệm cụ thể và đã khẳng định được là, tác động ức chế của nó khi xét đến hoạt tính của tế bào B trong đó BCR được kích thích và tác động của nó hạ thấp nồng độ chuẩn độ kháng thể của máu người trong chuột mà các tế bào đơn nhân phân máu ngoại vi (peripheral blood mononuclear cells - PBMC) của người được cấy vào đó (Tài liệu sáng chế 2 và các Tài liệu không phải là sáng chế 2 và 3).

Các tài liệu tình trạng kỹ thuật

Tài liệu sáng chế

[Tài liệu sáng chế 1] WO 2012/018687

[Tài liệu sáng chế 2] WO 2008/150494

Tài liệu không phải là sáng chế

[Tài liệu không phải là sáng chế 1] Arthritis & Rheumatism (US) 2010; 62(7): 1933-1943

[Tài liệu không phải là sáng chế 2] Molecular Immunology (US) 2008; 45(15): 3926-3933

[Tài liệu không phải là sáng chế 3] The Journal of Immunology (US) 2011; 186(7): 4223-4233

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

Mục đích của sáng chế là đề xuất kháng thể kháng Ig β ở người mà tạo liên kết ngang BCR và Fc γ RIIb và có khả năng ngăn chặn miễn dịch được tăng cường hơn so với loại kháng thể trong tình trạng kỹ thuật hiện nay.

Giải pháp cho vấn đề

Là kết quả của quá trình nghiên cứu sâu rộng để tạo ra kháng thể kháng Ig β ở người bởi các tác giả sáng chế, nhiều kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có CDR1 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 31 đến 35 của SEQ ID NO: 2, CDR2 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 50 đến 65 của SEQ ID NO: 2 và CDR3 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 98 đến 108 của SEQ ID NO: 2 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm CDR1 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 24 đến 38 của SEQ ID NO: 4, CDR2 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 54 đến 60 của SEQ ID NO: 4 và CDR3 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 93 đến 101 của SEQ ID NO: 4, trong đó vùng ổn định chuỗi nặng của kháng thể là vùng ổn định Ig γ 1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W được tạo ra (các ví dụ từ 1 đến 3) và phát hiện ra rằng các kháng thể này liên kết vào Ig β ở người trên tế bào B ở người (các ví dụ 4 và 5) và ức chế hoạt động của tế bào B ở người được dẫn đến bởi kháng thể kháng IgM (Ví dụ 6). Kết quả là tạo ra kháng thể kháng Ig β ở người được mô tả trên đây, và do đó hoàn thiện sáng chế. Hơn nữa, phát hiện ra rằng kháng thể ngăn chặn chuẩn độ kháng thể ở huyết tương người trong mô hình chuột NOG chuyển gen người PBMC (Ví dụ 7) và ngăn chặn kháng thể đặc hiệu kháng nguyên không bị ảnh hưởng bởi chuẩn độ kháng thể tổng trong huyết tương trong mô hình nhậy kháng nguyên TT α ở khỉ (Ví dụ 8).

Cụ thể, sáng chế đề xuất các dấu hiệu sáng tạo sau, đó là vật liệu hoặc phương pháp mà ứng dụng được trong y học hoặc trong công nghiệp.

(1) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có CDR1 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 31 đến 35 của SEQ ID NO: 2, CDR2 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 50 đến 65 của SEQ ID NO: 2 và CDR3 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 98 đến 108 của SEQ ID NO: 2, vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm CDR1 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 24 đến 38 của SEQ ID NO: 4, CDR2 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 54 đến 60 của SEQ ID NO: 4 và CDR3 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 93 đến 101 của SEQ ID NO: 4, và vùng ổn định chuỗi nặng là vùng ổn định Ig γ 1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W.

(2) Kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (1), kháng thể này được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ 1) đến 4) sau đây:

1) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 119 của SEQ ID NO: 6, vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 112 của SEQ ID NO: 8, và vùng ổn định chuỗi nặng là vùng ổn định Igy1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W;

2) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 119 của SEQ ID NO: 2, vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 112 của SEQ ID NO: 4, và vùng ổn định chuỗi nặng là vùng ổn định Igy1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W;

3) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 119 của SEQ ID NO: 10, vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 112 của SEQ ID NO: 12, và vùng ổn định chuỗi nặng là vùng ổn định Igy1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W; và

4) kháng thể kháng Ig β ở người mà có nguồn gốc từ biến đổi sau dịch mã của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần bất kỳ trong số các phần từ (1) đến (3) trên đây.

(3) Kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (2), kháng thể này được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ 1) đến 4) sau đây:

1) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8;

2) kháng thể kháng Ig β bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4;

3) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12; và

4) kháng thể kháng Ig β ở người mà có nguồn gốc từ biến đổi sau dịch mã của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần bất kỳ trong số các phần từ (1) đến (3) trên đây.

(4) Kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (3), kháng thể này được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ 1) đến 6) sau đây:

1) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8;

2) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 6 trong đó glutamin của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO:8;

3) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4;

4) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO:2 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO:4;

5) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12; và

6) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO:10 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO:12.

(5) Kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (4), kháng thể này là kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8.

(6) Kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (4), kháng thể này là kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 6 trong đó glutamin của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8.

(7) Polynucleotit được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ 1) đến 2) sau đây:

1) polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần 1) đến 3) của mục (2); và

2) polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần 1) đến 3) của mục (2).

(8) Polynucleotit được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ 1) đến 2) sau đây:

1) polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (5); và

2) polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (5).

(9) Vector biểu hiện bao gồm phần 1) và/hoặc 2) sau đây:

1) polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần 1) đến 3) của mục (2); và/hoặc

2) polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần 1) đến 3) của mục (2).

(10) Vector biểu hiện bao gồm phần 1) và/hoặc phần 2) sau đây:

1) polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (5); và/hoặc

2) polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (5).

(11). Tế bào vật chủ được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ a) đến d) sau đây:

a) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần từ 1) đến 3) của mục (2) và polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể;

b) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần từ 1) đến 3) của mục (2) và vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể;

c) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần từ 1) đến 3) của mục (2); và

d) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần từ 1) đến 3) của mục (2).

(12) Tế bào vật chủ được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ a) đến d) sau đây:

a) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (5) và polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể;

b) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (5) và vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể;

c) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (5); và

d) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (5).

(13) Phương pháp sản xuất kháng thể kháng Ig β ở người, phương pháp này bao gồm việc nuôi cấy (các) tế bào vật chủ được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ a) đến c) sau để biểu hiện kháng thể kháng Ig β ở người:

a) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần từ 1) đến 3) của mục (2) và polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể;

b) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần từ 1) đến 3) của mục (2) và vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể; và

c) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần từ 1) đến 3) của mục 2 và tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể.

(14) Phương pháp sản xuất kháng thể kháng Ig β ở người, phương pháp này bao gồm việc nuôi cấy (các) tế bào vật chủ được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ a) đến c) sau để biểu hiện kháng thể kháng Ig β ở người:

a) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (5) và polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể;

b) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (5) và vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể; và

c) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (5) và tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể.

(15) Dược phẩm bao gồm kháng thể kháng Ig β ở người được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ a) đến c) sau, và tá dược được dụng:

a) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8, và/hoặc kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 6 trong đó glutamin của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8;

b) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4, và/hoặc kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 2 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4; và

c) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12, và/hoặc kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12.

(16) Dược phẩm bao gồm:

1) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện với SEQ ID NO: 6 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8; và/hoặc

2) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 6 trong đó glutamin của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8, và

tá dược được dụng.

(17) Dược phẩm theo mục (16), là dược phẩm để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh tự miễn dịch.

(18) Dược phẩm theo mục (17), trong đó bệnh tự miễn dịch là lupus ban đỏ hệ thống, viêm đa khớp dạng thấp, hoặc ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát.

(19) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8 để sử dụng nhằm ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh tự miễn dịch.

(20) Kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (19), trong đó bệnh tự miễn dịch là lupus ban đỏ hệ thống, viêm đa khớp dạng thấp, hoặc ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát.

(21) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 6 trong đó glutamin của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8 để sử dụng nhằm ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh tự miễn dịch.

(22) Kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (21), trong đó bệnh tự miễn dịch là lupus ban đỏ hệ thống, viêm đa khớp dạng thấp, hoặc ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát.

(23) Kháng thể kháng Ig β ở người theo mục (2), kháng thể này là ở dạng được dung hợp của kháng thể và peptit hoặc protein khác, hoặc dạng được biến đổi mà tác nhân biến đổi liên kết vào đó.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Ig β kháng ở người theo sáng chế có tác dụng ngăn chặn miễn dịch rất tốt bằng cách ức chế hoạt hóa tế bào B và có thể được sử dụng làm tác nhân ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh tự miễn dịch như là lupus ban đỏ hệ thống, viêm đa khớp dạng thấp và ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện hiệu quả ức chế của kháng thể kháng Ig β được nhân hóa chống lại tăng sinh tế bào được dẫn đến bởi kháng thể kháng IgM ở các tế bào B ở người. Trục tung chỉ ra tỷ lệ tăng sinh của tế bào B và trục hoành chỉ ra nồng độ kháng thể được bổ sung ($\mu\text{g/mL}$).

Fig.2 thể hiện tác động ức chế của kháng thể kháng Ig β được nhân hóa chống lại việc tăng về chuẩn độ kháng thể IgM ở người trong huyết tương được dẫn đến nhờ việc chuyển PBMC ở người vào chuột NOG. Trục tung chỉ ra chuẩn độ kháng thể IgM ở người trong huyết tương ($\mu\text{g/mL}$) và trục hoành chỉ ra thời gian (ngày) từ việc chuyển PBMC ở người vào chuột NOG.

Fig.3 thể hiện tác động ức chế của kháng thể kháng Ig β được nhân hóa chống lại việc tăng về chuẩn độ kháng thể IgE ở người trong huyết tương được dẫn đến nhờ việc chuyển PBMC ở người vào chuột NOG. Trục tung chỉ ra chuẩn độ kháng thể IgE ở người trong huyết tương (ng/mL) và trục hoành chỉ ra thời gian (ngày) từ việc chuyển PBMC ở người vào chuột NOG.

Fig.4 thể hiện tác động ức chế của kháng thể kháng Ig β được nhân hóa chống lại việc tăng về kháng biến độc tố uốn ván được hấp thụ trong huyết tương được dẫn đến bởi việc tạo miễn dịch biến độc tố uốn ván được hấp thụ cho khỉ. Trục tung chỉ ra chuẩn độ kháng thể kháng biến độc tố uốn ván được hấp thụ trong huyết tương (U/mL) và trục hoành chỉ ra thời gian (ngày) từ việc tạo miễn dịch biến độc tố uốn ván được hấp thụ cho khỉ.

Fig.5 thể hiện tác động của kháng thể kháng Ig β được nhân hóa chống lại chuẩn độ kháng thể IgM tổng trong huyết tương của khỉ được tạo miễn dịch bởi biến độc tố uốn ván được hấp thụ. Trục tung chỉ ra chuẩn độ kháng thể IgM tổng trong huyết tương (U/mL) và trục hoành chỉ ra thời gian (ngày) từ việc tạo miễn dịch biến độc tố uốn ván được hấp thụ cho khỉ.

Fig.6 thể hiện tác động của kháng thể kháng Ig β được nhân hóa chống lại chuẩn độ kháng thể IgA tổng trong huyết tương của khỉ được tạo miễn dịch bởi biến độc tố uốn ván được hấp thụ. Trục tung chỉ ra chuẩn độ kháng thể IgA tổng trong huyết tương (U/mL) và trục hoành chỉ ra thời gian (ngày) từ việc tạo miễn dịch biến độc tố uốn ván được hấp thụ cho khỉ.

Fig.7 thể hiện tác động của kháng thể kháng Ig β được nhân hóa chống lại chuẩn độ kháng thể IgG tổng trong huyết tương của khỉ được tạo miễn dịch bởi biến độc tố uốn ván được hấp thụ. Trục tung chỉ ra chuẩn độ kháng thể IgG tổng trong

huyết tương (U/mL) và trực hoành chỉ ra thời gian (ngày) từ việc tạo miễn dịch biến độc tố uôn ván được hấp thụ cho khi.

Mô tả chi tiết các phương án thực hiện sáng chế

Tiếp theo là phần mô tả chi tiết sáng chế.

Có 5 loại IgG, IgM, IgA, IgD và IgE trong kháng thể. Cấu trúc cơ bản của phân tử kháng thể được tạo cấu hình gồm chuỗi nặng có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 50000 đến 70000 và chuỗi nhẹ có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 20000 đến 30000 ở từng loại trong số các loại chung. Chuỗi nặng thường chứa chuỗi polypeptit bao gồm khoảng 440 axit amin, có cấu trúc khác biệt đối với từng loại trong số các loại và đó là $Ig\gamma$, $Ig\mu$, $Ig\alpha$, $Ig\delta$ và $Ig\epsilon$ tương ứng với IgG, IgM, IgA, IgD và IgE, tương ứng. Hơn nữa, bốn phân loại là IgG1, IgG2, IgG3 và IgG4 có mặt trong IgG và chuỗi nặng tương ứng tương ứng với nó được gọi là $Ig\gamma_1$, $Ig\gamma_2$, $Ig\gamma_3$ và $Ig\gamma_4$. Chuỗi nhẹ thường chứa chuỗi polypeptit bao gồm 220 axit amin, hai dạng trong số đó là dạng L và dạng K đã được biết đến và được gọi là $Ig\lambda$ và $Ig\kappa$. Trong cấu hình peptit có cấu trúc cơ bản của phân tử kháng thể, hai chuỗi nặng đồng dạng và hai chuỗi nhẹ đồng dạng được liên kết bởi liên kết disulfit (liên kết S-S) và liên kết không hóa trị và trọng lượng phân tử của nó nằm trong khoảng từ 150000 đến 190000. Hai dạng chuỗi nhẹ có thể được tạo cặp với chuỗi nặng bất kỳ. Phân tử kháng thể tương ứng thường chứa hai chuỗi nhẹ đồng dạng và hai chuỗi nặng đồng dạng.

Đối với liên kết S-S trong chuỗi, bốn liên kết S-S có mặt trong chuỗi nặng (nằm trong các chuỗi μ và ϵ) và hai trong số chúng có mặt trong chuỗi nhẹ; một vòng được hình thành cho mỗi 100 đến 110 gốc axit amin và cấu trúc không gian (lập thể) này là tương tự trong số các vòng và được gọi là đơn vị kết cấu hoặc vùng. Vùng nằm ở phía đầu tận cùng amino (phía đầu tận cùng N) trong cả hai trong số chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, trình tự axit amin của nó không phải là không đổi thậm trí trong trường hợp của mẫu từ cùng loại (phân loại) của cùng dạng của động vật được gọi là vùng biến đổi và vùng tương ứng được gọi là vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ. Trình tự axit amin của phía đầu tận cùng carboxy (phía đầu

tận cùng C) từ vùng biến đổi gần như là không đổi trong từng loại hoặc phân loại và được gọi là vùng ổn định.

Vị trí liên kết kháng nguyên của kháng thể được tạo cấu hình của vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ và đặc hiệu liên kết phụ thuộc vào trình tự axit amin của vị trí này. Mặt khác, hoạt tính sinh học như là liên kết vào các phần hỗ trợ và các tế bào khác nhau phản ánh sự sai khác về cấu trúc vùng ổn định trong số từng loại Ig. Được hiểu rằng, tính biến thiên của các vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng hầu như là bị giới hạn vào ba vùng siêu biến đổi nhỏ có mặt trong cả hai các chuỗi và các vùng này được gọi là các vùng xác định hỗ trợ (CDR: CDR1, CDR2 và CDR3 từ phía đầu tận cùng N). Phần duy trì của vùng biến đổi được gọi là vùng khung sườn (FR) và là không đổi một cách tương đối.

<Kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế>

Kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế bao gồm kháng thể kháng Ig β ở người có các đặc tính sau.

Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có CDR1 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 31 đến 35 của SEQ ID NO: 2, CDR2 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 50 đến 65 của SEQ ID NO: 2 và CDR3 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 98 đến 108 của SEQ ID NO: 2, vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm CDR1 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 24 đến 38 của SEQ ID NO: 4, CDR2 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 54 đến 60 của SEQ ID NO: 4 và CDR3 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 93 đến 101 của SEQ ID NO: 4, và vùng ổn định chuỗi nặng là vùng ổn định Igy1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W.

Trong một phương án, kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế là kháng thể được nhân hóa. “Kháng thể được nhân hóa” trong bản mô tả này là để chỉ kháng thể ở dạng bao gồm CDRs có nguồn gốc từ kháng thể chuột và các phần kháng thể khác có nguồn gốc từ kháng thể người. Phương pháp để tạo ra kháng thể được nhân hóa là đã được biết đến trong ngành và có thể được tạo ra với việc tham khảo đến các Patent Mỹ số 5225539, 6180370 và tương tự.

Trong một phương án, kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế là kháng thể kháng Ig β ở người được mô tả trong phần bất kỳ trong số các phần từ 1) đến 3) sau đây:

1) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 119 của SEQ ID NO: 2, vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 112 của SEQ ID NO: 4, và vùng ổn định chuỗi nặng là vùng ổn định Igy1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W;

2) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 119 của SEQ ID NO: 6, vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 112 của SEQ ID NO: 8, và vùng ổn định chuỗi nặng là vùng ổn định Igy1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W; và

3) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 119 của SEQ ID NO: 10, vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 112 của SEQ ID NO: 12, và vùng ổn định chuỗi nặng là vùng ổn định Igy1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W.

Số lượng gốc khi xem xét việc đưa vào đột biến axit amin trong kháng thể vùng ổn định được sử dụng trong bản mô tả này tuân thủ chỉ số EU (Kabat et al. 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., United States Public Health Service, National Institute of Health, Bethesda). S239D là sự thay thế của serin ở vị trí thứ 239 của axit amin theo chỉ số EU của Kabat và cộng sự trong vùng ổn định Igy1 ở người bằng axit aspartic. H268D là sự thay thế của histidin ở vị trí thứ 268 của axit amin theo chỉ số EU của Kabat và cộng sự trong vùng ổn định Igy1 ở người bằng axit aspartic. L328W là sự thay thế của leuxin ở vị trí thứ 328 của axit amin theo chỉ số EU của Kabat và cộng sự trong vùng ổn định Igy1 ở người bằng triptophan. Các ví dụ về vùng ổn định Igy1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W bao gồm vùng ổn định Igy1 ở người chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 120 đến 449 của SEQ ID NO: 2.

Một vùng bất kỳ bất kỳ trong số các vùng ổn định là Ig λ và Ig κ có thể được chọn, nhưng vùng ổn định Ig κ ở người được ưu tiên làm vùng ổn định chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế. Các ví dụ về vùng ổn định Ig κ ở người bao gồm vùng ổn định Ig κ ở người chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 113 đến 218 của SEQ ID NO: 4.

Trong một phương án, kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế là kháng thể kháng Ig β ở người được chọn từ phần bất kỳ trong số các phần từ i) đến iii) sau đây:

i) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4;

ii) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8; và

iii) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12.

Đã được biết là khi kháng thể được biểu hiện trong các tế bào, kháng thể được biến đổi sau khi dịch mã. Các ví dụ về biến đổi sau dịch mã bao gồm sự chia cắt của lysin ở đầu tận cùng C của chuỗi nặng bởi carboxypeptidaza; sự biến đổi của glutamin hoặc axit glutamic ở đầu tận cùng N của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ thành axit pyroglutamic bằng cách pyroglutamyl hóa; glycosyl hóa; oxy hóa; khử amin; và glyxyl hóa và đã được biết là, biến đổi sau dịch mã này xuất hiện trong các kháng thể khác nhau (Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 97, p. 2426-2447, 2008).

Kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế bao gồm kháng thể kháng Ig β ở người mà đã trải qua biến đổi sau dịch mã. Các ví dụ về kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế mà trải qua biến đổi sau dịch mã bao gồm kháng thể kháng Ig β ở người mà đã trải qua pyroglutamyl hóa ở đầu tận cùng N của vùng biến đổi chuỗi nặng và/hoặc việc loại bỏ lysin ở đầu tận cùng C của chuỗi nặng. Đã được biết đến trong ngành này là, biến đổi sau dịch mã này nhờ vào pyroglutamyl hóa ở đầu tận

cùng N và xóa bỏ lysin ở đầu tận cùng C không có ảnh hưởng bất kỳ nào đến hoạt tính của kháng thể (Analytical Biochemistry, Vol. 348, p. 24-39, 2006).

Ví dụ, kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế bao gồm kháng thể kháng Ig β ở người được mô tả trong phần bất kỳ trong số các phần từ 1) đến 3) sau đây:

1) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2 trong đó axit glutamic của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và/hoặc lysin của axit amin số 449 được xóa bỏ và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4;

2) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 6 trong đó axit glutamic của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và/hoặc lysin của axit amin số 449 được xóa bỏ và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8; và

3) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 10 trong đó axit glutamic của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và/hoặc lysin của axit amin số 449 được xóa bỏ và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12.

Trong một phương án, kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế là kháng thể kháng Ig β ở người được chọn từ phần bất kỳ trong số các phần từ i) đến iii) sau đây:

i) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 2 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4;

ii) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 6 trong đó glutamin của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8; và

iii) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12.

Bất cứ người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này cũng có thể tạo ra được dạng được dung hợp của kháng thể và peptit hoặc protein khác và còn có thể tạo ra dạng được biến đổi mà tác nhân biến đổi liên kết vào dựa trên cơ sở sáng chế và kháng thể theo sáng chế bao gồm kháng thể ở các dạng này. Các peptit hoặc các protein khác được sử dụng để dung hợp không bị giới hạn cụ thể, chỉ cần là hoạt tính liên kết của kháng thể không giảm và các ví dụ về nó bao gồm albumin huyết thanh người, các peptit có đuôi khác nhau, peptit dạng xoắn nhân tạo, protein liên kết maltoza, glutathion S transferaza, các toxin khác nhau, các peptit hoặc các protein khác có khả năng xúc tiến phân nhiều khúc và tương tự. Tác nhân biến đổi được sử dụng để biến đổi không bị giới hạn cụ thể, chỉ cần là hoạt tính liên kết của kháng thể không giảm và các ví dụ về nó bao gồm polyetylen glycol, các chuỗi đường, phospholipit, liposom (thể mỡ), hợp chất phân tử thấp và tương tự.

“Kháng thể kháng Ig β ở người” trong bản mô tả này là để chỉ kháng thể liên kết vào Ig β ở người. Việc cân nhắc xem “kháng thể kháng Ig β ở người” có liên kết vào Ig β ở người hay không được khẳng định bằng cách sử dụng phương pháp đo hoạt tính liên kết đã được biết đến. Các ví dụ về phương pháp đo hoạt tính liên kết bao gồm phương pháp thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzym (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay - ELISA) và tương tự. Trong trường hợp sử dụng ELISA, ví dụ, protein Ig β -Flag ở người (ví dụ, được mã hóa bởi trình tự bazơ của SEQ ID NO: 13) được hóa rắn trên Đĩa ELISA và kháng thể thử nghiệm được bổ sung vào đó để tạo phản ứng. Sau khi phản ứng, kháng thể thứ hai như là kháng thể kháng IgG, được đánh dấu với enzym như là peroxidaza của cải ốc ven biển (HRP) hoặc tương tự, được phản ứng và rửa và sau đó có thể khẳng định xem kháng thể thử nghiệm có liên kết vào Ig β ở người hay không bằng cách nhận diện liên kết của kháng thể thứ hai thông qua việc đo hoạt tính sử dụng chất phản ứng phát hiện hoạt tính (ví dụ, trong trường hợp đánh dấu HRP, ELISA phát quang hóa bằng chất nền BM (POD) (Roche Diagnostics Inc.)). Làm một phương pháp đo cụ thể, phương pháp được mô tả trong ví dụ 4 dưới đây có thể được sử dụng.

Kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế bao gồm, ngoài liên kết vào Ig β ở người, kháng thể liên kết vào Ig β có nguồn gốc từ động vật khác (ví dụ, Ig β ở khỉ), chỉ cần là kháng thể này liên kết vào Ig β ở người.

Làm phương pháp đánh giá hoạt tính của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế, hoạt tính liên kết trên tế bào B ở người hoặc hoạt tính của tác động ức chế của tế bào B ở người được dẫn đến bằng cách kích thích BCR có thể được đánh giá. Làm phương pháp đánh giá hoạt tính này, phương pháp được mô tả trong các ví dụ 5 và 6 dưới đây có thể được sử dụng. Tốt hơn là, kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế có hoạt tính liên kết vào Ig β ở người và tác động ức chế của tế bào B ở người được dẫn đến bằng cách kích thích BCR.

Kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế có thể dễ dàng được tạo ra bởi chuyên gia trong ngành nhờ sử dụng phương pháp đã được biết đến trong ngành, dựa trên thông tin về trình tự ở chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể theo sáng chế, mà được bộc lộ trong bản mô tả này. Kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể, nhưng có thể được tạo ra theo phương pháp được mô tả trong phần <Phương pháp sản xuất kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế và kháng thể kháng Ig β ở người được tạo ra bằng phương pháp> được mô tả dưới đây.

Kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế được tinh chế hơn nữa như cần thiết, được bào chế theo phương pháp thông thường và có thể được sử dụng để ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh tự miễn dịch như là lupus ban đỏ hệ thống, viêm đa khớp dạng thấp, ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát, bệnh nhược cơ năng, bệnh Grave, viêm tủy sống thần kinh thị giác, thiếu máu do tan máu tự miễn dịch, pemphigut, hội chứng kháng thể kháng phospholipit, viêm mạch kết hợp với ANCA, hội chứng Sjogren, bệnh Hashimoto, bệnh đa thần kinh hủy myelin viêm mạn tính, hoặc hội chứng mệt mỏi mạn tính.

<Polynucleotit theo sáng chế>

Polynucleotit theo sáng chế bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế và polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế.

Trong một phương án, polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế là polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2, polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được

thể hiện bởi SEQ ID NO: 6, hoặc polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 10.

Các ví dụ về polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2 bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 1 hoặc 15. Các ví dụ về polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6 bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 5. Các ví dụ về polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 10 bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 9.

Trong một phương án, polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế là polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4, polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8, hoặc polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12.

Các ví dụ về polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4 bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 3. Các ví dụ về polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8 bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 7. Các ví dụ về polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12 bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 11.

Polynucleotit theo sáng chế có thể dễ dàng được tạo ra bởi chuyên gia trong ngành nhờ sử dụng phương pháp đã được biết đến trong ngành dựa trên trình tự bazơ. Ví dụ, polynucleotit theo sáng chế có thể được tổng hợp sử dụng phương pháp tổng hợp gen đã được biết đến trong ngành. Làm phương pháp tổng hợp gen, có thể sử dụng các phương pháp khác nhau như là phương pháp tổng hợp gen kháng thể được mô tả trong WO90/07861 đã được biết đến bởi chuyên gia trong ngành.

<Vector biểu hiện theo sáng chế>

Vector biểu hiện theo sáng chế bao gồm vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế, vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế và vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế và polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể.

Vector biểu hiện được sử dụng để biểu hiện polynucleotit theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể, chỉ cần là polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế và/hoặc polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế có thể được biểu hiện trong tế bào vật chủ khác nhau gồm các tế bào có nhân điển hình (ví dụ, các tế bào động vật, các tế bào côn trùng, các tế bào thực vật và nấm men) và/hoặc các tế bào chưa có nhân điển hình (ví dụ, *Escherichia coli*) và polypeptit được mã hóa bởi các tế bào này có thể được tạo ra. Các ví dụ về vector biểu hiện bao gồm vector plasmit, vector virus (ví dụ, virus adeno hoặc virus retro) và tương tự. Tốt hơn là, pEE6.4 hoặc pEE12.4 (Lonza Biologics, Inc.) có thể được sử dụng.

Vector biểu hiện theo sáng chế có thể bao gồm gen khởi đầu mà được liên kết nhờ thao tác vào polynucleotit theo sáng chế. Các ví dụ về gen khởi đầu để biểu hiện polynucleotit theo sáng chế với các tế bào động vật bao gồm gen khởi đầu có nguồn gốc từ virus như là CMV, RSV, hoặc SV40, gen khởi đầu actin, gen khởi đầu 1 $\square$ của EF (yếu tố kéo dài) và gen khởi đầu sốc nhiệt. Các ví dụ về gen khởi đầu để biểu hiện polynucleotit theo sáng chế bởi vi khuẩn (ví dụ, *Escherichia*) bao gồm gen khởi đầu trp, gen khởi đầu lac, gen khởi đầu λ PL và gen khởi đầu tac. Hơn nữa, các ví dụ về gen khởi đầu để biểu hiện polynucleotit theo sáng chế bởi nấm men bao gồm gen khởi đầu GAL1, gen khởi đầu GAL10, gen khởi đầu PH05, gen khởi đầu PGK, gen khởi đầu GAP và gen khởi đầu ADH.

Trong trường hợp sử dụng tế bào động vật, tế bào côn trùng, hoặc nấm men làm tế bào vật chủ, vector biểu hiện theo sáng chế có thể bao gồm codon khởi đầu và

codon kết thúc. Trong trường hợp này, vector biểu hiện theo sáng chế có thể bao gồm trình tự tăng cường, vùng không dịch mã trên vị trí 5' và vị trí 3' của các gen mã hóa kháng thể theo sáng chế hoặc chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ, trình tự tín hiệu tiết, nối ghép, vị trí polyadenyl hóa, hoặc đơn vị sao chép. Khi *Escherichia coli* được sử dụng làm tế bào vật chủ, vector biểu hiện theo sáng chế có thể bao gồm codon khởi đầu, codon kết thúc, kết thúcator vùng và đơn vị sao chép. Trong trường hợp này, vector biểu hiện theo sáng chế có thể bao gồm gen đánh dấu lựa chọn (ví dụ, các gen kháng tetracyclin, các gen kháng ampicilin, các gen kháng kanamycin, các gen kháng neomycin, hoặc các gen dihydrofolat reductaza) mà thường được sử dụng như cần thiết.

<Tế bào vật chủ được biến nạp theo sáng chế>

Tế bào vật chủ được biến nạp theo sáng chế bao gồm tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện theo sáng chế, mà được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ (a) đến (d) sau đây:

(a) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế và polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể;

(b) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế và vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể;

(c) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế; và

(d) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế.

Các ví dụ về tế bào vật chủ biến nạp được ưu tiên theo sáng chế bao gồm tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế và

polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể và tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế và vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể.

Tế bào vật chủ được biến nạp không bị giới hạn cụ thể, chỉ cần là tế bào vật chủ thích hợp để vector biểu hiện được sử dụng, được biến nạp bằng vector biểu hiện và có thể biểu hiện kháng thể. Các ví dụ về tế bào vật chủ được biến nạp bao gồm các tế bào khác nhau như là các tế bào tự nhiên hoặc các tế bào được thiết lập nhân tạo mà thường được sử dụng trong ngành theo sáng chế (ví dụ, các tế bào động vật (ví dụ, các tế bào CHO-K1SV), các tế bào côn trùng (ví dụ, Sf9), vi khuẩn (ví dụ, Escherichia), nấm men (ví dụ, Saccharomyces hoặc Pichia) hoặc tương tự). Tốt hơn là, các tế bào được nuôi cấy như là các tế bào CHO-K1SV, các tế bào CHO-DG 44, các tế bào 293, hoặc tế bào NS0 có thể được sử dụng.

Phương pháp biến nạp tế bào vật chủ không bị giới hạn cụ thể, nhưng, ví dụ, phương pháp canxi phosphat hoặc phương pháp xung điện có thể được sử dụng.

<Phương pháp sản xuất kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế và kháng thể kháng Ig β ở người được tạo ra bằng phương pháp>

Phương pháp sản xuất kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế bao gồm phương pháp sản xuất kháng thể kháng Ig β ở người bằng cách nuôi cấy (các) tế bào vật chủ được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ (a) đến (c) sau để biểu hiện kháng thể kháng Ig β ở người:

(a) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế và polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể;

(b) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế và vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể; và

(c) tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng

chế và tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể.

Phương pháp sản xuất kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể, chỉ cần là phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào vật chủ được biến nạp theo sáng chế để biểu hiện kháng thể kháng Ig β ở người. Các ví dụ về tế bào vật chủ được ưu tiên được sử dụng trong phương pháp bao gồm tế bào vật chủ biến nạp được ưu tiên theo sáng chế như được mô tả trên đây.

Tế bào vật chủ được biến nạp có thể được nuôi cấy bằng phương pháp đã được biết đến. Điều kiện nuôi cấy, ví dụ, nhiệt độ, pH môi trường nuôi cấy và thời gian nuôi cấy được chọn thích hợp. Trong trường hợp mà tế bào vật chủ là tế bào động vật, các ví dụ về môi trường nuôi cấy bao gồm môi trường nuôi cấy MEM được bổ trợ huyết thanh bào thai bò với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 20% (Science, Vol. 130, p. 432-437, 1959), môi trường nuôi cấy DMEM (Virology, Vol. 8, p. 396, 1959), môi trường nuôi cấy RPMI1640 (J. Am. Med. Assoc., Vol. 199, p. 519, 1967) và môi trường nuôi cấy 199 (Exp. Biol. Med., Vol. 73, p. 1-8, 1950). Giá trị độ pH của môi trường nuôi cấy tốt hơn là nằm trong khoảng từ 6 đến 8 và việc nuôi cấy thường được tiến hành ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30 đến 40°C trong khoảng thời gian từ 15 đến 72 giờ trong khi quạt thông gió và khuấy nếu cần. Trong trường hợp mà tế bào vật chủ là tế bào côn trùng làm môi trường nuôi cấy, ví dụ, môi trường nuôi cấy Grace (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 82, p. 8404, 1985) được bổ trợ huyết thanh bào thai bò có thể được sử dụng. Giá trị độ pH của môi trường nuôi cấy tốt hơn là nằm trong khoảng từ 5 đến 8 và việc nuôi cấy thường được tiến hành ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 40°C trong khoảng thời gian từ 15 đến 100 giờ trong khi quạt thông gió và khuấy nếu cần. Trong trường hợp mà tế bào vật chủ là *Escherichia coli* hoặc nấm men làm môi trường nuôi cấy, ví dụ, môi trường nuôi cấy lỏng được bổ trợ nguồn dinh dưỡng thích hợp. Được ưu tiên là, môi trường nuôi cấy dinh dưỡng bao gồm nguồn cacbon, nguồn nitơ vô cơ, hoặc nguồn nitơ hữu cơ cần thiết để sinh trưởng tế bào vật chủ được biến nạp. Các ví dụ về nguồn cacbon bao gồm glucoza, dextran, tinh bột hòa tan được và sucroza và các ví dụ về nguồn nitơ vô cơ hoặc nguồn nitơ hữu cơ bao gồm muối amoni, muối nitrat, axit amin, rượu ngô, pepton, casein, dịch chiết thịt, bột đậu tương và dịch chiết khoai

tây. Các chất dinh dưỡng khác (ví dụ, muối vô cơ (ví dụ, canxi clorua, natri dihydro phosphat và magie clorua), vitamin) và kháng sinh (ví dụ, tetracyclin, neomycin, ampicilin và kanamycin) có thể có mặt như mong muốn. Giá trị độ pH của môi trường nuôi cấy tốt hơn là nằm trong khoảng từ 5 đến 8. Trong trường hợp mà tế bào vật chủ là *Escherichia coli*, các ví dụ được ưu tiên về môi trường nuôi cấy bao gồm LB môi trường nuôi cấy và M9 môi trường nuôi cấy (Mol. Clo., Cold Spring Harbor Laboratory, Vol. 3, A2.2). Việc nuôi cấy thường được tiến hành ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 14 đến 43°C trong khoảng từ 3 đến 24 giờ trong khi quạt thông gió và khuấy nếu cần. Trong trường hợp mà tế bào vật chủ là nấm men làm môi trường nuôi cấy, ví dụ, môi trường tối thiểu Burkholder (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 77, p. 4505, 1980) có thể được sử dụng. Việc nuôi cấy thường được tiến hành ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 35°C trong khoảng từ 14 đến 144 giờ trong khi quạt thông gió và khuấy nếu cần. Bằng cách tiến hành việc nuôi cấy theo cách được mô tả trên đây, có thể biểu hiện kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế.

Phương pháp sản xuất kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế có thể bao gồm việc thu gom, tốt hơn là tách hoặc tinh chế kháng thể kháng Ig β ở người từ tế bào vật chủ được biến nạp ngoài việc nuôi cấy tế bào vật chủ được biến nạp theo sáng chế để biểu hiện kháng thể kháng Ig β ở người. Các ví dụ về phương pháp tách hoặc tinh chế bao gồm phương pháp sử dụng tính hòa tan như là phương pháp khử bỏ bằng muối và kết tủa bằng dung môi, phương pháp sử dụng sự chênh lệch về trọng lượng phân tử như là thẩm tách, siêu lọc và lọc gel, phương pháp sử dụng điện tích như là sắc ký trao đổi ion và sắc ký hydroxylapatit, phương pháp sử dụng ái lực riêng như là ái lực sắc ký, phương pháp sử dụng sự chênh lệch về tính kỵ nước như là sắc ký lỏng hiệu năng cao pha đảo và phương pháp sử dụng sự chênh lệch về điểm đẳng điện như là điện di tiêu điểm đẳng điện tích. Tốt hơn là, kháng thể được tích tụ trong dịch nổi bề mặt của môi trường nuôi cấy có thể được tinh chế bởi các phép sắc ký khác nhau, ví dụ, sắc ký cột sử dụng cột Protein hoặc cột Protein G.

Kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế còn bao gồm kháng thể kháng Ig β ở người được tạo ra bằng phương pháp sản xuất kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế.

<Được phẩm theo sáng chế>

Dược phẩm theo sáng chế bao gồm dược phẩm bao gồm kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế và tá dược được dụng. Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế bằng phương pháp thường được sử dụng với tá dược, đó là, tá dược dùng làm thuốc hoặc chất mang dùng làm thuốc thường được sử dụng trong ngành. Các ví dụ về dạng phân liều của dược phẩm bao gồm thuốc dùng ngoài đường tiêu hóa như là thuốc để tiêm và thuốc pha để nhỏ giọt và các loại này có thể được dùng bằng cách dùng trong tĩnh mạch, dùng lên da, hoặc tương tự. Trong thuốc để tạo, tá dược, chất mang và các phân bổ trợ theo dạng phân liều có thể được sử dụng trong phạm vi khoảng giá trị được dụng.

Dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm nhiều dạng of kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế. Ví dụ, sáng chế đề xuất dược phẩm bao gồm kháng thể mà không trải qua biến đổi sau dịch mã và kháng thể có nguồn gốc từ biến đổi sau dịch mã của kháng thể.

Trong một phương án, dược phẩm theo sáng chế bao gồm kháng thể kháng Ig β ở người được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ (1) đến (3) sau và kháng thể kháng Ig β ở người có nguồn gốc từ biến đổi sau dịch mã của kháng thể kháng Ig β ở người:

(1) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 119 của SEQ ID NO: 6, vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 112 của SEQ ID NO: 8, và vùng ổn định chuỗi nặng là vùng ổn định Igy1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W;

(2) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 119 của SEQ ID NO: 2, vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 112 của SEQ ID NO: 4, và vùng ổn định chuỗi nặng là vùng ổn định Igy1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W; và

(3) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 119 của SEQ ID NO: 10, vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 112 của SEQ ID NO: 12,

và vùng ổn định chuỗi nặng là vùng ổn định Igy1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W.

Dược phẩm theo sáng chế bao gồm dược phẩm bao gồm kháng thể trong đó lysin ở đầu tận cùng C của chuỗi nặng được xóa bỏ, kháng thể mà đã trải qua biến đổi sau dịch mã cho đầu tận cùng N, kháng thể trong đó lysin ở đầu tận cùng C của chuỗi nặng được xóa bỏ và mà đã trải qua biến đổi sau dịch mã cho đầu tận cùng N, và/hoặc kháng thể mà có lysin ở đầu tận cùng C của chuỗi nặng và không trải qua biến đổi sau dịch mã cho đầu tận cùng N.

Trong một phương án, dược phẩm theo sáng chế bao gồm kháng thể kháng Ig β ở người gồm có dược phẩm bao gồm hai hoặc nhiều kháng thể kháng Ig β ở người được chọn từ các phần từ (1) đến (4) sau đây:

(1) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 2 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4;

(2) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2 trong đó axit glutamic của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4;

(3) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 2 trong đó axit glutamic của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4; và

(4) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO:2 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4.

Trong một phương án, dược phẩm theo sáng chế bao gồm kháng thể kháng Ig β ở người gồm có dược phẩm bao gồm hai hoặc nhiều kháng thể kháng Ig β ở người được chọn từ các phần từ (1) đến (4) sau đây:

(1) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 6 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8;

(2) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 6 trong đó glutamin của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8;

(3) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 6 trong đó glutamin của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8; và

(4) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8.

Trong một phương án, được phẩm theo sáng chế bao gồm kháng thể kháng Ig β ở người gồm có được phẩm bao gồm hai hoặc nhiều kháng thể kháng Ig β ở người được chọn từ các phần từ (1) đến (4) sau đây:

(1) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12;

(2) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 10 trong đó axit glutamic của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12;

(3) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 10 trong đó axit glutamic của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12; và

(4) Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12.

Hơn nữa, trong một phương án, dược phẩm theo sáng chế là dược phẩm được mô tả dưới đây:

dược phẩm bao gồm kháng thể kháng Ig β ở người gồm có chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8, kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 6 trong đó glutamin của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8 và tá dược được dụng.

Lượng bổ sung của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế trong chế phẩm biến thiên phụ thuộc vào mức độ triệu chứng của người bệnh, độ tuổi của người bệnh, dạng phân liều của thuốc để được sử dụng, chuẩn độ liên kết của kháng thể, hoặc tương tự và ví dụ, lượng bổ sung nằm trong khoảng từ 0,001 đến 100mg/kg có thể được sử dụng.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng làm tác nhân để điều trị các bệnh tự miễn dịch như là lupus ban đỏ hệ thống, viêm đa khớp dạng thấp, ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát, bệnh nhược cơ năng, bệnh Grave, viêm tủy sống thần kinh thị giác, thiếu máu do tan máu tự miễn dịch, pemphigut, hội chứng kháng thể kháng phospholipit, viêm mạch kết hợp với ANCA, hội chứng Sjogren, bệnh Hashimoto, bệnh đa thần kinh hủy myelin viêm mạn tính, hội chứng mệt mỏi mạn tính, hoặc tương tự.

Sáng chế đề xuất dược phẩm để ngăn ngừa hoặc điều trị lupus ban đỏ hệ thống, viêm đa khớp dạng thấp, hoặc ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát bao gồm kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế. Hơn nữa, sáng chế đề xuất phương pháp để ngăn ngừa hoặc điều trị lupus ban đỏ hệ thống, viêm đa khớp dạng thấp, hoặc ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát, phương pháp này bao gồm việc dùng lượng có tác dụng chữa bệnh của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế. Hơn nữa, sáng chế đề xuất kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế để sử dụng nhằm ngăn ngừa hoặc

điều trị lupus ban đỏ hệ thống, viêm đa khớp dạng thấp, hoặc ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát. Ngoài ra, sáng chế đề xuất việc sử dụng của kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế để sản xuất được phẩm nhằm ngăn ngừa hoặc điều trị lupus ban đỏ hệ thống, viêm đa khớp dạng thấp, hoặc ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Tiếp theo là phần mô tả sáng chế thông qua các ví dụ để dễ dàng hiểu rõ sáng chế. Tuy nhiên, sáng chế không chỉ giới hạn ở các ví dụ này.

Đối với các phần sử dụng các kit có trên thị trường hoặc các chất phản ứng, các thử nghiệm được tiến hành theo hướng dẫn sử dụng kèm theo trừ khi được hướng dẫn cụ thể khác đi.

Ví dụ 1: tạo ra các protein Ig β -Flag ở người và ở khỉ

Protein trong đó đuôi Flag liên kết vào Ig β ở người (protein Ig β -Flag ở người) và protein trong đó đuôi Flag liên kết vào mà có được Ig β khỉ (protein Ig β -Flag ở khỉ). Gen Ig β -Flag ở người (SEQ ID NO: 13) được đưa vào trong vector GS pEE6.4 (Lonza Biologics, Inc.). Gen Ig β -Flag ở khỉ (SEQ ID NO: 14) được đưa vào trong vector GS pEE6.4 (Lonza Biologics, Inc.). Vector được chuẩn bị tương ứng được chuyển gen vào các tế bào FreeStyle 293 (Life Technologies, Inc.) sử dụng Chất phản ứng FreeStyle MAX (Life Technologies, Inc.). Các tế bào tương ứng được nuôi cấy trong hệ nuôi cấy không có huyết thanh sử dụng môi trường FreeStyle 293 Expression (Life Technologies, Inc.) trong 1 tuần và dịch nổi bề mặt của môi trường nuôi cấy tương ứng chứa protein Ig β -Flag ở người và protein Ig β -Flag ở khỉ có được. Protein được tinh chế sử dụng gel ái lực kháng thể kháng Flag M2 (SIGMA-ALDRICH Corporation) từ dịch nổi bề mặt của môi trường nuôi cấy có được và sau đó được sử dụng cho thử nghiệm sau đó.

Ví dụ 2: tạo ra kháng thể kháng Ig β ở người

Để có được kháng thể kháng Ig β ở người, protein Ig β -Flag ở người và protein Ig β -Flag ở khỉ có được trong ví dụ 1 được tiêm vào chuột C3H/HeJmsSlc-lpr/lpr (Japan SLC, Inc.) cùng với chất hỗ trợ được để dẫn đến phản ứng miễn dịch nhằm thực hiện tạo miễn dịch. Chuột được tạo miễn dịch một vài lần và tiến hành tạo miễn dịch cuối. Theo phương pháp thông thường, lách và hạch bạch huyết của chuột được

tạo miễn dịch được chiết và tế bào lympho được thu được và được dung hợp tế bào với các tế bào u tủy chuột SP2/0 (ATCC CRL-1581), do đó tạo ra khối tế bào lai. Mẫu pha loãng giới hạn của khối tế bào lai được chuẩn bị và khối tế bào lai được tạo dòng vô tính đơn. Dòng vô tính tương ứng được nhân rộng và được nuôi cấy, môi trường nuôi cấy được thay đổi thành Khối tế bào lai SFM (Life Technologies, Inc.), là môi trường nuôi cấy không có huyết thanh và sau đó nuôi cấy dòng vô tính trong từ 3 đến 5 ngày. Kháng thể được tinh chế sử dụng kit tinh chế kháng thể (Protein G Purification kit; Proteus, Inc.) từ dịch nổi bề mặt của môi trường nuôi cấy thu được.

Xét đến kháng thể thu được từ dòng vô tính tương ứng, hoạt tính liên kết trên protein Ig β -Flag ở người và ở khỉ và hoạt tính liên kết trên tế bào B ở người và ở khỉ được đánh giá. Kết quả là, phát hiện ra rằng kháng thể được gọi là CL6_40 được liên kết vào cả hai trong số protein Ig β -Flag ở người và ở khỉ và có hoạt tính liên kết cao xét đến cả hai trong số tế bào B ở người và ở khỉ. Xét đến CL6_40, các gen mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ từ khối tế bào lai được tạo dòng vô tính và tiến hành xác định trình tự.

Ví dụ 3: tạo kháng thể được nhân hóa

CDRs của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của CL6_40 được cấy vào kháng thể người khác và nhiều gen của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể được nhân hóa được chuẩn bị. Vector biểu hiện bao gồm các gen của cả chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể được nhân hóa tương ứng được tạo cấu trúc sử dụng vector GS (Lonza Biologics, Inc.). Cụ thể, trình tự tín hiệu mã hóa gen (N. Whittle et al., Protein Eng., Vol. 1, p. 499-505, 1987) và gen vùng ổn định của Igy1 ở người (chứa trình tự bazơ có số bazơ nằm trong khoảng từ 358 đến 1350 của SEQ ID NO: 1) có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W tương ứng được buộc vào vị trí 5' và vị trí 3' của các gen vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể được nhân hóa tương ứng và sau đó các gen chuỗi nặng được chèn vào trong vector GS pEE6.4. Hơn nữa, trình tự tín hiệu mã hóa gen (N. Whittle et al., được đề cập trên đây) và các gen vùng ổn định của chuỗi κ ở người (chứa trình tự bazơ có số bazơ nằm trong khoảng từ 337 đến 657 của SEQ ID NO: 3) tương ứng được buộc vào vị trí 5' và vị trí 3' của các gen vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được nhân hóa tương ứng và sau đó các gen chuỗi nhẹ được chèn vào trong vector GS pEE12.4.

Trình tự bazơ của chuỗi nặng của kháng thể được nhân hóa được tạo ra CL6_40m12_DDW được thể hiện bởi các SEQ ID NO: 1 và 15, trình tự axit amin được mã hóa bởi trình tự bazơ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2, trình tự bazơ của chuỗi nhẹ của kháng thể được thể hiện bởi SEQ ID NO: 3 và trình tự axit amin được mã hóa bởi trình tự bazơ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4. Vùng biến đổi chuỗi nặng được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 119 của SEQ ID NO: 2 và CDR1, CDR2 và CDR3 của chuỗi nặng từng chuỗi gồm có trình tự axit amin có số axit amin từ 31 đến 35, 50 đến 65 và 98 đến 108 của SEQ ID NO: 2. Vùng biến đổi chuỗi nhẹ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 112 của SEQ ID NO: 4 và CDR1, CDR2 và CDR3 của chuỗi nhẹ từng chuỗi gồm có trình tự axit amin có số axit amin từ 24 đến 38, 54 đến 60 và 93 đến 101 của SEQ ID NO: 4.

Trình tự bazơ của chuỗi nặng của kháng thể được nhân hóa được tạo ra CL6_40m14_DDW được thể hiện bởi SEQ ID NO: 5, trình tự axit amin được mã hóa bởi trình tự bazơ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6, trình tự bazơ của chuỗi nhẹ của kháng thể được thể hiện bởi SEQ ID NO: 7 và trình tự axit amin được mã hóa bởi trình tự bazơ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8. Vùng biến đổi của chuỗi nặng được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 119 của SEQ ID NO: 6 và CDR1, CDR2 và CDR3 của chuỗi nặng tương ứng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 31 đến 35, 50 đến 65 và 98 đến 108 của SEQ ID NO: 6. Vùng biến đổi của chuỗi nhẹ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 112 của SEQ ID NO: 8 và CDR1, CDR2 và CDR3 của chuỗi nhẹ tương ứng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 24 đến 38, 54 đến 60 và 93 đến 101 của SEQ ID NO: 8.

Trình tự bazơ của chuỗi nặng của kháng thể được nhân hóa được tạo ra CL6_40m16_DDW được thể hiện bởi SEQ ID NO: 9, trình tự axit amin được mã hóa bởi trình tự bazơ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 10, trình tự bazơ của chuỗi nhẹ của kháng thể được thể hiện bởi SEQ ID NO: 11 và trình tự axit amin được mã hóa bởi trình tự bazơ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12. Vùng biến đổi của chuỗi nặng được thể hiện bởi SEQ ID NO: 10 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 119 của SEQ ID NO: 10 và CDR1, CDR2 và CDR3 của chuỗi nặng tương ứng chứa

trình tự axit amin có số axit amin từ 31 đến 35, 50 đến 65 và 98 đến 108 của SEQ ID NO: 10. Vùng biến đổi của chuỗi nhẹ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 112 của SEQ ID NO: 12 và CDR1, CDR2 và CDR3 của chuỗi nhẹ tương ứng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 24 đến 38, 54 đến 60 và 93 đến 101 của SEQ ID NO: 12.

CDR1, CDR2 và CDR3 của từng chuỗi trong số các chuỗi nặng được thể hiện bởi các SEQ ID NO: 6 và 10 là giống như CDR1, CDR2 và CDR3 của chuỗi nặng được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2 và CDR1, CDR2 và CDR3 của từng chuỗi trong số các chuỗi nhẹ được thể hiện bởi các SEQ ID NO: 8 và 12 là giống như CDR1, CDR2 và CDR3 của chuỗi nhẹ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4.

Để chuẩn bị từng kháng thể được nhân hóa, vector GS được mô tả trên đây, mà các gen của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của từng kháng thể tương ứng được chèn vào trong đó, được chia cắt bằng enzym nghiêm ngặt bởi NotI và PvuI và tiến hành thất sử dụng Ligation-Convenience Kit (NIPPONGENE Co., Ltd.), do đó cấu tạo nên vector gen đôi mà cả hai gen của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được chèn vào đó. Tiếp theo, vector gen đôi được chuyển nhiễm sử dụng ExpiFectamin 293 (Life Technologies, Inc.) và được nuôi cấy trong 5 ngày xét đến các tế bào Expi 293 (Life Technologies, Inc.) được nuôi cấy trong môi trường Expi 293 Biểu hiện (Life Technologies, Inc.) ở mức khoảng 3000000 tế bào/mL. Tiếp theo, kháng thể được tinh chế của kháng thể được nhân hóa tương ứng thu được sử dụng Protein G (GE Healthcare Japan Corporation) từ dịch nổi bề mặt của môi trường nuôi cấy thu được. Xét đến biểu hiện kế tiếp, kháng thể được biểu hiện nhờ việc chuyển nhiễm vector gen đôi được mô tả trên đây vào các tế bào CHO-K1SV (Lonza Biologics, Inc.). Sau đó, kháng thể được tinh chế của kháng thể được nhân hóa tương ứng thu được sử dụng MabSelect SuRe (GE Healthcare Japan Corporation) từ dịch nổi bề mặt của môi trường nuôi cấy. Là kết quả của việc phân tích biến đổi axit amin của kháng thể được tinh chế được nhân hóa tương ứng, trong hầu hết các kháng thể được tinh chế, việc loại bỏ lysin ở đầu tận cùng C của chuỗi nặng xuất hiện trong CL6_40m12_DDW, pyroglutamyl hóa ở đầu tận cùng N của chuỗi nặng và xóa bỏ lysin ở đầu tận cùng C của chuỗi nặng xuất hiện trong CL6_40m14_DDW và xóa bỏ lysin ở đầu tận cùng C của chuỗi nặng xuất hiện trong CL6_40m16_DDW.

Ví dụ 4: thử nghiệm ELISA liên quan đến kháng nguyên

Để đo hoạt tính liên kết kháng nguyên của kháng thể được nhân hóa, sử dụng ELISA kháng nguyên. Protein Ig β -Flag ở người có được trong ví dụ 1 được chuẩn bị với nước muối được đệm tris (TBS; Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) sao cho có nồng độ bằng 5000ng/mL, được bổ sung vào đĩa NUNC MaxiSorp white 384 (Maxisorp 384 plate: Nunc Corporation) với lượng là 15 μ L mỗi giếng và sau đó hóa rắn ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Rửa phần tạo thành với TBS-T (0,05% TBS chứa Tween-20: Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) hai lần, bổ sung 120 μ L chất ngăn chặn (Blocking One: Nacalai tesque, Inc.) vào đó, để phần tạo thành ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ và loại dung dịch. Các mức pha loãng tuần tự (8 mức với nồng độ cuối nằm trong khoảng từ 0,46ng/mL đến 1 μ g/mL) của kháng thể được nhân hóa tương ứng thu được trong ví dụ 3 được chuẩn bị sử dụng dung dịch được pha loãng thu được bằng cách bổ sung cùng lượng của chất ngăn chặn và TBS và sau đó được bổ sung vào đó với lượng là 15 μ L. Để phần tạo thành ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, rửa với nước rửa TBS-T ba lần và bổ sung vào đó 20 μ L peroxidaza của kháng thể Ig thỏ kháng người được đánh dấu cải ốc ven biển (HRP) (Dako Ltd.) mà được pha loãng 3000 lần với dung dịch được pha loãng. Sau đó, để phần tạo thành ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ và sau đó rửa với nước rửa TBS-T ba lần. Tiếp theo, bổ sung vào đó 30 μ L ELISA phát quang hóa bằng chất nền BM (POD) (Roche Diagnostics Inc.) là chất phản ứng phát hiện sự phát quang hóa và đo lượng phát quang hóa của nó bằng máy đếm EnVision (PerkinElmer, Co., Ltd.). Sử dụng cùng phương pháp, tiến hành thử nghiệm ELISA kháng nguyên sử dụng protein Ig β -Flag ở khỉ có được trong ví dụ 1. Khi hoạt tính liên kết ở các nồng độ tương ứng của kháng thể thử nghiệm được tính, đo lượng của giếng mà kháng thể thử nghiệm vào đó không được bổ sung được cài đặt đến 0% và giá trị hội tụ của hoạt tính tối đa của kháng thể thử nghiệm được cài đặt đến 100%. Phân tích hoạt tính liên kết tính được và tính giá trị EC50 của kháng thể thử nghiệm bằng cách khớp đường cong.

Kết quả là, giá trị EC50 KHI xét đến protein Ig β -Flag ở người và ở khỉ của CL6_40m12_DDW tương ứng bằng 128ng/mL và 183ng/mL. Giá trị EC50 xét đến protein Ig β -Flag ở người và ở khỉ của CL6_40m14_DDW tương ứng bằng

100ng/mL và 106ng/mL. Giá trị EC₅₀ xét đến protein Ig β -Flag ở người và ở khỉ của CL6_40m16_DDW tương ứng bằng 132ng/mL và 118ng/mL. Khẳng định được rằng tất cả các kháng thể được nhân hóa tương ứng có hoạt tính liên kết cao khi xét đến cả hai trong số protein Ig β -Flag ở người và ở khỉ.

Ví dụ 5: Phân tích FACS xét đến PBMC ở người và ở khỉ

Để đánh giá hoạt tính liên kết của kháng thể được nhân hóa xét đến các tế bào ở người và ở khỉ, tiến hành phân tích Phân loại Tế bào Được hoạt hóa Huỳnh quang (FACS) trên PBMC ở người và ở khỉ với chỉ số CD20 là chất đánh dấu tế bào B sử dụng tế bào B có mặt trong PBMC làm đích. PBMC ở khỉ được chuẩn bị bằng cách pha loãng máu của khỉ với cùng lượng của PBS (Life Technologies, Inc.), dặt mỏng máu được pha loãng trên cùng lượng của Ficoll (GE Healthcare Japan Corporation) và thực hiện xử lý ly tâm ở nhiệt độ trong phòng và ở 1500 rpm trong 30 phút. Tiếp theo, PBMC ở người (AllCells, Inc.) hoặc PBMC ở khỉ được tạo hạt với lượng là 200000 mỗi giếng trong đĩa 96 giếng (Greiner Bio-Một) trong trạng thái được tạo huyền phù trong 30 μ L chất đệm Stain (Becton, Dickinson Company). Bổ sung vào đó loạt dung dịch pha loãng (4 mức với nồng độ cuối nằm trong khoảng từ 0,03ng/mL đến 30 μ g/mL) của từng kháng thể trong số các kháng thể được nhân hóa có được trong ví dụ 3 được chuẩn bị sử dụng chất đệm Stain và 30 μ L của các mức pha loãng tuần tự. Để phân tạo thành trên đá lạnh trong 30 phút, rửa với chất đệm Stain ba lần và bổ sung 40 μ L dung dịch có đoạn IgG Fcg gấu kháng người được đánh dấu phycoerythrin (JACKSON, Inc.) mà được pha loãng 200 lần với chất đệm Stain và kháng thể chuột kháng CD20 được đánh dấu allophycocyanin (Becton, Dickinson Company) được pha loãng 8 lần với chất đệm Stain vào đó. Để phân tạo thành trên đá lạnh trong 30 phút và rửa với chất đệm Stain hai lần, đo cường độ huỳnh quang sử dụng FACSAarray (Becton, Dickinson Company) và sau đó tính cường độ huỳnh quang trung bình: MFI). Sử dụng FlowJo (TOMY DIGITAL BIOLOGY Co., Ltd.) để phân tích.

Kết quả, khẳng định được rằng tất cả các kháng thể được nhân hóa tương ứng có hoạt tính liên kết cao xét đến cả hai trong số tế bào B ở người và ở khỉ.

Ví dụ 6: đánh giá hoạt động tăng sinh tế bào có được nhờ kháng thể kháng IgM

Để đánh giá hiệu quả ức chế của kháng thể được nhân hóa xét đến hoạt động của tế bào B ở người nhờ vào kích thích BCR, đánh giá hoạt động tăng sinh tế bào có được do kháng thể kháng IgM trong tế bào B ở người. Kháng thể kháng IgM hoạt hóa tế bào B bằng cách để cho BCR kết tập. Kháng thể liên kết vào cả hai trong số BCR và FcγRIIb vận động FcγRIIb đến BCR và do đó việc tăng sinh của tế bào B có thể được ức chế. Trong ví dụ này, S267E/L328F kháng CD19 (Tài liệu sáng chế 2) được sử dụng làm kháng thể so sánh. Làm kháng thể kiểm soát, kháng thể IgG1 ở người (Ab kháng KLH) chống lại KLH (hemoxyanin hà) là kháng nguyên không tồn tại trong cơ thể sống được sử dụng (WO 2013/094723). Tiếp theo, tế bào B ở người (AllCells, Inc.) được tạo hạt với lượng là 30000 mỗi giếng trong đĩa 96 giếng (Iwaki, Co., Ltd.) sử dụng 60μL môi trường nuôi cấy RPMI (SIGMA-ALDRICH Corporation). Tiếp theo, các mức pha loãng tuần tự (3 mức với nồng độ cuối nằm trong khoảng từ 0,3ng/mL đến 30μg/mL) của kháng thể người toàn bộ độ dài tương ứng có được trong ví dụ 3, S267E/L328F kháng CD19, hoặc Ab kháng KLH được chuẩn bị và được bổ sung vào đó với lượng là 20 μL sử dụng môi trường nuôi cấy RPMI. Bổ sung 20μL kháng thể kháng IgM (JACKSON, Inc.) được chuẩn bị sao cho nồng độ cuối của nó trong môi trường nuôi cấy RPMI được điều chỉnh đến 5μg/mL và ủ trong lò ủ CO₂ trong 4 ngày. Tiếp theo, tiến hành phân tích tăng sinh tế bào sử dụng CellTiter-Glo (Promega K.K.). Ngoài ra, trong ví dụ ở đây, nhóm không được bổ sung kháng thể thử nghiệm/không được bổ sung kháng thể kháng IgM và nhóm không được bổ sung kháng thể thử nghiệm/được bổ sung kháng thể kháng IgM tương ứng được chuẩn bị làm kiểm soát âm tính và kiểm soát dương tính và sau đó tiến hành thử nghiệm. Kháng thể thử nghiệm tương ứng được thử nghiệm hai lần.

Fig.1 thể hiện các kết quả của tỷ lệ tăng sinh của tế bào B ở người. Tỷ lệ tăng sinh của nhóm dùng kháng thể thử nghiệm được tính bằng cách cài đặt nhóm không được bổ sung kháng thể thử nghiệm/không được bổ sung kháng thể kháng IgM làm kiểm soát âm tính (tỷ lệ tăng sinh: 0%) và nhóm không được bổ sung kháng thể thử nghiệm/được bổ sung kháng thể kháng IgM làm kiểm soát dương tính (tỷ lệ tăng

sinh: 100%). Điều này có nghĩa là, hoạt tính ức chế xét đến BCR của kháng thể thử nghiệm là mạnh hơn khi giá trị của tỷ lệ tăng sinh của nó là nhỏ hơn.

Như được thể hiện trên Fig.1, trong khi tỷ lệ tăng sinh trong 30 μ g/mL S267E/L328F kháng CD19 bằng 52,3%, tỷ lệ tăng sinh trong 30 μ g/mL CL6_40m12_DDW, CL6_40m14_DDW và CL6_40m16_DDW tương ứng bằng 2,8%, 20,2% và 23,2%. Do đó, hiển nhiên là tất cả các kháng thể người toàn bộ độ dài được mô tả trên đây có hoạt tính ức chế mạnh xét đến tăng sinh tế bào được dẫn đến kháng thể kháng IgM trong tế bào B ở người so với S267E/L328F kháng CD19.

Ví dụ 7: đánh giá hiệu quả của thuốc trong mô hình chuột NOG chuyển gen người PBMC

Đối với mục đích khẳng định hiệu quả của kháng thể được nhân hóa xét đến việc tạo ra kháng thể in vivo, đánh giá tác động của các kháng thể khác nhau trong việc dùng để điều trị xét đến việc tăng về chuẩn độ kháng thể người được dẫn đến bằng cách chuyển PBMC ở người vào chuột NOG. Trong mô hình này, được xem là tế bào B ở người được hoạt hóa mạnh bởi đối tượng lạ (chuột) nhận diện phân hóa thành các tế bào (mầm) của huyết tương trong cơ thể của chuột và mô hình này thích hợp để đánh giá tác động dược lý của thuốc thử nghiệm khi xét đến hoạt tính của các tế bào loại B ở người.

Tạo huyền phù cho PBMC ở người (AllCells, Inc.) ở mức 10000000 tế bào/mL trong PBS (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) và được dùng cho tĩnh mạch đuôi của chuột NOG đực 11 tuần tuổi (In-vivo Science, Inc.) với lượng là 0,25mL (2500000 tế bào). Vào ngày thứ 34 (ngày thứ 34 sau khi chuyển PBMC), đo trọng lượng và tạo mẫu máu. Đo chuẩn độ kháng thể IgM và IgE huyết tương ở người sử dụng ELISA (Bethyl Laboratories, Inc.). Tiến hành phân nhóm dựa trên IgM huyết tương ở người, chuẩn độ kháng thể IgE và dữ liệu trọng lượng.

Trong ví dụ này, làm kháng thể so sánh, S267E/L328F kháng CD19 được sử dụng. Làm kháng thể kiểm soát, Ab kháng KLH được sử dụng. 10mg/10mL/kg của kháng thể thử nghiệm được dùng cho chuột bằng cách dùng lên da vào các ngày thứ 35 và thứ 42. Tiến hành lấy mẫu máu vào các ngày thứ 42 và 49 và đo chuẩn độ kháng thể IgM và IgE huyết tương ở người sử dụng ELISA (Bethyl Laboratories,

Inc.). Tiến hành thử nghiệm trong đơn vị nhóm gồm 4 hoặc 5 động vật. Các kết quả thử nghiệm được thể hiện bởi “giá trị trung bình $\pm$ sai số tiêu chuẩn.” Chênh lệch thử nghiệm rõ rệt của nhóm Ab kháng KLH và khác nhau kháng thể thử nghiệm nhóms tiến hành sử dụng thử nghiệm Student’s t và trường hợp mà giá trị p nhỏ hơn 0,05 được xem là rõ rệt về mặt thống kê. Tiến hành thử nghiệm được mô tả trên đây sử dụng GraphPad Prism (Phiên bản 5.04).

Fig.2 thể hiện tác động của kháng thể thử nghiệm khi xét đến chuẩn độ kháng thể IgM huyết tương ở người. Chuẩn độ kháng thể IgM huyết tương ở người giảm rõ rệt bởi CL6_40m12_DDW và CL6_40m14_DDW so với Ab kháng KLH. Tác động giảm CL6_40m12_DDW và CL6_40m14_DDW xét đến chuẩn độ kháng thể IgM huyết tương ở người được biểu hiện sớm quá mức và nhận thấy từ tuần thứ nhất sau khi bắt đầu dùng (ngày thứ 42). Trong khi, trong S267E/L328F kháng CD19, tác động giảm xét đến chuẩn độ kháng thể IgM huyết tương ở người là rõ rệt chỉ sau 2 tuần sau khi bắt đầu dùng (ngày thứ 49).

Tiếp theo, Fig.3 thể hiện tác động của kháng thể thử nghiệm xét đến chuẩn độ kháng thể IgE huyết tương ở người. Trong CL6_40m12_DDW và CL6_40m14_DDW, chuẩn độ kháng thể IgE huyết tương ở người giảm nhanh và rõ rệt so với Ab kháng KLH. Trong khi, trong S267E/L328F kháng CD19, chuẩn độ kháng thể IgE huyết tương ở người không giảm.

Như được thể hiện trên các hình vẽ Fig.2 và Fig.3, hiển nhiên là cả hai trong số CL6_40m12_DDW và CL6_40m14_DDW được mô tả trên đây có hoạt tính ức chế mạnh xét đến việc tăng về chuẩn độ kháng thể người so với S267E/L328F kháng CD19.

Ví dụ 8: đánh giá hiệu quả của thuốc trong mô hình nhạy kháng nguyên TTx ở khỉ

Tạo ra IgG đặc hiệu kháng nguyên TTx bằng cách tạo cảm ứng kháng nguyên biến độc tố uốn ván được hấp thụ (TTx) cho khỉ một lần. Trong mô hình này, chuẩn độ kháng thể tổng trong huyết tương có thể được đánh giá ngoài IgG đặc hiệu kháng nguyên TTx trong huyết tương. Do đó, trong mô hình này, tính an toàn có thể được đánh giá ngoài hiệu quả của nó khi các bệnh tự miễn dịch được điều trị.

Sử dụng khí đực đuôi dài (khí đuôi dài) (vùng sản xuất: China, 3 năm tuổi hoặc già hơn), ở mức dùng 2 đến 5mg/kg (0,05mL/kg: USP Corporation) zolazepam hydroclorua và 2,5 đến 5mg/kg tiletamin hydroclorua được trộn trong trạng thái gây mê và TTx được tạo cảm ứng (ngày tạo cảm ứng được cài đặt đến Ngày 0). Tiến hành tạo cảm ứng TTx bằng cách tiêm biến độc tố uốn ván 0,6mL/khí (TTx, 10 Lf/mL, Denka Seika Co., Ltd.) vào bắp đùi và 0,6mL/khí (tương ứng 50 μ L đến 12 vị trí) vào phần trong da ở lưng. Làm nhóm được điều trị, nhóm dùng chất dẫn thuốc (dung môi (20mM chất đệm natri xitrat/120mm, NaCl (pH: 6,0); KOHJIN BIO Co., Ltd.) 1mL/kg, n = 3) và nhóm dùng kháng thể (10mg/1mL/kg, sử dụng kháng thể được nhân hóa CL6_40m14_DDW (được pha loãng với dung môi), n = 3). Việc định thời gian của việc dùng thuốc được cài đặt đến ngày thứ 14 sau khi tạo cảm ứng TTx và tiến hành dùng cho tĩnh mạch với liều dùng 1mL/kg khi tỉnh.

Sau khi dùng CL6_40m14_DDW cho khí đuôi dài được mô tả trên đây, tạo mẫu máu với thời gian, ví dụ, sau khi 4 giờ, 72 giờ, 168 giờ và 336 giờ và đưa vào xử lý ly tâm và sau đó thu huyết tương. Đo nồng độ của thuốc trong huyết tương sử dụng GyrolabTM xP workstation (Gyros AB). Làm phương pháp và đĩa, đĩa nén 200-3W-001-A và Bioaffy 200 (Gyros AB) được sử dụng. Ngoài ra, làm kháng nguyên hóa rắn và kháng thể phát hiện, sử dụng CD79B tái tổ hợp ở người được đánh dấu biotin (Novoprotein, Inc.) và IgG dê kháng người được đánh dấu alexa (Southern Biotechnology Associates, Inc.). Như được liệt kê trong Bảng 1, nồng độ thuốc trong huyết tương của CL6_40m14_DDW được duy trì trong quá trình đánh giá mô hình thử nghiệm.

Bảng 1: Chuyển tiếp nồng độ của thuốc trong huyết tương xét đến kháng thể kháng Ig β được nhân hóa ở khí

[Bảng 1]

	Nồng độ của thuốc trong huyết tương của cá thể 1 ($\mu\text{g/mL}$)	Nồng độ của thuốc trong huyết tương của cá thể 2 ($\mu\text{g/mL}$)	Nồng độ của thuốc trong huyết tương của cá thể 3 ($\mu\text{g/mL}$)
Sau 4 giờ	252,111	263,242	258,271
Sau 72 giờ	143,586	144,095	114,605
Sau 168 giờ	120,070	112,865	95,848
Sau 336 giờ	76,854	62,281	53,305

Tạo mẫu máu từ khi đuôi dài được mô tả trên đây với thời gian vào ngày thứ 13 (13 ngày sau khi khi đuôi dài được tạo miễn dịch bởi biến độc tổ uồn ván được hấp thụ), ngày thứ 14, ngày thứ 17, ngày thứ 21 và ngày thứ 28, tiến hành xử lý ly tâm và thu huyết tương. Để đo mức kháng biến độc tổ uồn ván được hấp thụ (IgG kháng TTX) trong huyết tương thu được, sử dụng ELISA kháng nguyên. Bổ sung biến độc tổ uồn ván được hấp thụ (Denka Seika Co., Ltd.) được pha loãng 20 lần với nước muối đệm phosphat (PBS; Wako Pure Hóa học Industries, Ltd.) vào đĩa 96 Maxisorp NUNC (đĩa 96 Maxisorp: Nunc Corporation) với lượng là $100\mu\text{L}$ mỗi giếng và sau đó hóa rắn ở 4°C trong một đêm. Rửa phần tạo thành với PBS-T (PBS chứa 0,05% Tween-20: Thermo Scientific, Inc.) bốn lần, bổ sung $200\mu\text{L}$ chất ngăn chặn (Blocker Casein In PBS; Life Technologies, Inc.) vào đó, để phần tạo thành ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ và loại dung dịch. Tiếp theo, $100\mu\text{L}$ huyết tương thu được và $100\mu\text{L}$ của mẫu đối với đường cong hiệu chuẩn tương ứng được bổ sung vào đó. Làm mẫu đối với đường cong hiệu chuẩn, sử dụng mẫu được trộn với huyết tương được thu 21 ngày và 23 ngày sau khi tạo miễn dịch cho khi đuôi dài bằng biến độc tổ uồn ván được hấp thụ, lượng của nó được điều chỉnh đến 100U/mL và các mức pha loãng tuần tự ($0,488$ đến 500mU/mL) được chuẩn bị sử dụng chất ngăn chặn làm dung dịch được pha loãng được sử dụng. Để phần tạo thành ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ, rửa với nước rửa PBS-T bốn lần và $100\mu\text{L}$ peroxidaza của kháng thể IgG gấu kháng khi được đánh dấu bằng cải ốc ven biển (HRP) (Nordic,

Inc.) mà được pha loãng 3000 lần với chất ngăn chặn Bỏ sung vào đó. Sau đó, để phản tạo thành ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ và sau đó rửa với nước rửa PBS-T bốn lần. Tiếp theo, tiến hành đo sử dụng TMB Microwell Peroxidase Substrate System (KPL, Inc.). Đo hệ số hấp thụ của nó bằng SpectraMax (Molecular Devices, Inc.).

Fig.4 thể hiện tác động của kháng thể thử nghiệm khi xét đến chuẩn độ kháng thể biến độc tố uốn ván được hấp thụ trong huyết tương. Chuẩn độ kháng thể biến độc tố uốn ván được hấp thụ trong huyết tương (IgG kháng TTX) là giảm về CL6-40m14_DDW so với nhóm chỉ dùng chất dẫn thuốc.

Đo chuẩn độ kháng thể tổng (IgM, IgA và IgG) trong huyết tương thu được từ khỉ đuôi dài vào ngày thứ 14, ngày thứ 17, ngày thứ 21 và ngày thứ 28 sử dụng phương pháp sau. Kháng thể đơn dòng IgM thổ kháng khí (COVANCE, Inc.) và thổ kháng người IgA polyclonal kháng thể (Betyl Laboratories, Inc.) được pha loãng 100 lần, 500 lần và 1000 lần với nước muối đệm phosphat (PBS: Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), được bổ sung vào đĩa 96 Maxisorp NUNC (đĩa 96 Maxisorp: Nunc Corporation) với lượng là 100 μ L và sau đó hóa rắn ở 4°C trong một đêm. Rửa phản tạo thành với PBS-T (PBS chứa 0,05% Tween-20: Thermo Scientific, Inc.) bốn lần, bổ sung 200 μ L chất ngăn chặn (Blocker Casein In PBS; Life Technologies, Inc.) vào đó và để phản tạo thành ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ và rửa với nước rửa PBS-T một vài lần. Các mức pha loãng tuần tự của mẫu đối với đường cong hiệu chuẩn và huyết tương thu được của khỉ được chuẩn bị sử dụng chất ngăn chặn làm dung dịch được pha loãng và bổ sung 100 μ L ở các mức pha loãng tuần tự vào đó. Làm mẫu đối với đường cong hiệu chuẩn, huyết tương được chuẩn bị từ khỉ đuôi dài thông thường được pha loãng và sau đó được sử dụng. Để phản tạo thành ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ, rửa với nước rửa PBS-T bốn lần và peroxidaza của kháng thể IgM kháng khí được đánh dấu cải ốc ven biển (HRP) (KPL, Inc.), peroxidaza của kháng thể IgA kháng người được đánh dấu cải ốc ven biển (HRP) (Betyl Laboratories, Inc.) và peroxidaza của kháng thể IgG kháng khí được đánh dấu bằng cải ốc ven biển (HRP) (KPL, Inc.) tương ứng được pha loãng 1000 lần, 5000 lần và 3000 lần với chất ngăn chặn và được bổ sung vào đó với lượng là 100 μ L tương ứng. Sau đó, để phản tạo thành ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ và sau đó rửa với nước rửa PBS-T bốn lần.

Tiếp theo, tiến hành đo sử dụng TMB Microwell Peroxidase Substrate System (KPL, Inc.). Đo hệ số hấp thụ của nó bằng SpectraMax (Molecular Devices, Inc.).

Các hình vẽ Fig.5, Fig.6 và Fig.7 thể hiện tác động của kháng thể thử nghiệm xét đến chuẩn độ kháng thể tổng (IgM, IgA và IgG) trong huyết tương. CL6_40m14_DDW không ảnh hưởng đến chuẩn độ kháng thể tổng (IgM, IgA và IgG) trong huyết tương so với nhóm chỉ dùng chất dẫn thuốc.

Từ các kết quả được mô tả trên đây, hiển nhiên là CL6_40m14_DDW ngăn chặn kháng thể đặc hiệu kháng nguyên không ảnh hưởng đến chuẩn độ kháng thể tổng trong huyết tương. Hơn nữa, ngoài hiệu quả ở thời điểm điều trị các bệnh tự miễn dịch, còn hiển nhiên là CL6_40m14_DDW có đặc tính rất tốt xét đến tính an toàn.

Khả năng ứng dụng trong công nghiệp

Kháng thể kháng Ig β ở người theo sáng chế là hữu dụng để ngăn ngừa và điều trị các bệnh tự miễn dịch. Hơn nữa, polynucleotit, vector biểu hiện, tế bào vật chủ được biến nạp và phương pháp để sản xuất kháng thể theo sáng chế là hữu dụng để sản xuất kháng thể kháng Ig β ở người.

Danh mục trình tự

Ở tiêu đề số <223> của danh mục trình tự, việc mô tả “Trình tự nhân tạo” được thực hiện. Cụ thể, các trình tự bazơ được thể hiện bởi các SEQ ID NO: 1 và 3 của danh mục trình tự là các trình tự bazơ của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của CL6_40m12_DDW, tương ứng và các trình tự axit amin được thể hiện bởi các SEQ ID NO: 2 và 4 là các trình tự axit amin của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được mã hóa bởi các SEQ ID NO: 1 và 3, tương ứng. Các trình tự bazơ được thể hiện bởi các SEQ ID NO: 5 và 7 của danh mục trình tự là các trình tự bazơ của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của CL6_40m14_DDW, tương ứng và các trình tự axit amin được thể hiện bởi các SEQ ID NO: 6 và 8 là các trình tự axit amin của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được mã hóa bởi các SEQ ID NO: 5 và 7, tương ứng. Các trình tự bazơ được thể hiện bởi các SEQ ID NO: 9 và 11 của danh mục trình tự là các trình tự bazơ của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của CL6_40m16_DDW, tương ứng và các trình tự axit amin được thể hiện bởi các SEQ ID NO: 10 và 12 của danh mục trình tự là các trình tự axit amin của

chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được mã hóa bởi các SEQ ID NO: 9 và 11, tương ứng. Trình tự bazơ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 13 của danh mục trình tự là trình tự bazơ của gen Ig β -Flag ở người và trình tự bazơ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 14 của danh mục trình tự là trình tự bazơ của gen Ig β -Flag ở khỉ. Trình tự bazơ được thể hiện bởi SEQ ID NO: 15 của danh mục trình tự là trình tự bazơ của chuỗi nặng của CL6_40m12_DDW.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

- <110> Astellas Pharma Inc.
 <120> Kháng thể kháng beta globulin miễn dịch ở người, phương pháp sản xuất và dược phẩm chứa kháng thể này
 <130> A15019A00
 <150> JP2014-160141
 <151> 2014-08-06
 <160> 15
 <170> Patent ở Phiên bản 3.5
 <210> 1
 <211> 1350
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Chuỗi nặng của kháng thể Ig-beta ở người
 <220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (1350)
 <400> 1
 gag gtg cag atg gtc gag agc ggg ggg ggc ctg gtg cag cct ggg ggt 48
 Glu Val Gln Met Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 tcc ctg aga ctg tct tgt gcc gtg tcc ggg ttt tca ctg tcc agc tat 96
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30
 agt gtg cac tgg gtc cga cag gca cca ggg aag ggt ctg gag tgg gtg 144
 Ser Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 gca gga atc tgg tca gga gga tcc att cat tat acc cct gcc ctg tct 192
 Ala Gly Ile Trp Ser Gly Gly Ser Ile His Tyr Thr Pro Ala Leu Ser
 50 55 60
 agt aga ttc aca gtg agc cgc gac gat tct aaa aac aca gtc tac ctg 240
 Ser Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 cag atg aat agc ctg agg gcc gag gac acc gct gtc tac tat tgc gct 288
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 aga tac gac cgg tat gaa act tac gca atg gat tac tgg ggc cag gga 336
 Arg Tyr Asp Arg Tyr Glu Thr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

acc	ctg	gtc	acc	gtc	tcc	tca	gcc	tcc	acc	aag	ggc	cca	tcg	gtc	ttc	384
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
	115						120					125				
ccc	ctg	gca	ccc	tcc	tcc	aag	agc	acc	tct	ggg	ggc	aca	gcg	gcc	ctg	432
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	
	130					135					140					
ggc	tgc	ctg	gtc	aag	gac	tac	ttc	ccc	gaa	cgc	gtg	acg	gtg	tcg	tgg	480
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	
145					150					155					160	
aac	tca	ggc	gcc	ctg	acc	agc	ggc	gtg	cac	acc	ttc	cgc	gct	gtc	cta	528
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	
				165					170					175		
cag	tcc	tca	gga	ctc	tac	tcc	ctt	agt	agc	gtg	gtg	acc	gtg	ccc	tcc	576
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	
			180					185						190		
agc	agc	ttg	ggc	acc	cag	acc	tac	atc	tgc	aac	gtg	aat	cac	aag	ccc	624
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	
		195					200					205				
agc	aac	acc	aag	gtg	gac	aag	aaa	gtt	gag	ccc	aaa	tct	tgt	gac	aaa	672
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	
	210					215					220					
act	cac	aca	tgc	cca	cgc	tgc	cca	gca	cct	gaa	ctc	ctg	ggg	gga	cgc	720
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	
225					230					235					240	
gac	gtc	ttc	ctc	ttc	ccc	cca	aaa	ccc	aag	gac	acc	ctc	atg	atc	tcc	768
Asp	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
				245					250					255		
cgg	acc	cct	gag	gtc	aca	tgc	gtg	gtg	gtg	gac	gtg	agc	gac	gaa	gac	816
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Asp	Glu	Asp	
			260					265					270			
cct	gag	gtc	aag	ttc	aac	tgg	tac	gtg	gac	ggc	gtg	gag	gtg	cat	aat	864
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
		275					280					285				
gcc	aag	aca	aag	cgc	cgg	gag	gag	cag	tac	aac	agc	acg	tac	cgt	gtg	912
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	
	290					295					300					
gtc	agc	gtc	ctc	acc	gtc	ctg	cac	cag	gac	tgg	ctg	aat	ggc	aag	gag	960
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	
305					310					315					320	
tac	aag	tgc	aag	gtc	tcc	aac	aaa	gcc	tgg	cca	gcc	ccc	atc	gag	aaa	1008
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Trp	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	
				325					330					335		
acc	atc	tcc	aaa	gcc	aaa	ggg	cag	ccc	oga	gaa	cca	cag	gtg	tac	acc	1056

Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr		
			340					345					350				
ctg	ccc	cca	tcc	cgg	gat	gag	ctg	acc	aag	aac	cag	gtc	agc	ctg	acc		1104
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr		
			355				360					365					
tgc	ctg	gtc	aaa	ggc	ttc	tat	ccc	agc	gac	atc	gcc	gtg	gag	tgg	gag		1152
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu		
			370			375					380						
agc	aat	ggg	cag	ccg	gag	aac	aac	tac	aag	acc	acg	cct	ccc	gtg	ctg		1200
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu		
					390					395					400		
gac	tcc	gac	ggc	tcc	ttc	ttc	ctc	tac	agc	aag	ctc	acc	gtg	gac	aag		1248
Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys		
				405					410					415			
agc	agg	tgg	cag	cag	ggg	aac	gtc	ttc	tca	tgc	tcc	gtg	atg	cat	gag		1296
Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu		
			420					425					430				
gct	ctg	cac	aac	cac	tac	acg	cag	aag	agc	ctc	tcc	ctg	tct	ccg	ggt		1344
Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly		
			435				440					445					
aaa	tga																1350
Lys																	

<210> 2
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 2

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ser Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Gly Ile Trp Ser Gly Gly Ser Ile His Tyr Thr Pro Ala Leu Ser
 50 55 60

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

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Tyr Asp Arg Tyr Glu Thr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Trp Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

Lys

<210> 3
 <211> 657
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Chuỗi nhẹ của kháng thể Ig-beta ở người

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (657)

<400> 3	
gac atc cag ctg acc cag tcc ccc tcc agc ctg tcc gcc tct gtg ggc Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly 1 5 10 15	48
gac aga gtg acc atc aca tgc aag gcc tcc cag tcc gtg gac tac gac Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp 20 25 30	96
ggc gac tcc tac atg aac tgg tat cag cag aag ccc gcc aag gcc ccc Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro 35 40 45	144
aag ctg ctg atc tac gcc gcc tcc aac ctg gaa tcc gcc gtg ccc tcc Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser 50 55 60	192
aga ttc tcc ggc tcc ggc tct ggc acc gac ttc acc ctg acc atc tcc Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser 65 70 75 80	240
agc ctg cag ccc gag gac ttc gcc acc tac tac tgc cag cag tcc aac Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn 85 90 95	288
gag gac ccc ctg acc ttc ggc cag ggc acc aag gtg gaa atc aag cgt Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg 100 105 110	336
acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tot gat gag cag Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln 115 120 125	384
ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr 130 135 140	432
ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tcg Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser 145 150 155 160	480
ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr 165 170 175	528
tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys 180 185 190	576
cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg ccc His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro 195 200 205	624
gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys 210 215	657

<210> 4
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 4

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

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

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80

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

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
 115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 5
 <211> 1350
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Chuỗi nặng của kháng thể Ig-beta ở người

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (1350)

<400> 5
 cag gtg cag atg cag gaa tcc ggt ccc ggg ctg gtc cgt cct agc cag 48
 Gln Val Gln Met Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 act ctg tca ctg act tgt act gtc tca ggg ttc tca ctg tcc agc tat 96
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30
 tcc gtg cac tgg gtc aga cag cca cct gga cga gga ctg gag tgg atc 144
 Ser Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 ggc gga att tgg agc ggg ggt tct atc cat tac aca cca gct ctg tct 192
 Gly Gly Ile Trp Ser Gly Gly Ser Ile His Tyr Thr Pro Ala Leu Ser
 50 55 60
 agt cga gtg act gtc ctg agg gac acc agt aag aac cag gtg agc ctg 240
 Ser Arg Val Thr Val Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
 65 70 75 80
 aga ctg tca tcc gtc acc gcc gct gat aca gca gtg tac tat tgc gcc 288
 Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 aga tac gac cgg tat gaa acc tac gca atg gat tat tgg ggc cag ggc 336
 Arg Tyr Asp Arg Tyr Glu Thr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 tct ctg gtc acc gtc tcc tca gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc 384
 Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg 432

Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	
130						135					140					
ggc	tgc	ctg	gtc	aag	gac	tac	ttc	ccc	gaa	ccg	gtg	acg	gtg	tcg	tgg	480
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	
145					150					155					160	
aac	tca	ggc	gcc	ctg	acc	agc	ggc	gtg	cac	acc	ttc	ccg	gct	gtc	cta	528
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	
				165					170					175		
cag	tcc	tca	gga	ctc	tac	tcc	ctt	agt	agc	gtg	gtg	acc	gtg	ccc	tcc	576
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	
			180					185					190			
agc	agc	ttg	ggc	acc	cag	acc	tac	atc	tgc	aac	gtg	aat	cac	aag	ccc	624
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	
		195					200					205				
agc	aac	acc	aag	gtg	gac	aag	aaa	gtt	gag	ccc	aaa	tct	tgt	gac	aaa	672
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	
	210					215					220					
act	cac	aca	tgc	cca	ccg	tgc	cca	gca	cct	gaa	ctc	ctg	ggg	gga	ccg	720
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	
225					230					235					240	
gac	gtc	ttc	ctc	ttc	ccc	cca	aaa	ccc	aag	gac	acc	ctc	atg	atc	tcc	768
Asp	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
				245					250					255		
cgg	acc	cct	gag	gtc	aca	tgc	gtg	gtg	gtg	gac	gtg	agc	gac	gaa	gac	816
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Asp	Glu	Asp	
			260					265					270			
cct	gag	gtc	aag	ttc	aac	tgg	tac	gtg	gac	ggc	gtg	gag	gtg	cat	aat	864
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
		275				280						285				
gcc	aag	aca	aag	ccg	cgg	gag	gag	cag	tac	aac	agc	acg	tac	cgt	gtg	912
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	
	290					295					300					
gtc	agc	gtc	ctc	acc	gtc	ctg	cac	cag	gac	tgg	ctg	aat	ggc	aag	gag	960
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	
305					310					315					320	
tac	aag	tgc	aag	gtc	tcc	aac	aaa	gcc	tgg	cca	gcc	ccc	atc	gag	aaa	1008
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Trp	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	
				325					330					335		
acc	atc	tcc	aaa	gcc	aaa	ggg	cag	ccc	cga	gaa	cca	cag	gtg	tac	acc	1056
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	
			340					345					350			
ctg	ccc	cca	tcc	cgg	gat	gag	ctg	acc	aag	aac	cag	gtc	agc	ctg	acc	1104
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	

355	360	365	
tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag			1152
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu			
370	375	380	
agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg			1200
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu			
385	390	395	400
gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag			1248
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys			
405	410	415	
agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag			1296
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu			
420	425	430	
gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt			1344
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
435	440	445	
aaa tga			1350
Lys			

<210> 6
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 6

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Gly Ile Trp Ser Gly Gly Ser Ile His Tyr Thr Pro Ala Leu Ser
50 55 60

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

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

Arg Tyr Asp Arg Tyr Glu Thr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Trp Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

Lys

<210> 7
 <211> 657
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Chuỗi nhẹ của kháng thể Ig-beta ở người

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (657)

<400> 7
 gac atc cag ctg acc cag tcc ccc tcc agc ctg tcc gcc tct gtg ggc
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

48

gac aga gtg acc atc aca tgc aag gcc tcc cag tcc gtg gac tac gac Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp 20 25 30	96
ggc gac tcc tac atg aac tgg tat cag cag aag ccc ggc aag gcc ccc Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro 35 40 45	144
aag ctg ctg atc tac gcc gcc tcc aac ctg gaa tcc ggc gtg ccc tcc Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser 50 55 60	192
aga ttc tcc ggc tcc ggc tct ggc acc gac ttc acc ttc acc atc tcc Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser 65 70 75 80	240
agc ctg cag ccc gag gat atc gcc acc tac tac tgc cag cag tcc aac Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn 85 90 95	288
gag gac ccc ctg acc ttc ggc cag ggc acc aag gtg gaa atc aag cgt Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg 100 105 110	336
acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag cag Thr Val Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln 115 120 125	384
ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc tat Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr 130 135 140	432
ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa tgc Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser 145 150 155 160	480
ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc acc Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr 165 170 175	528
tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag aaa Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys 180 185 190	576
cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tgc ccc His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro 195 200 205	624
gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys 210 215	657

<210> 8

<211> 218

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 8

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

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

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser
65 70 75 80

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

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 9
<211> 1350
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng của kháng thể Ig-beta ở người

<220>
<221> CDS
<222> (1).. (1350)

<400> 9
gaa gtg cag ctg gtg gag tcc ggg gga ggt ctg gtg cag ccc ggg ggt 48
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
tct ctg cgt ctg tct tgt gcc gtg tct ggg ttt agt ctg tcc agc tat 96
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
20 25 30
agt gtg cac tgg ttc cga aag gct ccc ggc aaa gga ctg gag tgg ctg 144
Ser Val His Trp Phe Arg Lys Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45
ggc gga atc tgg tca ggg ggt tcc att cat tat acc cct gca ctg tct 192
Gly Gly Ile Trp Ser Gly Gly Ser Ile His Tyr Thr Pro Ala Leu Ser
50 55 60
agt aga ctg aca gtg agc cgc gac atc tct aag aac aca gtc tac ctg 240
Ser Arg Leu Thr Val Ser Arg Asp Ile Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
cag atg aat agc ctg agg gcc gag gat acc gct gtc tac tat tgc gca 288
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
aga tac gac cgg tat gaa act tac gcc atg gat tac tgg ggc cag ggc 336
Arg Tyr Asp Arg Tyr Glu Thr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
acc ctg gtc acc gtc tcc tca gcc tcc acc aag ggc cca tog gtc ttc 384
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
ccc ctg gca ccc tcc tcc aag agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg 432
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
ggc tgc ctg gtc aag gac tac ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tog tgg 480
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145		150		155		160	
aac tca ggc gcc ctg acc agc ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta	528						
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu							
		165		170		175	
cag tcc tca gga ctc tac tcc ott agt agc gtg gtg acc gtg ccc tcc	576						
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser							
		180		185		190	
agc agc ttg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc	624						
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro							
		195		200		205	
agc aac acc aag gtg gac aag aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa	672						
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys							
		210		215		220	
act cac aca tgc cca ccg tgc cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg	720						
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro							
		225		230		235	
gac gtc ttc ctc ttc ccc cca aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc	768						
Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser							
		245		250		255	
cgg acc cct gag gtc aca tgc gtg gtg gtg gac gtg agc gac gaa gac	816						
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Asp							
		260		265		270	
cct gag gtc aag ttc aac tgg tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat	864						
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn							
		275		280		285	
gcc aag aca aag ccg cgg gag gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg	912						
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val							
		290		295		300	
gtc agc gtc ctc acc gtc ctg cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag	960						
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu							
		305		310		315	
tac aag tgc aag gtc tcc aac aaa gcc tgg cca gcc ccc atc gag aaa	1008						
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Trp Pro Ala Pro Ile Glu Lys							
		325		330		335	
acc atc tcc aaa gcc aaa ggg cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc	1056						
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr							
		340		345		350	
ctg ccc cca tcc cgg gat gag ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc	1104						
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr							
		355		360		365	
tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag	1152						
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu							
		370		375		380	

agc aat ggg cag ccg gag aac aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg 1200
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

gac tcc gac ggc tcc ttc ttc ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag 1248
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag 1296
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt 1344
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

aaa tga 1350
 Lys

<210> 10
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 10

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 Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ser Val His Trp Phe Arg Lys Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45

Gly Gly Ile Trp Ser Gly Gly Ser Ile His Tyr Thr Pro Ala Leu Ser
 50 55 60

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

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Tyr Asp Arg Tyr Glu Thr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

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

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 11
<211> 657
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ của kháng thể Ig-beta ở người

<220>
<221> CDS
<222> (1).. (657)

<400> 11
gac atc gtg ctg acc cag tcc ccc tcc agc ctg tcc gcc tct gtg ggc 48
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
gac aga gtg acc atc aca tgc aag gcc tcc cag tcc gtg gac tac gac 96
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30
ggc gac tcc tac atg aac tgg tat cag cag aag ccc ggc aag gcc ccc 144

Gly	Asp	Ser	Tyr	Met	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	
		35					40					45				
aag	ctg	ctg	atc	tac	gcc	gcc	tcc	aac	ctg	gaa	tcc	ggc	gtg	ccc	tcc	192
Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Ala	Ala	Ser	Asn	Leu	Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	
	50					55				60						
aga	ttc	tcc	ggc	tcc	ggc	tct	ggc	acc	gac	ttc	acc	ctg	acc	atc	tcc	240
Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	
65					70					75					80	
agc	ctg	cag	ccc	gag	gac	ttc	gcc	acc	tac	tac	tgc	cag	cag	tcc	aac	288
Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ser	Asn	
				85					90					95		
gag	gac	ccc	ctg	acc	ttc	ggc	cag	ggc	acc	aag	gtg	gaa	atc	aag	cgt	336
Glu	Asp	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	
		100						105					110			
acg	gtg	gct	gca	cca	tct	gtc	ttc	atc	ttc	cgc	cca	tct	gat	gag	cag	384
Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	
		115					120					125				
ttg	aaa	tct	gga	act	gcc	tct	gtt	gtg	tgc	ctg	ctg	aat	aac	ttc	tat	432
Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	
	130					135					140					
ccc	aga	gag	gcc	aaa	gta	cag	tgg	aag	gtg	gat	aac	gcc	ctc	caa	tcg	480
Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	
145					150					155					160	
ggt	aac	tcc	cag	gag	agt	gtc	aca	gag	cag	gac	agc	aag	gac	agc	acc	528
Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	
				165					170					175		
tac	agc	ctc	agc	agc	acc	ctg	acg	ctg	agc	aaa	gca	gac	tac	gag	aaa	576
Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	
			180					185					190			
cac	aaa	gtc	tac	gcc	tgc	gaa	gtc	acc	cat	cag	ggc	ctg	agc	tcg	ccc	624
His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	
		195					200					205				
gtc	aca	aag	agc	ttc	aac	agg	gga	gag	tgt	tag						657
Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys							
	210					215										

<210> 12
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 12

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

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

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

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

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 13
 <211> 450
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Human Ig-beta-Flag fusion gene

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (447)

<400> 13
 gcc aga tgc gag gac cgg tac cgg aat ccc aaa ggt agt gct tgt tgc 48
 Ala Arg Ser Glu Asp Arg Tyr Arg Asn Pro Lys Gly Ser Ala Cys Ser
 1 5 10 15
 cgg atc tgg cag agc cca cgt ttc ata gcc agg aaa cgg ggc ttc acg 96
 Arg Ile Trp Gln Ser Pro Arg Phe Ile Ala Arg Lys Arg Gly Phe Thr
 20 25 30
 gtg aaa atg cac tgc tac atg aac agc gcc tcc ggc aat gtg agc tgg 144
 Val Lys Met His Cys Tyr Met Asn Ser Ala Ser Gly Asn Val Ser Trp
 35 40 45
 ctc tgg aag cag gag atg gac gag aat ccc cag cag ctg aag ctg gaa 192
 Leu Trp Lys Gln Glu Met Asp Glu Asn Pro Gln Gln Leu Lys Leu Glu
 50 55 60
 aag ggc cgc atg gaa gag tcc cag aac gaa tct ctc gcc acc ctc acc 240
 Lys Gly Arg Met Glu Glu Ser Gln Asn Glu Ser Leu Ala Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 atc caa ggc atc cgg ttt gag gac aat ggc atc tac ttc tgt cag cag 288
 Ile Gln Gly Ile Arg Phe Glu Asp Asn Gly Ile Tyr Phe Cys Gln Gln
 85 90 95
 aag tgc aac aac acc tgc gag gtc tac cag ggc tgc ggc aca gag ctg 336
 Lys Cys Asn Asn Thr Ser Glu Val Tyr Gln Gly Cys Gly Thr Glu Leu
 100 105 110
 cga gtc atg gga ttc agc acc ttg gca cag ctg aag cag agg aac acg 384
 Arg Val Met Gly Phe Ser Thr Leu Ala Gln Leu Lys Gln Arg Asn Thr
 115 120 125
 ctg aag gat tgc tca gca gac ctg gtt ccg cgc gga tcc gac tac aag 432
 Leu Lys Asp Ser Ser Ala Asp Leu Val Pro Arg Gly Ser Asp Tyr Lys
 130 135 140
 gac gat gac gat aaa tga 450
 Asp Asp Asp Asp Lys
 145

<210> 14
 <211> 453

<212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Monkey Ig-beta-Flag fusion gene

<220>
 <221> CDS
 <222> (1).. (450)

<400> 14
 gcc aaa tca gag gac ctg tac ccg aat ccc aaa ggt agt gct tgt tct 48
 Ala Lys Ser Glu Asp Leu Tyr Pro Asn Pro Lys Gly Ser Ala Cys Ser
 1 5 10 15
 cgg atc tgg cag agc cca cgt ttc ata gcc agg aaa cgg ggc ttc acg 96
 Arg Ile Trp Gln Ser Pro Arg Phe Ile Ala Arg Lys Arg Gly Phe Thr
 20 25 30
 gtg aaa atg cac tgc tac gtg acc aac agc acc ttc agc atc gtg agc 144
 Val Lys Met His Cys Tyr Val Thr Asn Ser Thr Phe Ser Ile Val Ser
 35 40 45
 tgg ctc cgg aag cgg gag acg gac aag gag ccc caa cag gtg aac ctg 192
 Trp Leu Arg Lys Arg Glu Thr Asp Lys Glu Pro Gln Gln Val Asn Leu
 50 55 60
 gag cag ggc cac atg cat cag acc caa aac agc tct gtc acc acc ctc 240
 Glu Gln Gly His Met His Gln Thr Gln Asn Ser Ser Val Thr Thr Leu
 65 70 75 80
 atc atc caa gac atc cgg ttt gag gac aac ggc atc tac ttc tgt cag 288
 Ile Ile Gln Asp Ile Arg Phe Glu Asp Asn Gly Ile Tyr Phe Cys Gln
 85 90 95
 cag gag tgc agc aag acc tcg gag gtc tac cgg ggc tgc ggc acg gag 336
 Gln Glu Cys Ser Lys Thr Ser Glu Val Tyr Arg Gly Cys Gly Thr Glu
 100 105 110
 ctg cga gtc atg ggg ttc agc acc ttg gca cag ctg aag cag agg aac 384
 Leu Arg Val Met Gly Phe Ser Thr Leu Ala Gln Leu Lys Gln Arg Asn
 115 120 125
 acg ctg aag gat tcg tca gca gac ctg gtt ccg cgc gga tcc gac tac 432
 Thr Leu Lys Asp Ser Ser Ala Asp Leu Val Pro Arg Gly Ser Asp Tyr
 130 135 140
 aag gac gat gac gat aaa tga 453
 Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 145 150

<210> 15
 <211> 1350
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nặng của kháng thể Ig-beta ở người

<220>

<221> CDS

<222> (1).. (1350)

<400> 15

gag	gtg	cag	atg	gtg	gaa	tcc	ggc	gga	ggc	ctg	gtg	cag	cct	ggc	ggc	48
Glu	Val	Gln	Met	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
1				5					10					15		

tct	ctg	aga	ctg	tcc	tgc	gcc	gtg	tcc	ggc	ttc	agc	ctg	tcc	tcc	tac	96
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Ser	Ser	Tyr	
			20					25					30			

tcc	gtg	cac	tgg	gtc	cga	cag	gcc	cct	ggc	aag	gga	ctg	gaa	tgg	gtg	144
Ser	Val	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
		35					40					45				

gcc	ggc	att	tgg	agc	ggc	ggc	tcc	atc	cac	tac	acc	cct	gcc	ctg	tcc	192
Ala	Gly	Ile	Trp	Ser	Gly	Gly	Ser	Ile	His	Tyr	Thr	Pro	Ala	Leu	Ser	
	50					55					60					

tcc	cgg	ttc	acc	gtg	tcc	cgg	gac	gac	tcc	aag	aac	acc	gtg	tac	ctg	240
Ser	Arg	Phe	Thr	Val	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	
65					70					75					80	

cag	atg	aac	tcc	ctg	cgg	gcc	gag	gac	acc	gcc	gtg	tac	tac	tgc	gcc	288
Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	
				85					90					95		

cgc	tac	gac	aga	tac	gag	aca	tac	gcc	atg	gac	tac	tgg	ggc	cag	ggc	336
Arg	Tyr	Asp	Arg	Tyr	Glu	Thr	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	
			100					105					110			

acc	ctg	gtg	aca	gtg	tcc	tcc	gcc	tcc	acc	aag	ggc	ccc	tcc	gtg	ttc	384
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
		115					120					125				

cct	ctg	ggc	ccc	tcc	agc	aag	tcc	acc	tct	ggc	ggc	acc	gct	ggc	ctg	432
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	
	130					135					140					

ggc	tgc	ctg	gtg	aaa	gac	tac	ttc	ccc	gag	ccc	gtg	acc	gtg	tcc	tgg	480
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	
145					150					155					160	

aac	tct	ggc	ggc	ctg	acc	tcc	ggc	gtg	cac	acc	ttc	cct	ggc	gtg	ctg	528
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	
				165				170						175		

cag	tcc	tcc	ggc	ctg	tac	tcc	otg	tcc	agc	gtg	gtg	acc	gtg	ccc	tcc	576
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	
			180					185					190			

agc tct ctg ggc acc cag acc tac atc tgc aac gtg aac cac aag ccc Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro 195 200 205	624
tcc aac acc aag gtg gac aag aag gtg gaa ccc aag tcc tgc gac aag Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys 210 215 220	672
acc cac acc tgt ccc cct tgc cct gcc cct gag ctg ctg ggc gga ccc Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro 225 230 235 240	720
gat gtg ttt ctg ttc ccc cca aag ccc aag gac acc ctg atg atc tcc Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser 245 250 255	768
cgg acc ccc gaa gtg acc tgc gtg gtg gtg gac gtg tcc gac gag gac Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Asp 260 265 270	816
cct gaa gtg aag ttc aat tgg tac gtg gac ggc gtg gaa gtg cac aac Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn 275 280 285	864
gcc aag acc aag ccc aga gag gaa cag tac aac tcc acc tac cgg gtg Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val 290 295 300	912
gtg tcc gtg ctg acc gtg ctg cac cag gac tgg ctg aac ggc aaa gaa Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu 305 310 315 320	960
tac aag tgc aag gtt tcc aac aag gcc tgg cct gcc ccc atc gaa aag Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Trp Pro Ala Pro Ile Glu Lys 325 330 335	1008
acc atc tcc aag gcc aag ggc cag ccc cgc gag ccc cag gtg tac acc Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr 340 345 350	1056
ctg ccc cct agc cgg gac gag ctg acc aag aac cag gtg tcc ctg acc Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr 355 360 365	1104
tgt ctg gtg aaa ggc ttc tac ccc tcc gat atc gcc gtg gaa tgg gag Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu 370 375 380	1152
tcc aac ggc cag ccc gag aac aac tac aag acc acc ccc cct gtg ctg Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu 385 390 395 400	1200
gac tcc gac ggc tca ttc ttc ctg tac tcc aag ctg acc gtg gac aag Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys 405 410 415	1248

tcc	cgg	tgg	cag	cag	ggc	aac	gtg	ttc	tcc	tgc	tcc	gtg	atg	cac	gag	1296
Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	
			420					425					430			
gcc	ctg	cac	aat	cac	tac	acc	cag	aag	tcc	ctg	tcc	ctg	agc	ccc	ggc	1344
Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	
		435					440					445				
aag	tga															1350
Lys																

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng gồm có CDR1 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 31 đến 35 của SEQ ID NO: 2, CDR2 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 50 đến 65 của SEQ ID NO: 2 và CDR3 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 98 đến 108 của SEQ ID NO: 2, vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm CDR1 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 24 đến 38 của SEQ ID NO: 4, CDR2 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 54 đến 60 của SEQ ID NO: 4 và CDR3 chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 93 đến 101 của SEQ ID NO: 4, và vùng ổn định chuỗi nặng là vùng ổn định Ig γ 1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W.

2. Kháng thể kháng Ig β ở người theo điểm 1, trong đó kháng thể này được chọn từ nhóm chỉ gồm các phân tử (1) đến (4) sau đây:

(1) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 119 của SEQ ID NO: 6, vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 112 của SEQ ID NO: 8, và vùng ổn định chuỗi nặng là vùng ổn định Ig γ 1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W;

(2) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 119 của SEQ ID NO: 2, vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 112 của SEQ ID NO: 4, và vùng ổn định chuỗi nặng là vùng ổn định Ig γ 1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W;

(3) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 119 của SEQ ID NO: 10, vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 112 của SEQ ID NO: 12, và vùng ổn định chuỗi nặng là vùng ổn định Ig γ 1 ở người có các dạng đột biến axit amin S239D, H268D và L328W; và

(4) kháng thể kháng Ig β ở người mà có nguồn gốc từ biến đổi sau dịch mã của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần bất kỳ trong số các phân tử (1) đến (3) trên đây, trong đó biến đổi sau dịch mã được chọn từ sự chia cắt của lysin ở đầu tận cùng

C của chuỗi nặng bởi carboxypeptidaza; sự biến đổi của glutamin hoặc axit glutamic ở đầu tận cùng N của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ thành axit pyroglutamic bằng cách pyroglutamyl hóa; glycosyl hóa; oxy hóa; khử amin; và glyxyl hóa.

3. Kháng thể kháng Ig β ở người theo điểm 2, trong đó kháng thể này được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ (1) đến (4) sau đây:

(1) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8;

(2) kháng thể kháng Ig β bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4;

(3) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12; và

(4) kháng thể kháng Ig β ở người mà có nguồn gốc từ biến đổi sau dịch mã của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần bất kỳ trong số các phần từ (1) đến (3) trên đây, trong đó biến đổi sau dịch mã được chọn từ sự chia cắt của lysin ở đầu tận cùng C của chuỗi nặng bởi carboxypeptidaza; sự biến đổi của glutamin hoặc axit glutamic ở đầu tận cùng N của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ thành axit pyroglutamic bằng cách pyroglutamyl hóa; glycosyl hóa; oxy hóa; khử amin; và glyxyl hóa.

4. Kháng thể kháng Ig β ở người theo điểm 3, trong đó kháng thể này được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ (1) đến (6) sau đây:

(1) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8;

(2) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 6 trong đó glutamin của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8;

(3) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4;

(4) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO:2 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO:4;

(5) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12; và

(6) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO:10 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO:12.

5. Kháng thể kháng Ig β ở người theo điểm 4, trong đó kháng thể này là kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8.

6. Kháng thể kháng Ig β ở người theo điểm 4, trong đó kháng thể này là kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 6 trong đó glutamin của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO:8.

7. Polynucleotit chỉ gồm các phần từ (1) và (2) sau đây:

(1) polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần (1) đến (3) của điểm 2; và

(2) polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần (1) đến (3) của điểm 2.

8. Polynucleotit chỉ gồm các phần từ (1) và (2) sau đây:

(1) polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo điểm 5; và

(2) polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo điểm 5.

9. Vector biểu hiện bao gồm phần (1) và/hoặc phần (2) sau đây:

(1) polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần (1) đến (3) của điểm 2; và/hoặc

(2) polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần (1) đến (3) của điểm 2.

10. Vector biểu hiện bao gồm phần (1) và/hoặc phần (2) sau đây:

(1) polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo điểm 5; và/hoặc

(2) polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo điểm 5.

11. Tế bào vật chủ được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ (a) đến (d) sau đây:

(a) tế bào vật chủ bao gồm vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần từ (1) đến (3) của điểm 2 và polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể;

(b) tế bào vật chủ bao gồm vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần từ (1) đến (3) của điểm 2 và vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể;

(c) tế bào vật chủ bao gồm vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần từ (1) đến (3) của điểm 2; và

(d) tế bào vật chủ bao gồm vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần từ (1) đến (3) của điểm 2.

12. Tế bào vật chủ được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ (a) đến (d) sau đây:

(a) tế bào vật chủ bao gồm vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo điểm 5 và polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể;

(b) tế bào vật chủ bao gồm vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo điểm 5 và vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể;

(c) tế bào vật chủ bao gồm vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo điểm 5; và

(d) tế bào vật chủ bao gồm vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng Ig β ở người theo điểm 5.

13. Phương pháp sản xuất kháng thể kháng Ig β ở người, phương pháp này bao gồm việc nuôi cấy (các) tế bào vật chủ được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ (a) đến (c) sau để biểu hiện kháng thể kháng Ig β ở người:

(a) tế bào vật chủ bao gồm vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần từ (1) đến (3) của điểm 2 và polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể;

(b) tế bào vật chủ bao gồm vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần từ (1) đến (3) của điểm (2) và vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể; và

(c) tế bào vật chủ bao gồm vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo phần từ (1) đến (3) của điểm 2 và tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể.

14. Phương pháp sản xuất kháng thể kháng Ig β ở người, phương pháp này bao gồm việc nuôi cấy (các) tế bào vật chủ được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ (a) đến (c) sau để biểu hiện kháng thể kháng Ig β ở người:

(a) tế bào vật chủ bao gồm vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo điểm 5 và polynucleotit bao gồm trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể;

(b) tế bào vật chủ bao gồm vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo điểm 5 và vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể; và

(c) tế bào vật chủ bao gồm vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng Ig β ở người theo điểm 5 và tế bào vật chủ được biến nạp bằng vector biểu hiện bao gồm polynucleotit gồm có trình tự bazơ mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể.

15. Dược phẩm bao gồm kháng thể kháng Ig β ở người được chọn từ nhóm chỉ gồm các phần từ (a) đến (c) sau, và tá dược được dụng:

(a) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8, và/hoặc kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 6 trong đó glutamin của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8;

(b) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4, và/hoặc kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 2 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4; và

(c) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12, và/hoặc kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 12.

16. Dược phẩm theo điểm 15, trong đó dược phẩm này bao gồm:

(1) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện với SEQ ID NO: 6 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8; và/hoặc

(2) kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 6 trong đó glutamin của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8.

17. Kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6 và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8, và/hoặc kháng thể kháng Ig β ở người bao gồm chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có số axit amin từ 1 đến 448 của SEQ ID NO: 6 trong đó glutamin của axit amin số 1 được biến đổi thành axit pyroglutamic và chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8 để sử dụng trong phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh tự miễn dịch.

18. Kháng thể kháng Ig β ở người theo điểm 2, trong đó kháng thể này (i) ở dạng được dung hợp của kháng thể và peptit hoặc protein khác, hoặc (ii) là kháng thể mà tác nhân biến đổi được liên kết với nó (dạng được biến đổi), trong đó hoạt tính liên kết của dạng được dung hợp hoặc dạng được biến đổi của kháng thể không bị giảm, trong đó tác nhân biến đổi được chọn từ polyetylen glycol, các chuỗi đường, các phospholipit, các liposom (thể mỡ), các hợp chất phân tử thấp.

19. Kháng thể kháng Ig β ở người được sản xuất bởi phương pháp theo điểm 13 hoặc 14.

1/3

Fig. 1

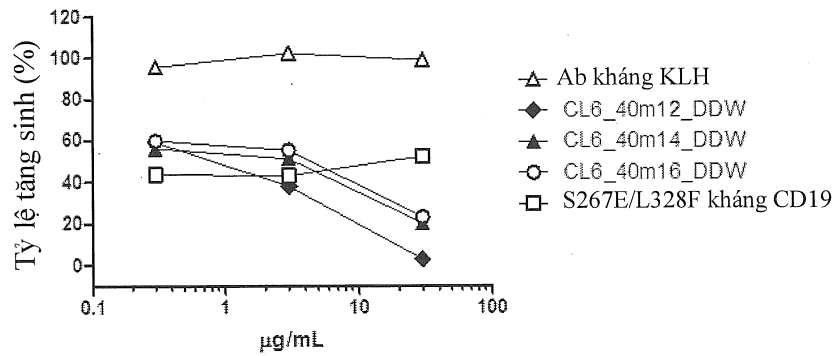


Fig. 2

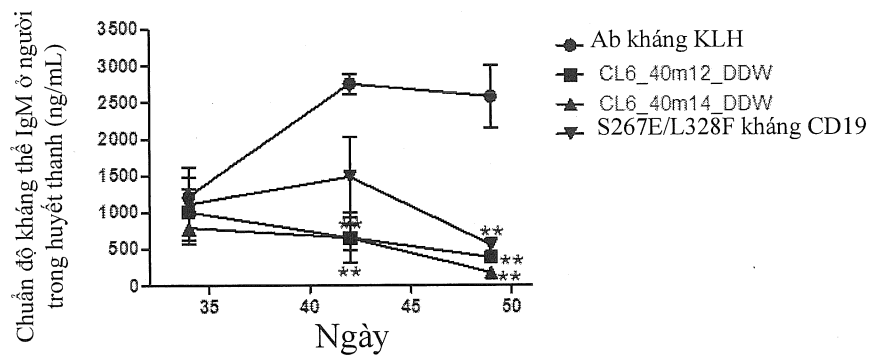


Fig. 3

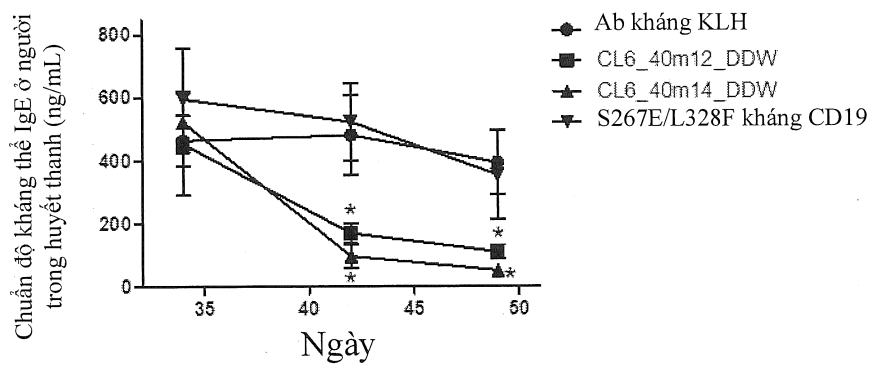


Fig. 4

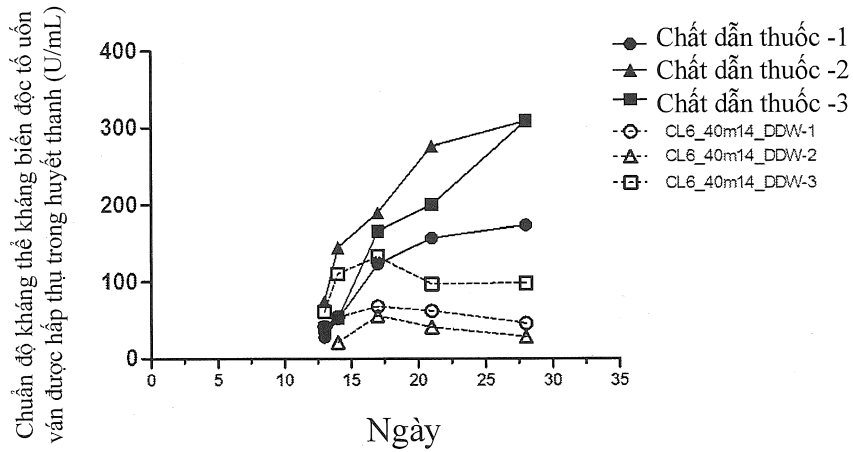


Fig. 5

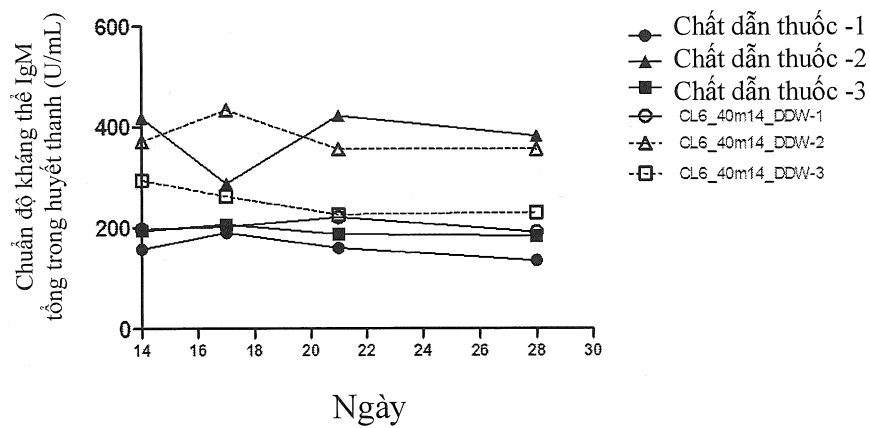


Fig. 6

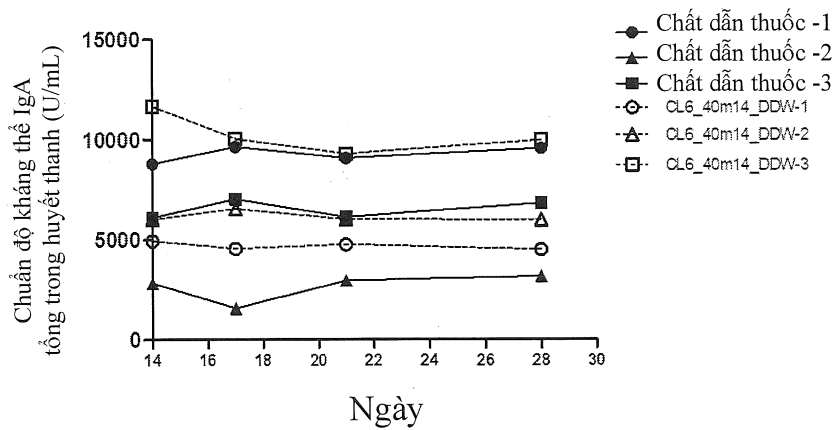


Fig. 7

