



(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)



1-0034240

(51)⁸ A61K 38/21; C12N 15/21; C07K 14/56; (13) B
C07K 16/28; A61K 39/395; A61P 39/00

(21) 1-2017-01898

(22) 23/10/2015

(86) PCT/AU2015/050654 23/10/2015

(87) WO2016/065409 06/05/2016

(30) 2014904326 29/10/2014 AU

(45) 26/12/2022 417

(43) 25/08/2017 353A

(73) TEVA PHARMACEUTICALS AUSTRALIA PTY LTD (AU)

Level 2, 37 Epping Road, Macquarie Park, New South Wales 2113, Australia

(72) BEHRENS, Collette (AU); DOYLE, Anthony (AU); CLARKE, Adam (AU);
POLLARD, Matthew (AU); DOMAGALA, Teresa (AU).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) POLYPEPTIT DUNG HỢP CHỨA CÁC BIẾN THỂ INTERFERON $\alpha 2B$ ĐƯỢC
AGLYCOSYL HÓA, CHẾ PHẨM CHỨA POLYPEPTIT NÀY VÀ PHƯƠNG
PHÁP TẠO RA POLYPEPTIT DUNG HỢP NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến polypeptit dung hợp chứa miền thứ nhất và miền thứ hai, trong đó miền thứ nhất chứa phối tử polypeptit mà gắn kết với kháng nguyên kết hợp với bề mặt tế bào và miền thứ hai chứa interferon $\alpha 2b$ được aglycosyl hóa (IFN $\alpha 2b$) có trình tự SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2. IFN $\alpha 2b$ được aglycosyl hóa còn chứa một hoặc nhiều sự thể hoặc xóa bỏ axit amin mà làm suy yếu hoạt tính của IFN $\alpha 2b$ được aglycosyl hóa.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các polypeptit chứa các phối tử hướng đích là các kháng nguyên bề mặt tế bào và interferon α 2b được aglycosyl hóa (IFN α 2b) và việc sử dụng các polypeptit này trong điều trị bệnh ung thư.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Nhiều phân tử peptit và polypeptit đã được mô tả là thực hiện chức năng bằng cách tương tác với thụ thể trên bề mặt tế bào, và nhờ đó kích thích, ức chế, hoặc cách khác là điều biến đáp ứng sinh học, thường tham gia vào con đường dẫn truyền tín hiệu bên trong tế bào mà mang thụ thể đã nêu. Ví dụ về các phân tử như vậy bao gồm các hormon peptit và polypeptit, xytokin, chemokin, các yếu tố sinh trưởng, các yếu tố gây ra sự chết tế bào theo chương trình và các yếu tố tương tự. Các phân tử này có thể hoặc là hòa tan hoặc là có thể được gắn vào bề mặt của tế bào khác.

Do có hoạt tính sinh học, nhiều phân tử trong số các phân tử này có các ứng dụng tiềm năng làm các chất trị liệu. Một số phân tử peptit hoặc polypeptit đã được phê chuẩn bởi các nhà chức trách làm các sản phẩm trị liệu bao gồm, ví dụ, các hormon sinh trưởng dùng cho người, insulin, interferon IFN α 2b, IFN α 2a, IFN β , erythropoietin, G-CSF và GM-CSF. Nhiều phân tử trong số này và các peptit khác đã được chứng minh là có tiềm năng trong các ứng dụng trị liệu, nhưng chúng cũng có độc tính khi được dùng cho người bệnh. Một nguyên nhân gây ra độc tính là ở chỗ hầu hết các phân tử này tác động đến các thụ thể trên các tế bào khác nhau, bao gồm cả các tế bào khác ngoài các tế bào gián tiếp tạo ra hiệu quả trị liệu. Ví dụ, nếu IFN α 2b được dùng để điều trị bệnh đa u tủy thì tính hữu dụng của nó nằm, ít nhất một phần, ở việc gắn kết của nó với các thụ thể interferon typ I trên các tế bào u tủy, trong đó các thụ thể này khơi mào sự giảm tăng sinh và do đó hạn chế sự tiến triển của bệnh. Tuy nhiên, không may là IFN này cũng gắn kết với nhiều tế bào bình thường khác trong cơ thể, khơi mào nhiều đáp ứng tế bào khác, mà một số trong chúng là có hại (ví dụ, các triệu chứng giống như cúm, sự

giảm bạch cầu trung tính, suy nhược). Hậu quả của hoạt tính “sai đích” của các peptit là ở chỗ nhiều peptit không thích hợp làm thuốc. Trong trường hợp này, “hoạt tính sai đích” được dùng để chỉ hoạt tính đối với thụ thể tự nhiên của peptit, nhưng trên bề mặt của các tế bào khác các tế bào mà gián tiếp tạo ra hiệu quả điều trị có lợi.

Mặc dù một số peptit, như IFN α 2b, đã được phê chuẩn để điều trị các tình trạng bệnh lý, nhưng chúng vẫn kém dung nạp do hoạt tính sinh học “sai đích” của chúng. Hoạt tính sai đích và khả năng dung nạp kém kết hợp cũng có nghĩa là một số trong số các thuốc trên cơ sở peptit này không thể dùng được ở liều lượng đủ cao để tạo ra hiệu quả điều trị tối ưu đối với các tế bào đích là các tế bào mà gián tiếp tạo ra hiệu quả điều trị.

Tương tự, từ giữa những năm 1980 đã biết rằng các interferon, cụ thể là IFN α , có khả năng làm gia tăng sự chết tế bào theo chương trình và làm giảm sự tăng sinh của một số tế bào ung thư nhất định. Các hoạt tính sinh học này được gián tiếp tạo ra bởi các thụ thể interferon typ I trên bề mặt của tế bào ung thư mà, khi được kích thích, sẽ khởi đầu các con đường dẫn truyền tín hiệu khác nhau dẫn đến sự giảm tăng sinh và/hoặc sự cảm ứng biệt hóa cuối cùng hoặc sự chết tế bào theo chương trình. IFN α đã được phê chuẩn bởi FDA để điều trị một số bệnh ung thư bao gồm u melanin, caxinom tế bào thận, u lympho tế bào B, đa u tủy, bệnh bạch cầu tủy mạn tính (chronic myelogenous leukemia - CML) và bệnh bạch cầu tế bào lông. Tác động "trực tiếp" của IFN α đối với các tế bào khối u được trung gian bởi sự gắn kết IFN α trực tiếp với thụ thể IFN typ I trên các tế bào này và sự kích thích sự chết tế bào theo chương trình, sự biệt hóa cuối cùng, hoặc sự giảm tăng sinh. Một tác động “gián tiếp” của IFN α đối với các tế bào không ung thư là làm kích thích hệ miễn dịch, điều này có thể tạo ra tác dụng chống ung thư bổ sung bằng cách khiến cho hệ miễn dịch loại bỏ khối u này.

Không may là, thụ thể interferon typ I cũng có mặt ở hầu hết các tế bào không ung thư. Sự hoạt hóa thụ thể này trên các tế bào không ung thư này bởi IFN α gây ra sự biểu hiện của nhiều xytokin và chemokin tiền viêm, dẫn đến độc tính. Độc tính này ngăn cản việc cho đối tượng sử dụng liều lượng IFN α ở mức tạo ra được hoạt tính chống tăng sinh và tiền- chết tế bào theo chương trình tối đa đối với các tế bào ung thư.

Ozzello *et al.* (Breast Cancer Research and Treatment 25:265-76, 1993) đã mô tả sự liên kết cộng hóa trị của IFN α của người với kháng thể hướng đích khối u, nhờ đó ấn định hoạt tính ức chế trực tiếp của IFN α đối với khối u bằng cách làm giảm tốc độ sinh trưởng khối u, và chứng minh rằng các thể liên hợp này có hoạt tính chống khối u trong mô hình ghép khác loài của bệnh ung thư ở người. Cơ chế của hoạt tính chống ung thư quan sát được được cho là do tác dụng trực tiếp của IFN α lên tế bào ung thư, do IFN α của người được sử dụng trong các thí nghiệm không tương tác đáng kể với thụ thể IFN typ I của chuột, mà có thể dẫn đến tác dụng chống ung thư gián tiếp. Tuy nhiên, do không có sự gắn kết của IFN α của người với các tế bào của chuột, các tác giả này không thể đánh giá độc tính của thể liên hợp kháng thể-IFN α so với IFN α tự do. Các tác giả này đã sử dụng phương pháp hóa học để liên kết IFN α với kháng thể.

Alkan *et al.*, (Journal of Interferon Research, volume 4, number 3, p. 355-63, 1984) đã chứng minh rằng sự liên kết của IFN α của người với kháng thể mà gắn kết với kháng nguyên màng (membrane antigen - MA) virus Epstein-Barr (Epstein-Barr virus - EBV) làm gia tăng các hoạt tính chống tăng sinh của nó đối với các tế bào mà biểu hiện kháng nguyên EBV-MA. Hiệu lực gia tăng này là phụ thuộc cả vào sự biểu hiện kháng nguyên bởi các tế bào đích và tính đặc hiệu gắn kết của kháng thể. Dòng tế bào được thử nghiệm là dòng tế bào ung thư QIMR-WIL, bệnh bạch cầu nguyên tủy bào. Các tác giả này đã gợi ý rằng sự liên kết của IFN α với kháng thể có thể được sử dụng như là cách điều trị bệnh ung thư vì nó sẽ làm giảm sự tăng trưởng khối u. Alkan *et al* không nhắc đến độc tính tiềm tàng của các thể liên hợp kháng thể-IFN α này nảy sinh từ các tương tác của chúng với với các tế bào bình thường âm tính với kháng nguyên.

Cũng đã biết rằng liên kết giữa kháng thể và IFN α có thể được thực hiện bằng cách tạo ra cấu trúc protein dung hợp. Ví dụ, IDEC (WO01/97844) đã bộc lộ sự dung hợp trực tiếp của IFN α của người với đầu tận cùng C của chuỗi nặng của IgG hướng đích kháng nguyên khối u CD20. Các nhóm khác đã bộc lộ việc sử dụng các nhóm liên kết khác giữa đầu tận cùng C của chuỗi nặng IgG và IFN α . Ví dụ, US 7,456,257 đã bộc lộ rằng đầu tận cùng C của vùng hằng định chuỗi nặng kháng thể có thể được kết nối với IFN α thông qua nhóm liên kết giàu serin-glyxin (S/G) xen giữa có trình tự (GGGGS) $_n$, trong đó n có thể là 1, 2 hoặc 3, và bộc lộ rằng không có khác biệt đáng kể

về hoạt tính IFN α của cấu trúc protein dung hợp bất kể độ dài nhóm liên kết.

Morrison *et al.* (US2011/0104112 A1; and Xuan C, Steward KK, Timmerman JM, Morrison SL. Targeted delivery of interferon- α via fusion to anti-CD20 results in potent antitumor activity against B-cell lymphoma. Blood 2010;115:2864–71) cũng đã bộc lộ IFN α được liên kết với đầu tận cùng -C của chuỗi nặng của kháng thể IgG hướng đích ung thư, với nhóm liên kết S/G xen giữa, và đã thấy rằng sự dung hợp của IgG và nhóm liên kết với IFN α làm giảm hoạt tính của IFN α đối với các tế bào mà không biểu hiện kháng nguyên tương ứng trên bề mặt tế bào này. Hoạt tính IFN giảm của các cấu trúc protein dung hợp này là vừa phải khi so với sự tác động protein IFN α không dung hợp của người (IFN α tự do) đối với các tế bào người, nhưng thể hiện là đáng kể hơn đối với IFN α của chuột đối với các tế bào chuột. Sự giảm hoạt tính của IFN α của người mà do sự dung hợp nó với đầu tận cùng C của kháng thể, như Morrison *et al* thấy được, và trong US 7,456,257, là vừa phải và thường được xem như là nhược điểm vì nó làm giảm hiệu lực của IFN. Nhược điểm này được chỉ ra, ví dụ, bởi Rossi *et al* (Blood vol. 114, No. 18, pp3864-71), tác giả này đã sử dụng chiến lược khác liên kết IFN α với kháng thể hướng đích khối u theo cách mà không thấy có sự mất mát hoạt tính IFN α .

Nói chung, lĩnh vực kỹ thuật này đã chỉ ra việc sử dụng IFN có hiệu lực và hướng đích IFN này đến các tế bào ung thư. Mặc dù phương pháp này dẫn đến sự gia tăng hoạt tính của IFN đối với tế bào ung thư, nhưng nó không giải quyết được vấn đề về hoạt tính của IFN đối với các tế bào "sai đích" bình thường. Trong các ví dụ trong lĩnh vực này được nêu trên đây, phần IFN α của người của protein dung hợp kháng thể-IFN α vẫn duy trì tỷ lệ hoạt tính IFN α tự nhiên cao khi tiếp xúc với các tế bào người mà không biểu hiện kháng nguyên tương ứng trên bề mặt tế bào của chúng. Hoạt tính này có thể dẫn đến độc tính nảy sinh từ sự hoạt hóa các tế bào không ung thư, bình thường ("sai đích") bởi phần IFN α của protein dung hợp. Do đó, cần làm giảm hoạt tính "sai đích" của thuốc trên cơ sở INF, đồng thời duy trì được tác dụng trị liệu "tại đích" của các thuốc này. Việc duy trì hoạt tính đặc hiệu đối với đích và đồng thời giảm độc tính không hướng đích của các loại tác nhân trị liệu này sẽ tạo ra khoảng nồng độ trị liệu lớn hơn đối với các peptit hữu dụng trong trị liệu. Ví dụ, sẽ mong muốn là sử dụng IFN α của người dưới dạng sao cho hoạt tính của nó có thể được hướng đến các tế bào ung thư

trong khi tối thiểu hóa các tác động của nó đến các tế bào bình thường của người. Lý tưởng là, thụ thể interferon typ I trên các tế bào ung thư sẽ được kích thích tối đa, trong khi thụ thể này trên các tế bào không ung thư sẽ trải qua sự kích thích tối thiểu. Cần hướng đích IFN α của người đến các tế bào ung thư theo cách mà nó có hoạt tính đặc biệt nhiều hơn đối với các tế bào ung thư, mà thể hiện kháng nguyên, so với các tế bào bình thường, mà không thể hiện kháng nguyên. Logic tương tự cũng áp dụng cho các phân tử trị liệu tiềm năng khác, ví dụ, các xytokin khác, các hormon peptit và polypeptit, các chemokin, các yếu tố sinh trưởng, các yếu tố gây ra sự chết tế bào theo chương trình, và các yếu tố tương tự.

Logic của phương pháp này đã được chứng minh trong WO 2013/059885, và WO 2014/178820, phần bộc lộ của mỗi công bố đơn này được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn chéo.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất polypeptit dung hợp chứa miền thứ nhất và miền thứ hai, trong đó miền thứ nhất chứa phối tử polypeptit mà gắn kết với kháng nguyên kết hợp với bề mặt tế bào và miền thứ hai chứa interferon α 2b được aglycosyl hóa của người (IFN α 2b) có trình tự SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2 và trong đó IFN α 2b được aglycosyl hóa còn chứa một hoặc nhiều sự thể hoặc xóa bỏ axit amin mà làm suy yếu hoạt tính của IFN α 2b được aglycosyl hóa.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit dung hợp chứa trình tự được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 31, 61 đến 77, 83 và 87, và trình tự được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 81, 82 và 84.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit dung hợp chứa SEQ ID NO: 87 và SEQ ID NO: 81.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit dung hợp chứa SEQ ID NO: 79 và SEQ ID NO: 85.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit dung hợp chứa SEQ ID NO: 80 và SEQ ID NO: 86.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit dung hợp chứa SEQ ID NO: 78.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa polypeptit dung hợp theo sáng chế và chất mang hoặc chất pha loãng được dụng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị khối u ở đối tượng bao gồm việc cho đối tượng này dùng polypeptit dung hợp theo sáng chế hoặc chế phẩm theo sáng chế trong đó miền thứ nhất của polypeptit dung hợp này gắn kết với các tế bào của khối u.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất việc sử dụng polypeptit dung hợp theo sáng chế để điều trị khối u trong đó miền thứ nhất của polypeptit dung hợp này gắn kết với khối u.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất (các) polynucleotit được phân lập mã hóa (các) polypeptit dung hợp theo sáng chế.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất vectơ chứa một hoặc nhiều polynucleotit theo sáng chế.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất tế bào được biến nạp chứa vectơ theo sáng chế.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra polypeptit dung hợp phối tử polypeptit-IFN α 2b đã suy yếu ở các tế bào động vật có vú, trong đó polypeptit dung hợp phối tử polypeptit-IFN α 2b đã suy yếu này có tính không đồng nhất giảm và/hoặc có sự gắn kết FcRn được tăng cường và/hoặc có tính chọn lọc đích được cải thiện, phương pháp này bao gồm việc nuôi cấy tế bào động vật có vú tái tổ hợp chứa polynucleotit mã hóa polypeptit dung hợp phối tử polypeptit-IFN α 2b đã suy yếu trong đó T106 của trình tự IFN α 2b được thay thế bằng axit amin khác hoặc được xóa bỏ sao cho khi biểu hiện trên các tế bào động vật có vú, thành phần IFN α 2b của protein dung hợp này được aglycosyl hóa.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1: Hoạt tính chống tăng sinh khi xử lý các tế bào (A) ARP1 và (B) NCI-H929 bằng các protein dung hợp dạng kháng CD38-IFN α 2b đã suy yếu dưới dạng IgG1 hoặc IgG4 có và không có sự glycosyl hóa được liên kết với O của IFN α 2b.

Fig.2 A, B, C, D và E: Hoạt tính chống tăng sinh của các protein dung hợp dạng kháng CD38-IFN α 2b đã suy yếu với các sự thể axit amin khác nhau loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O ra khỏi IFN α 2b đã suy yếu.

Fig.3: Các hoạt tính tại đích của các protein dung hợp dạng kháng CD38 (A) A10.21 và (B) A10.43-IFN α 2b đã suy yếu có (T106T) và không có (T106A) sự glycosyl hóa được liên kết với O của IFN α 2b.

Fig.4: Các hoạt tính sai đích của các protein dung hợp dạng kháng CD38 (A) A10.21 và (B) A10.43-IFN α 2b đã suy yếu có (T106T) và không có (T106A) sự glycosyl hóa được liên kết với O của IFN α 2b.

Fig.5: Hoạt tính sai đích bởi các protein dung hợp dạng kháng CD38-IFN α 2b đã suy yếu có (T106T) và không có (T106A hoặc Δ T106) sự glycosyl hóa được liên kết với O của IFN α 2b.

Fig.6: A, B, C, D, E và F: Hoạt tính sai đích của các protein dung hợp dạng kháng CD38-IFN α 2b đã suy yếu với các sự thể axit amin khác nhau loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O ra khỏi IFN α 2b đã suy yếu.

Fig.7: Hoạt tính sai đích của các protein dung hợp dạng kháng CD38 A10.43-IFN α 2b đã suy yếu có (T106T) hoặc không có (T106A) sự glycosyl hóa được liên kết với O của IFN α 2b.

Fig.8: Hiệu lực của các liều cận tối ưu của các protein dung hợp dạng kháng CD38-IFN α 2b đã suy yếu có (T106T) hoặc không có (T106A) sự glycosyl hóa được liên kết với O trong điều trị các khối u ở mô hình chuột bị đa u tủy.

Fig.9: Số lượng các dạng mang điện tích của các protein dung hợp dạng kháng

CD38 A10.21-IFN α 2b đã suy yếu có (T106T) hoặc không có (T106A, Δ T106, T106S, T106V, T106G, T106E) sự glycosyl hóa được liên kết với O của IFN α 2b, như được đánh giá bằng số lượng dải trên gel IEF.

Fig.10: Số lượng các dạng mang điện tích của các protein dung hợp dạng kháng CD38 A10.21-IFN α 2b đã suy yếu có (T106T) hoặc không có (T106A) sự glycosyl hóa được liên kết với O của IFN α 2b và với sự thay đổi các isotyp Fc, như được đánh giá bằng số lượng dải trên gel IEF.

Fig.11: Số lượng các dạng mang điện tích của các protein dung hợp dạng kháng CD38 A10.21 (IgG4 với S228P)-IFN α 2b đã suy yếu có (T106T) hoặc không có (T106A) sự glycosyl hóa được liên kết với O của IFN α 2b với sự có mặt của các sự thể YTE trong vùng hằng định của kháng thể, như được đánh giá bằng số lượng dải trên gel IEF.

Fig.12: Số lượng các dạng mang điện tích của các protein dung hợp dạng kháng CD38 A10.21 (IgG4 với S228P)-IFN α 2b đã suy yếu có (T106T) hoặc không có (T106A) sự glycosyl hóa được liên kết với O của IFN α 2b với sự có mặt của các sự thể làm suy yếu IFN khác nhau, như được đánh giá bằng số lượng dải trên gel IEF.

Fig.13: Số lượng các dạng mang điện tích của các kháng thể với các tính đặc hiệu khác nhau đối với đích; kháng thể kháng CD138, kháng thể kháng HLA và kháng thể kháng CD38 (A02.12) (tất cả đều IgG4 với S228P) được dung hợp với IFN α 2b đã suy yếu có (T106T) hoặc không có (T106A) sự glycosyl hóa được liên kết với O của IFN α 2b, như được đánh giá bằng số lượng dải trên gel IEF.

Fig.14: Hoạt tính "tại đích" của các protein dung hợp dạng kháng CD38-IFN α 2b đã suy yếu (A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D)) có (T106T) và không có (T106A, Δ T106, T106S, T106V, T106G, T106E) sự glycosyl hóa được liên kết với O của IFN α 2b.

Fig.15: Hoạt tính "tại đích" của hai protein dung hợp kháng thể kháng CD38-IFN α 2b đã suy yếu khác nhau (A02.12 và A10.21, cả hai đều IgG4 với S228P) mà gắn kết với các epitop khác nhau trên CD38 có (T106T) hoặc không có (T106A) sự

glycosyl hóa được liên kết với O của IFN α 2b.

Fig.16: Hoạt tính "tại đích" của các protein dung hợp dạng kháng CD38 A10.21-IFN α 2b đã suy yếu (A10.21 IgG4 (S228P) IFN) có (T106T) và không có (T106A) sự glycosyl hóa được liên kết với O của IFN α 2b, với các sự thể làm suy yếu IFN khác nhau (R33A, R144I, R145Q, A145K hoặc A145G).

Fig.17: Hoạt tính "tại đích" của các kháng thể với tính đặc hiệu khác nhau đối với đích; kháng thể kháng CD138 và kháng thể kháng HLA (cả hai đều IgG4 với S228P) được dung hợp với IFN α 2b đã suy yếu có (T106T) hoặc không có (T106A) sự glycosyl hóa được liên kết với O của IFN α 2b.

Fig.18: Hoạt tính "tại đích" của các protein dung hợp dạng kháng CD38 A10.21-IFN α 2b đã suy yếu (A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D)) có (T106T) và không có (T106A) sự glycosyl hóa được liên kết với O của IFN α 2b, với sự có mặt của sự thể YTE trong chuỗi nặng của kháng thể.

Fig.19: Hoạt tính "tại đích" của các protein dung hợp dạng kháng CD38 A10.21-IFN α 2b đã suy yếu (A145D) có (T106T) và không có (T106A) sự glycosyl hóa được liên kết với O của IFN α 2b, với các isotyp Fc globulin miễn dịch khác nhau.

Fig.20: Chỉ số chọn lọc của các protein dung hợp dạng kháng CD38 A10.21-IFN α 2b đã suy yếu có và không có sự glycosyl hóa được liên kết với O của IFN α 2b với sự có mặt của nhiều sự thể axit amin khác nhau để loại bỏ sự glycosyl hóa của IFN, các sự thể YTE trong vùng hằng định của globulin miễn dịch để kéo dài thời gian bán thải, sự làm suy yếu IFN và các isotyp Fc.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trong toàn bộ bản mô tả này, trừ khi văn cảnh yêu cầu cách khác, từ "gồm", hoặc các biến thể của nó như "bao gồm" hoặc "chứa", sẽ được hiểu là chỉ sự kể cả các yếu tố hoặc số nguyên hoặc nhóm các yếu tố hoặc các số nguyên đã nêu mà không loại trừ yếu tố hoặc số nguyên hoặc nhóm các yếu tố hoặc các số nguyên bất kỳ.

Việc viện dẫn trong bản mô tả này đến công bố bất kỳ (hoặc thông tin thu được

từ đó), hoặc đến đối tượng bất kỳ đã biết, không và sẽ không được xem như là sự thừa nhận hoặc sự ghi nhận hoặc dạng gợi ý bất kỳ rằng công bố (hoặc thông tin thu được từ đó) hoặc đối tượng đã biết này tạo ra một phần kiến thức chung thông thường trong lĩnh vực mà bản mô tả này đề cập đến.

Tất cả các công bố được nêu trong bản mô tả này được kết hợp ở đây hoàn toàn bằng cách viện dẫn.

Cần lưu ý rằng, như được sử dụng trong bản mô tả này, dạng số ít “một” và dạng xác định bao gồm cả dạng số nhiều trừ khi ngữ cảnh chỉ rõ theo cách khác. Do đó, ví dụ, việc từ “tác nhân” sẽ gồm cả một tác nhân, cũng như hai hoặc nhiều tác nhân; từ “phân tử” sẽ gồm cả một phân tử, cũng như hai hoặc nhiều phân tử; v.v..

Cấu trúc theo sáng chế là các cấu trúc dung hợp phối tử polypeptit-IFN α 2b aglycosyl hóa đã suy yếu, các cấu trúc này thể hiện chỉ số chọn lọc kháng nguyên gia tăng đối với sự hoạt hóa con đường truyền tín hiệu nhờ tác động của phối tử hướng đích đến thụ thể bề mặt tế bào trên tế bào cần quan tâm và tác động của IFN α 2b đã suy yếu có ái lực giảm đối với thụ thể IFN bề mặt tế bào. Các cấu trúc này dựa trên phát hiện được phác thảo trong WO 2013/059885 rằng, trong trường hợp cấu trúc dung hợp kháng thể-IFN, phần IFN có thể được đột biến theo cách sao cho hoạt tính của IFN trên các tế bào âm tính với kháng nguyên bị làm suy yếu một cách đáng kể, trong khi hoạt tính IFN trên các tế bào dương tính với kháng nguyên chỉ bị làm suy yếu một cách vừa phải. Các cấu trúc như vậy biểu lộ một, hai, ba, bốn hoặc năm mức độ hiệu lực về cường độ đối với các tế bào dương tính với kháng nguyên so với các tế bào âm tính với kháng nguyên lớn hơn so với trường hợp IFN tự do. Theo một phương án, cấu trúc kháng thể-IFN đã suy yếu vẫn có ít nhất 1%, ít nhất 10%, ít nhất 20%, ít nhất 30%, ít nhất 40% hoặc ít nhất 50% hiệu lực đối với các tế bào dương tính với kháng nguyên so với IFN tự do không được làm suy yếu (nghĩa là, không được gắn với kháng thể). Ngoài ra, theo một phương án, cấu trúc, kháng thể-IFN đã suy yếu vẫn có ít nhất 30%, ít nhất 50%, ít nhất 75% hoặc ít nhất 90% hoạt tính tối đa của IFN tự do, không được làm suy yếu (nghĩa là, không được gắn với kháng thể); trong trường hợp này, “hoạt tính tối đa” sẽ được hiểu là lượng hoạt tính truyền tín hiệu (hoặc tác dụng xuôi chiều của nó) ở phần cao, bằng phẳng của đường cong đáp ứng liều, trong đó việc tăng thêm liều

tác nhân không làm tăng thêm lượng đáp ứng).

Các tác giả sáng chế hiện đã phát hiện ra rằng yếu tố có lợi bất ngờ sẽ đạt được bằng cách sử dụng các cấu trúc chứa IFN α 2b được aglycosyl hóa so với các cấu trúc chứa IFN α 2b được O-glycosyl hóa. Theo một số phương án, các yếu tố có lợi này bao gồm một hoặc nhiều yếu tố trong số yếu tố gia tăng hoạt tính tại đích, gia tăng tính chọn lọc đối với đích và tăng cường ái lực đối với FcRn, trong khi tạo ra sản phẩm ít không đồng nhất hơn so với IFN α 2b được O-glycosyl hóa khi được sản sinh trong hệ thống biểu hiện tế bào động vật có vú. Sự tăng cường gắn kết FcRn là mong muốn để cải thiện pK của tác nhân trị liệu sinh học mà chứa vùng Fc. Sự gia tăng tính chọn lọc đối với đích là mong muốn vì nó có khả năng làm giảm độc tính sai đích trong khi về cơ bản là vẫn duy trì hoạt tính tại đích. Sự giảm tính không đồng nhất cho phép gia tăng hiệu suất sản phẩm được tinh chế từ hệ thống nuôi cấy tế bào động vật có vú.

Do đó, theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất polypeptit dung hợp chứa miền thứ nhất và miền thứ hai, trong đó miền thứ nhất chứa phối tử polypeptit mà gắn kết với kháng nguyên kết hợp với bề mặt tế bào và miền thứ hai chứa interferon α 2b được aglycosyl hóa (IFN α 2b) có trình tự SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2, và trong đó IFN α 2b được aglycosyl hóa còn chứa một hoặc nhiều sự thể hoặc xóa bỏ axit amin mà làm suy yếu hoạt tính của IFN α 2b được aglycosyl hóa.

Theo một phương án của sáng chế, trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, V, W hoặc Y. Trình tự này thể hiện sự thể T106 thường có trong IFN α 2b của người với axit amin vốn có, sự thể này không cho phép sự glycosyl hóa được liên kết với O ở vị trí này khi được sản sinh trong môi trường nuôi cấy tế bào động vật có vú. Theo một phương án khác của sáng chế, trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 2. Trình tự này thể hiện sự xóa bỏ gốc T106 được phát hiện trong IFN α 2b bình thường của người, sự xóa bỏ này cũng loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O được phát hiện trong phân tử này. Như được chứng minh ở đây, mỗi sự thể hoặc xóa bỏ đều loại bỏ điểm O-glycosyl hóa ra khỏi IFN α 2b đã suy yếu và làm giảm tính không đồng nhất của phân tử như được đo trong các gel IEF, khi được biểu hiện bởi các tế bào CHO, và trong đó ít nhất là duy trì về cơ bản hoạt tính của IFN α 2b đã suy yếu trong việc gắn kết

với các thụ thể IFN bề mặt tế bào và trong việc khơi mào sự truyền tín hiệu xuôi chiều.

Theo các phương án khác, trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu được chọn từ nhóm gồm L15A, R22A, R23A, S25A, L26A, F27A, L30A, L30V, K31A, D32A, R33A, R33K, R33Q, H34A, Q40A, D114R, L117A, R120A, R120E, R125A, R125E, K131A, E132A, K133A, K134A, M148A, R149A, S152A, L153A, N156A, (L30A, H57Y, E58N và Q61S), (M148A, H57Y, E58N và Q61S), (L153A, H57Y, E58N và Q61S), (R144A, H57Y, E58N và Q61S), (N65A, L80A, Y85A và Y89A,) (N65A, L80A, Y85A, Y89A và D114A), (N65A, L80A, Y85A, Y89A và L117A), (N65A, L80A, Y85A, Y89A và R120A), (Y85A, Y89A và D114A), (D114A và R120A), (L117A và R120A), (L117A, R120A và K121A), (R120A và K121A), (R120E và K121E), sự thay thế R ở vị trí 144 bằng A, D, E, G, H, I, K, L, N, Q, S, T, V hoặc Y, sự thay thế A ở vị trí 145 bằng D, E, G, H, I, K, L, M, N, Q, S, T, V hoặc Y, và sự xóa bỏ các gốc L161 đến E165.

Theo các phương án khác, trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu được chọn từ nhóm gồm L15A, R22A, R23A, S25A, L26A, F27A, L30A, L30V, K31A, D32A, R33A, R33K, R33Q, H34A, Q40A, D113R, L116A, R119A, R119E, R124A, R124E, K130A, E131A, K132A, K133A, M147A, R148A, S149A, L152A, N155A, (L30A, H57Y, E58N và Q61S), (M147A, H57Y, E58N và Q61S), (L152A, H57Y, E58N và Q61S), (R143A, H57Y, E58N và Q61S), (N65A, L80A, Y85A và Y89A,) (N65A, L80A, Y85A, Y89A và D113A), (N65A, L80A, Y85A, Y89A và L116A), (N65A, L80A, Y85A, Y89A và R1190A), (Y85A, Y89A và D113A), (D113A và R119A), (L116A và R119A), (L116A, R119A và K120A), (R119A và K120A), (R119E và K120E), sự thay thế R ở vị trí 143 bằng A, D, E, G, H, I, K, L, N, Q, S, T, V hoặc Y, sự thay thế A ở vị trí 144 bằng D, E, G, H, I, K, L, M, N, Q, S, T, V hoặc Y, và sự xóa bỏ các gốc L160 đến E164.

Theo phương án khác, trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 3 đến 30 và các SEQ ID NO: 32 đến 47.

Theo phương án khác, kháng nguyên kết hợp với bề mặt tế bào được chọn từ nhóm gồm CD38, CD138, phối tử-RANK, HM1.24, CD56, CS1, CD20, CD74, IL-6R, Blys (BAFF), BCMA, HLA-SR, HLA-DR, Kininogen, microglobulin beta2, FGFR3, ICAM-1, matriptaza, CD52, EGFR, GM2, alpha4-integrin, IFG-1R, KIR, CD3, CD4, CD8, CD24, CD44, CD69, CD71, CD79, CD83, CD86, CD96, HLA, PD-1, ICOS, CD33, CD115, CD11c, CD19, CD52, CD14, FSP1, FAP, PDGFR alpha, PDGFR beta, ASGR1, ASGR2, FSP1, RTI140/Ti-alpha, HTI56, thụ thể VEGF, CD241 sản phẩm của gen RCHE, CD117 (c-kit), CD71 (thụ thể transferrin), CD36 (thụ thể thrombospondin), CD34, CD45RO, CD45RA, CD115, CD168, CD235, CD236, CD237, CD238, CD239 và CD240.

Theo các phương án nhất định, phối tử polypeptit là kháng thể hoặc phần gắn kết kháng nguyên của nó.

Theo một phương án khác, phối tử polypeptit là kháng thể mà gắn kết với CD38. Tốt hơn là trình tự V_H của kháng thể này được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 48 đến 56 và 58 và tốt hơn là trình tự V_L của kháng thể này được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 81, 82 và 84.

Theo một phương án khác, phối tử polypeptit là kháng thể mà gắn kết với CD138. Tốt hơn là trình tự V_H của kháng thể này là SEQ ID NO: 59 và tốt hơn là trình tự V_L của kháng thể này là SEQ ID NO: 85.

Theo một phương án khác, phối tử polypeptit gắn kết với phối tử-RANK. Tốt hơn là trình tự của phối tử polypeptit là SEQ ID NO: 57.

Theo phương án khác, miền thứ nhất được liên kết với miền thứ hai thông qua liên kết peptit. Miền thứ nhất có thể được liên kết với miền thứ hai trực tiếp bằng liên kết peptit ("nhóm liên kết có độ dài bằng không") hoặc thông qua nhóm liên kết peptit có độ dài 1 đến 20 axit amin. Nhóm liên kết có thể là $(SGGGGS)_n$ trong đó n bằng 1 đến 3. Ví dụ về nhóm liên kết gồm SGGGGS và SGGGSGGGGSGGGGS.

Theo phương án khác, đầu tận cùng C của miền thứ nhất được liên kết với đầu tận cùng N của miền thứ hai.

Theo phương án khác, trình tự axit amin của miền thứ nhất được glycosyl hóa.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit dung hợp chứa trình tự được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 31, 61 đến 77, 83 và 87, và trình tự được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 81, 82 và 84.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit dung hợp chứa SEQ ID NO: 87 và SEQ ID NO: 81.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit dung hợp chứa SEQ ID NO: 79 và SEQ ID NO: 85.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit dung hợp chứa SEQ ID NO: 80 và SEQ ID NO: 86.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất polypeptit dung hợp chứa SEQ ID NO: 78.

Như sẽ được hiểu từ phần bản luận trên đây, các dạng cụ thể của polypeptit dung hợp theo sáng chế là như sau:

- a. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là A.
- b. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là C.
- c. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là D.
- d. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là E.
- e. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là F.
- f. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là G.
- g. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là

- SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là H.
- h. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là I.
 - i. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là K.
 - j. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là L.
 - k. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là M.
 - l. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là N.
 - m. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là P.
 - n. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là Q.
 - o. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là R.
 - p. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là V.
 - q. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là W.
 - r. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 là Y.
 - s. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu L15A.
 - t. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu A19W.
 - u. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm

suy yếu R22A.

- v. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu R23A.
- w. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu S25A.
- x. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu L26A.
- y. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu F27A.
- z. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu L30A hoặc L30V.
- aa. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu K31A.
- bb. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu D32A.
- cc. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu R33A, R33K hoặc R33Q.
- dd. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu H34A.
- ee. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu Q40A.

- ff. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu D114R hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu D113R.
- gg. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu L117A hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu L116A.
- hh. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu R120A hoặc R120E hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu R119A hoặc R119E.
- ii. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu R125A hoặc R125E hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu R124A hoặc R124E.
- jj. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu K131A hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu K130A.
- kk. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu E132A hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu E131A.
- ll. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu K133A hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu K132A.
- mm. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu K134A hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu K133A.
- nn. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu M148A hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu M147A.
- oo. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu R149A hoặc

- SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu R148A.
- pp. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu S152A hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu S151A.
- qq. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu L153A hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu L152A.
- rr. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu N156A hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng sự đột biến làm suy yếu N155A.
- ss. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu L30A, H57Y, E58N và Q61S.
- tt. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu M148A, H57Y, E58N và Q61S hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu M147A, H57Y, E58N và Q61S.
- uu. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu L153A, H57Y, E58N và Q61S hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu L152A, H57Y, E58N và Q61S.
- vv. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu R144A, H57Y, E58N và Q61S hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu R143A, H57Y, E58N và Q61S.
- ww. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu N65A, L80A, Y85A và Y89A.
- xx. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu N65A, L80A, Y85A, Y89A và D114A hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng

- các sự đột biến làm suy yếu N65A, L80A, Y85A, Y89A và D113A.
- yy. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu N65A, L80A, Y85A, Y89A và L117A hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu N65A, L80A, Y85A, Y89A và L116A.
- zz. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu N65A, L80A, Y85A, Y89A và R120A hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu N65A, L80A, Y85A, Y89A và R119A.
- aaa. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu Y85A, Y89A và D114A hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu Y85A, Y89A và D113A.
- bbb. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu D114A và R120A hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu D113A và R119A.
- ccc. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu L117A và R120A hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng các sự đột biến làm suy yếu L116A và R119A.
- ddd. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng các sự đột biến L117A, R120A và K121A hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng các sự đột biến L116A, R119A và K120A.
- eee. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng các sự đột biến R120A và K121A hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng các sự đột biến R119A và K120A.
- fff. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng các sự đột biến R120E và K121E

hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng các sự đột biến R119E và K120E.

ggg. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng cách thay thế R ở vị trí 144 bằng A, D, E, G, H, I, K, L, N, Q, S, T, V hoặc Y hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng cách thay thế R ở vị trí 143 bằng A, D, E, G, H, I, K, L, N, Q, S, T, V hoặc Y.

hhh. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng cách thay thế A ở vị trí 145 bằng D, E, G, H, I, K, L, M, N, Q, S, T, V hoặc Y hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng cách thay thế A ở vị trí 144 bằng D, E, G, H, I, K, L, M, N, Q, S, T, V hoặc Y.

iii. Polypeptit dung hợp trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 1 được cải biến bằng cách xóa bỏ các gốc L161 đến E165 hoặc SEQ ID NO: 2 được cải biến bằng cách xóa bỏ các gốc L161 đến E165.

jjj. Polypeptit dung hợp theo điểm 1 trong đó trình tự của IFN α 2b được aglycosyl hóa được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 3 đến 30 và các SEQ ID NO: 32 đến 47.

Thuật ngữ “kháng thể”, như được sử dụng ở đây, nói chung dùng để chỉ phân tử globulin miễn dịch (Ig) bao gồm bốn chuỗi polypeptit, hai chuỗi nặng (H) và hai chuỗi nhẹ (L), hoặc đoạn chức năng, thể đột biến, biến thể, hoặc dẫn xuất bất kỳ của nó, mà vẫn có đặc điểm gắn kết epitop chủ yếu của một phân tử Ig. Các dạng đột biến, biến thể hoặc kháng thể dẫn xuất này là đã biết trong lĩnh vực này, các phương án không giới hạn về chúng được bàn luận dưới đây.

Ở kháng thể với chiều dài đầy đủ, mỗi chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi trên chuỗi nặng (trong bản mô tả này được viết tắt là HCVR hoặc V_H) và vùng hằng định trên chuỗi nặng. Vùng hằng định trên chuỗi nặng bao gồm ba miền, CH1, CH2 và CH3. Mỗi chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi trên chuỗi nhẹ (trong bản mô tả này được viết tắt là LCVR hoặc V_L) và vùng hằng định trên chuỗi nhẹ. Vùng hằng định trên chuỗi nhẹ

bao gồm một miền, CL, miền này của người có thể thuộc lớp κ hoặc λ . Các vùng V_H và V_L có thể được chia tiếp thành các vùng siêu biến, được gọi là các vùng quyết định bổ cứu (CDR), đặt rải rác với các vùng mà được bảo toàn hơn, được gọi là các vùng khung (FR). Mỗi V_H và V_L bao gồm ba CDR và bốn FR, được sắp xếp từ đầu tận cùng amino đến đầu tận cùng carboxy theo thứ tự sau: FR1, CDRI, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Các phân tử globulin miễn dịch có thể thuộc loại bất kỳ (ví dụ, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA và IgY), lớp bất kỳ (ví dụ, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 và IgA2) hoặc phân lớp bất kỳ.

Thuật ngữ “miền gắn kết kháng nguyên” hoặc “phần gắn kết kháng nguyên” của kháng thể, như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ một hoặc nhiều đoạn của kháng thể hoặc protein mà vẫn có khả năng gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên (ví dụ, CD38). Người ta đã chỉ ra rằng chức năng gắn kết kháng nguyên của một kháng thể có thể được thực hiện bởi các đoạn của kháng thể với chiều dài đầy đủ. Các phương án kháng thể như vậy cũng có thể là các dạng đặc hiệu lưỡng hợp, đặc hiệu kép, hoặc đa đặc hiệu, gắn kết một cách đặc hiệu với hai hoặc nhiều kháng nguyên khác nhau. Ví dụ về đoạn gắn kết được bao hàm trong thuật ngữ “phần gắn kết kháng nguyên” của kháng thể bao gồm (i) đoạn Fab, đoạn hóa trị một gồm có các miền V_L , V_H , CL và CH1; (ii) đoạn F(ab')₂, đoạn hóa trị hai gồm hai đoạn Fab ngoài phần thuộc vùng bản lề, được liên kết bằng cầu nối disulfua ở vùng bản lề; (iii) đoạn Fd gồm các miền V_H và CH1; (iv) đoạn Fv gồm các miền V_L và V_H của một nhánh đơn của kháng thể, (v) kháng thể miền (dAb) (Ward et al. 1989 Nature 341 544-6, Winter *et al.*, công bố đơn quốc tế WO 90/05144 A1 được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn), mà gồm miền biến đổi đơn; và (vi) vùng quyết định bổ cứu được phân lập (complementarity determining region - CDR). Hơn nữa, mặc dù hai miền của đoạn Fv, V_L và V_H , được mã hóa bởi các gen riêng biệt, chúng có thể được kết hợp, sử dụng các phương pháp tái tổ hợp, bằng các nhóm liên kết tổng hợp mà cho phép chúng được tạo ra ở dạng protein chuỗi đơn trong đó các vùng V_L và V_H cặp đôi để tạo thành các phân tử hóa trị một (còn được biết đến như là Fv chuỗi đơn (scFv); xem, ví dụ, Bird *et al.* 1988 Science 242 423-6; Huston *et al.* 1988 Proc Natl Acad Sci U S A 85 5879-83). Các kháng thể chuỗi đơn như vậy cũng được dự định bao hàm trong thuật ngữ “phần gắn kết kháng nguyên” của kháng thể. Các dạng kháng thể chuỗi đơn khác, như các diabody cũng được bao hàm. Các

diabody là các kháng thể hóa trị hai, đặc hiệu kép trong đó các miền V_H và V_L được biểu hiện trên một chuỗi polypeptit đơn, nhưng sử dụng nhóm liên kết quá ngắn để cho phép cặp đôi giữa hai miền trên cùng một chuỗi, nhờ đó buộc những miền này cặp đôi với miền bổ trợ của một chuỗi khác và tạo ra hai điểm gắn kết kháng nguyên (xem, ví dụ, Holliger, P., *et al.*, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak, R. J., *et al.*, 1994, Structure 2:1121-1123). Các phần gắn kết kháng thể như vậy là đã biết trong lĩnh vực này (Kontermann and Dubel eds., Antibody Engineering 2001 Springer-Verlag, New York. 790 pp., ISBN 3-540-41354-5). Theo một phương án, phần gắn kết kháng thể là đoạn Fab.

Kháng thể được mô tả ở đây có thể là kháng thể được làm giống như của người. Thuật ngữ “kháng thể được làm giống như của người” sẽ được hiểu là chỉ protein chứa vùng biến đổi giống như của người, vùng này gồm các CDR từ kháng thể từ các loài không phải là người (ví dụ, chuột nhắt hoặc chuột cống hoặc linh trưởng không phải là người) được ghép vào hoặc chèn vào các FR từ kháng thể của người (loại kháng thể này còn được gọi là “kháng thể được ghép CDR”). Các kháng thể được làm giống như của người cũng bao gồm các protein trong đó một hoặc nhiều gốc của protein người được cải biến bằng một hoặc nhiều sự thay thế axit amin và/hoặc một hoặc nhiều gốc FR của protein người được thay bằng các gốc tương ứng không phải của người. Các kháng thể được làm giống như người cũng có thể bao gồm các gốc mà được phát hiện trong kháng thể người hoặc trong kháng thể không phải của người. Các vùng bổ sung bất kỳ của protein này (ví dụ, vùng Fc) thường là của người. Việc làm giống như của người có thể được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ, các phương pháp trong US5,225,539, US6,054,297, US7,566,771 hoặc US5,585,089. Thuật ngữ “kháng thể được làm giống như của người” còn bao hàm các kháng thể được làm siêu giống như của người, ví dụ, như được mô tả trong US7,732,578.

Kháng thể được mô tả ở đây có thể là của người. Thuật ngữ “kháng thể người”, như được sử dụng ở đây, chỉ các protein có các vùng kháng thể biến đổi và, tùy ý, hằng định được phát hiện ở người, ví dụ, trong tế bào dòng mầm phôi người hoặc tế bào sinh dưỡng của người hoặc từ các thư viện được sản sinh bằng cách sử dụng các vùng này. Các kháng thể “người” có thể gồm các gốc axit amin không được mã hóa bằng các trình

tự của người, ví dụ, các đột biến được đưa vào ngẫu nhiên hoặc các đột biến định hướng điểm in vitro (cụ thể là các đột biến mà gồm các sự thể được bảo tồn hoặc các đột biến ở số lượng nhỏ các gốc của protein, ví dụ, ở 1, 2, 3, 4 hoặc 5 gốc của protein). Các “kháng thể người” này không nhất thiết cần được tạo ra như là kết quả của đáp ứng miễn dịch của người, thay vào đó, chúng có thể được tạo ra bằng các sử dụng các biện pháp tái tổ hợp (ví dụ, sàng lọc thư viện hiển thị thể thực khuẩn) và/hoặc bằng động vật chuyển gen (ví dụ, chuột nhắt) chứa axit nucleic mã hóa các vùng hằng định và/hoặc biến đổi của kháng thể người và/hoặc sử dụng phương pháp chọn lọc đã được hướng dẫn (ví dụ, như được mô tả trong US5,565,332). Thuật ngữ này còn bao hàm dạng có ái lực thành thực của các kháng thể này. Nhằm mục đích của bản mô tả này, protein người sẽ còn được xem như là gồm protein chứa các FR từ kháng thể người hoặc các FR chứa các trình tự từ trình tự liên ứng của các FR người và trong đó một hoặc nhiều trong số các CDR là ngẫu nhiên hoặc bán ngẫu nhiên, ví dụ, như được mô tả trong US6,300,064 và/hoặc US6,248,516.

Các phần kháng thể của các polypeptit theo sáng chế có thể là các kháng thể có chiều dài đầy đủ thuộc lớp bất kỳ, tốt hơn là IgG1, IgG2 hoặc IgG4. Miền hằng định của các kháng thể này tốt hơn là của người. Các vùng biến đổi của các kháng thể này có thể có nguồn gốc không phải từ người, hoặc tốt hơn là có nguồn gốc từ người hoặc được làm giống như của người. Các đoạn kháng thể cũng có thể được sử dụng thay cho các kháng thể với chiều dài đầy đủ.

Thuật ngữ “kháng thể” còn gồm các kháng thể được thiết kế. Như sẽ được hiểu rõ, có nhiều biến thể của các kháng thể được thiết kế (ví dụ, kháng thể đơn dòng của chuột, kháng thể khảm, kháng thể được làm giống như của người và kháng thể đơn dòng của người, các đoạn kháng thể biến đổi chuỗi đơn (single chain variable antibody fragment: scFv), các minibody, các aptamer, cũng như các kháng thể đặc hiệu kép và các diabody như được mô tả trên đây).

Các miền vùng biến đổi đơn (được gọi là dAbs) được bộc lộ, ví dụ, trong (Ward et al., 1989, Nature 341: 544-546; Hamers-Casterman et al., 1993, Nature 363: 446-448; Davies & Riechmann, 1994, FEBS Lett. 339: 285-290).

Các minibody là các phiên bản nhỏ của các kháng thể toàn bộ mà mã hóa chuỗi đơn là các yếu tố thiết yếu của kháng thể toàn bộ. Thích hợp là, minibody bao gồm các miền VH và VL của kháng thể nguyên vẹn được dung hợp với vùng bản lề và miền CH3 của phân tử globulin miễn dịch, ví dụ, như được bộc lộ trong patent Mỹ số 5,837,821.

Theo phương án khác, kháng thể được thiết kế có thể bao gồm khung protein không bắt nguồn từ globulin miễn dịch. Ví dụ, có thể tham khảo tài liệu (Ku & Schutz, 1995, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 6552-6556), tài liệu này mô tả protein dạng bó gồm bốn chuỗi xoắn cytochrome b562 có hai vòng được ngẫu nhiên hóa để tạo ra các CDR, được lựa chọn để gắn kết kháng nguyên.

Có rất nhiều protein nhận biết không phải kháng thể hoặc các khung miền protein mà có thể được sử dụng làm các miền gắn kết kháng nguyên trong các cấu trúc theo sáng chế. Các loại này bao gồm các khung protein dựa trên kháng nguyên kết hợp với lympho bào T gây độc tế bào 4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 - CTLA-4) (Evibody; US7,166,697); transferrin người (Trans-body); dạng bó gồm 3 chuỗi xoắn từ miền Z của Protein A (Affibody); miền typ C dạng monome hoặc trime của người (Tetranectin); miền fibronectin typ III thứ mười của người (AdNectin); miền typ Kunitz của chất ức chế trypsin của người hoặc bò; Defensin A của côn trùng (IICA29), APPI (các miền Kunitz); các lipocalin, FABP, protein gắn kết Bilin, Apoloprotein D (Anticalins); phân tử α -crystallin hoặc ubiquitin của người (Affilin); chất ức chế trypsin II (Microbody); dạng lặp α 2p8 hoặc Ankyrin (các protein lặp-môtip), Charybdotoxin (các độc tố của bộ cạp), Min-23, miền gắn kết xenluloza (Knottins); Neocarzinostatin, CBM4-2 và Tendamistat.

Hơn nữa, ngoài các khung protein được cung cấp cho các miền có nguồn gốc từ kháng thể hoặc các phần gấp không phải kháng thể như nêu trên, còn có các protein hoặc các miền protein gắn kết phối tử có trong tự nhiên mà có thể được sử dụng làm các miền gắn kết phối tử theo sáng chế. Ví dụ, các miền protein mà có tính chất gắn kết phối tử gồm các miền ngoại bào của các thụ thể, các môđun PDZ của các protein truyền tín hiệu, như protein gắn kết Ras AF-6, các phân tử dính bám, và các enzym.

Sử dụng các phương pháp đã được biết rõ trong lĩnh vực này để gia tăng sự gắn kết, ví dụ, sự thành thực về ái lực, hoặc để giảm khả năng gây miễn dịch bằng cách loại bỏ các môtip gắn kết MHC nhóm II được dự báo. Tính hữu dụng trong trị liệu của các kháng thể được nêu trong bản mô tả này có thể được tăng cường hơn nữa bằng cách điều biến các đặc tính chức năng của chúng, như độc tính qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity - ADCC), độc tính phụ thuộc bổ thể (complement-dependent cytotoxicity - CDC), thời gian bán thải trong huyết thanh, phân bố sinh học và việc gắn kết với các thụ thể Fc hoặc kết hợp bất kỳ của các đặc tính này. Sự cải biến này có thể đạt được bằng công nghệ protein, công nghệ glyco hoặc các phương pháp hóa học. Tùy thuộc vào ứng dụng trị liệu yêu cầu, có thể có lợi khi giảm hoặc tăng hoạt tính bất kỳ trong số các hoạt tính này.

Ví dụ về công nghệ glyco sử dụng phương pháp Potelligent® là như được mô tả trong tài liệu Shinkawa T. et al., 2003 (J Biol Chem 278: 3466-73).

Nhiều phương pháp để làm thành thực về ái lực đối với các kháng thể là đã biết trong lĩnh vực này. Một số trong số nhiều phương pháp này là dựa vào chiến lược chung về tạo ra các panen hoặc các thư viện về các protein biến thể bằng cách đột biến sau đó là chọn lọc và/hoặc sàng lọc về mặt ái lực được cải thiện. Sự đột biến thường được thực hiện ở mức ADN, ví dụ, bằng PCR dễ bị lỗi (Thie, Voedisch et al. 2009, Methods Mol Biol 525: 309-322), bằng sự bố trí lại gen (Kolkman and Stemmer 2001, Nat Biotechnol. May; 19(5):423-8), bằng việc sử dụng các hóa chất hoặc sự chiếu xạ gây đột biến, bằng việc sử dụng các chủng ‘đột biến’ với cơ cấu sao chép dễ bị lỗi (Greener 1996, In Vitro Mutagenesis Protocols. Humana press, NJ) hoặc bằng phương pháp siêu đột biến soma mà khai thác cơ cấu làm thành thực ái lực tự nhiên (Peled, Kuang et al. 2008, Annu Rev Immunol. 26:481-511). Sự đột biến cũng có thể được thực hiện ở mức ARN, ví dụ bằng việc sử dụng Qβ replicaza (Kopsidas, Roberts et al. 2006, Immunol Lett. 2006 Nov 15; 107(2):163-8). Các phương pháp trên cơ sở thư viện cho phép sàng lọc đối với các protein biến thể được cải thiện có thể được dựa trên các kỹ thuật biểu hiện khác nhau như, kỹ thuật biểu hiện trên thể thực khuẩn, nấm men, ribosom, vi khuẩn hoặc các tế bào động vật có vú, và các phương pháp này đã được biết rõ trong lĩnh vực này (Benhar 2007, Expert Opin Biol Ther. May; 7(5): 763-79). Sự

thành thực về ái lực có thể đạt được bằng các phương pháp được định hướng/dự báo nhiều hơn, ví dụ, bằng sự đột biến định hướng điểm hoặc sự tổng hợp gen được dẫn dắt bằng các phát hiện từ việc tạo mô hình protein 3D (xem, ví dụ Queen, Schneider et al. 1989, PNAS, 86(24): 10029-33 hoặc patent Mỹ số 6,180,370 hoặc patent Mỹ số 5,225,539).

Các phương pháp gia tăng ADCC đã được mô tả bởi Ferrara, Bruncker et al. 2006, *Biotechnol Bioeng*; 93:851-61; Li, Sethuraman et al. 2006, *Nat Biotechnol*; 24:210-5; Stavenhagen, Gorlatov et al. 2007, *Cancer Res*; 67:8882-90; Shields, Namenuk et al. 2001, *J Biol Chem*; 276:6591-604; Shinkawa, Nakamura et al. 2003, *J Biol Chem*; 278:3466-73; và WO 2008/006554.

Các phương pháp gia tăng CDC đã được mô tả bởi Idusogie, Wong et al. 2001, *J Immunol*; 176:346-56; Dall'Acqua, Cook et al. 2006, *J Biol Chem*; 281:23514-24; Michaelsen, Aase et al. 1990, *Scand J Immunol*; 32:517-28; Brekke, Bremnes et al. 1993, *Mol Immunol*; 30:1419-25; Tan, Shopes et al. 1990, PNAS; 87:162-6; và Norderhaug, Brekke et al. 1991, *Eur J Immunol*; 21:2379-84.

Các tài liệu tham khảo mô tả các phương pháp gia tăng ADCC và CDC gồm Natsume, In et al. 2008, *Cancer Res*; 68:3863-72. Phần bộc lộ của mỗi tài liệu trong số các tài liệu tham khảo này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn chéo. Theo các phương án nhất định, có thể có lợi nếu giảm hoặc loại trừ các hoạt tính ADCC và CDC của thành phần kháng thể của polypeptit theo sáng chế, nhờ đó hoạt tính IFN α 2b là hoạt tính cơ bản của polypeptit mà điều biến sự sống sót của tế bào đích.

Một số phương pháp điều biến thời gian bán thải kháng thể trong huyết thanh và sự phân bố sinh học của kháng thể được dựa trên sự cải biến tương tác giữa kháng thể và thụ thể Fc sơ sinh (FcRn), thụ thể có vai trò chủ chốt trong việc bảo vệ IgG khỏi sự dị hóa, và duy trì nồng độ kháng thể cao trong huyết thanh. Dall'Acqua et al đã mô tả các sự thể trong vùng Fc của IgG1 mà tăng cường ái lực liên kết với FcRn, nhờ đó gia tăng thời gian bán thải trong huyết thanh (Dall'Acqua, Woods et al. 2002, *J Immunol*; 169:5171-80) và còn chứng minh tính sinh khả dụng được tăng cường và sự điều biến hoạt tính ADCC được tăng cường với sự thể ba lần M252Y/S254T/T256E (với việc

đánh số gốc theo EU Index) hoặc M265Y/S267T/T269 (với việc đánh số gốc theo hệ thống đánh số Kabat) (Dall'Acqua, Kiener et al. 2006, J Biol Chem; 279:6213-6). Cũng xem các patent Mỹ số 6,277,375; 6,821,505; và 7,083,784. Hinton et al đã mô tả các sự thể axit amin miền hằng định ở các vị trí 250 và 428 mà làm tăng thời gian bán thải *in vivo* (Hinton, Johlfs et al. 2004, J Biol Chem; 279:6213-6; Hinton, Xiong et al. 2006, J Immunol; 176:346-56). Cũng xem patent Mỹ số 7,217,797. Petkova et al đã mô tả các sự thể axit amin miền hằng định ở các vị trí 307, 380 và 434 mà làm tăng thời gian bán thải *in vivo* (Petkova, Akilesh et al. 2006, Int Immunol; 18:1759-69). Cũng xem, Shields et al 2001, J Biol Chem; 276:6591-604 và WO 2000/42072. Các ví dụ khác về sự thể axit amin miền hằng định mà điều biến việc gắn kết với các thụ thể Fc và sau đó thực hiện chức năng được trung gian bởi các thụ thể này, bao gồm gắn kết FcRn và thời gian bán thải trong huyết thanh, như được mô tả trong các công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 20090142340; 20090068175 và 20090092599. Sự thể được đề cập ở đây là “S228P” mà được đánh số theo chỉ số EU như trong Kabat còn được đề cập như là “S241P” theo Kabat et al. (1987 Sequences of proteins of immunological interest. United States Department of Health and Human Services, Washington DC.). Sự thể này làm ổn định vùng bản lề của phân tử IgG4, có tác dụng tạo ra trình tự của lõi của vùng bản lề, giống như kháng thể isotyp IgG1 hoặc IgG2. Điều này dẫn đến sự giảm sự phân ly và sự tái kết hợp tự phát của các chuỗi nặng mà thường dẫn đến sự sản sinh các kháng thể IgG4 dạng heterodime.

Các glycan liên kết với các phân tử kháng thể đã được biết là tác động đến các tương tác giữa kháng thể với các thụ thể Fc và các thụ thể glycan và nhờ đó tác động đến hoạt tính kháng thể, bao gồm cả thời gian bán thải trong huyết thanh (Kaneko, Nimmerjahn et al. 2006, Science; 313:670-3; Jones, Papac et al. 2007, Glycobiology; 17:529-40; và Kanda, Yamada et al. 2007, Glycobiology; 17:104-18). Vì vậy, một số dạng glycogen nhất định mà điều biến hoạt tính mong muốn của kháng thể có thể có lợi trong điều trị. Các phương pháp tạo ra các dạng glycogen được xử lý kỹ thuật di truyền đã được biết trong lĩnh vực này, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở các phương pháp được mô tả trong các patent Mỹ số US6,602,684; US7,326,681; US7,388,081 và trong WO 2008/006554.

Việc kéo dài thời gian bán thải bằng cách bổ sung polyetylen glycol (PEG) đã được sử dụng rộng rãi để kéo dài thời gian bán thải của các protein trong huyết thanh, như được tổng kết, ví dụ, bởi Fishburn 2008, J Pharm Sci; 97:4167-83.

Như sẽ được thừa nhận, có thể thực hiện các sự thể axit amin bảo tồn trong các trình tự theo sáng chế. Thuật ngữ "sự thể bảo tồn" được hiểu là các axit amin có tính chất tương tự nhau. Như được sử dụng trong bản mô tả này, các nhóm axit amin sau được xem như là các sự thể được bảo tồn: H, R và K; D, E, N và Q; V, I và L; C và M; S, T, P, A và G; và F, Y và W. Tuy nhiên, các sự thể khác ngoài các sự thể cụ thể được nêu được thực hiện tại các điểm làm suy yếu và/hoặc glycosyl hóa là không dự tính.

Thuật ngữ "kháng nguyên kết hợp với bề mặt tế bào", như được sử dụng ở đây, nói chung để chỉ kháng nguyên bất kỳ được biểu hiện trên bề mặt của tế bào, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các tế bào ác tính hoặc các tế bào lây nhiễm hoặc các tế bào lạ.

Theo các khía cạnh nhất định của sáng chế, cấu trúc polypeptit dung hợp hoặc chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị cho các bệnh nhân bị bệnh ung thư. Các bệnh ung thư được dự tính ở đây gồm: nhóm các bệnh và các rối loạn mà được đặc trưng bằng sự phát triển tế bào không kiểm soát (ví dụ, sự tạo thành khối u) mà không có sự biệt hóa bất kỳ các tế bào này thành các tế bào chuyên biệt và khác nhau. Các bệnh và các rối loạn này gồm gen giả ung thư ABL1, các bệnh ung thư có liên quan đến AIDS, u xơ thần kinh thính giác, bệnh bạch cầu lympho cấp tính, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, caxinom u nang tuyến, bệnh ung thư vỏ thượng thận, dị dạng tủy xương tự phát, bệnh rụng lông, sarcoma phần mềm hình nang, ung thư hậu môn, sarcoma mạch, chứng thiếu máu không tái tạo được, u tế bào hình sao, chứng giãn mao mạch do mất điều hòa, carcinom tế bào đáy (da), bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư xương, bệnh ung thư ruột, u thần kinh đệm thân não, khối u não và CNS, bệnh ung thư vú, khối u carcinoid, bệnh ung thư cổ, khối u não ở trẻ em, bệnh ung thư ở trẻ em, bệnh bạch cầu ở trẻ em, sarcoma mô mềm ở trẻ em, sarcoma sụn, bệnh ung thư nhau thai, bệnh bạch cầu lympho mạn tính, bệnh bạch cầu tủy bào mạn tính bệnh ung thư trực tràng, u lympho tế bào T thuộc da, sarcoma bì xơ lồi, khối u tế bào tròn nhỏ tạo sợi dính, carcinoma ống mật, bệnh ung thư tuyến nội tiết, bệnh ung thư màng trong tử

cung, u màng não thất, bệnh ung thư thực quản, sarcoma Ewing, bệnh ung thư ống mật ngoài gan, bệnh ung thư mắt, u melanin mắt, u nguyên bào võng mạc, ung thư vùi trứng, bệnh thiếu máu fanconi, sarcoma xơ, bệnh ung thư bàng quang túi mật, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư dạ dày ruột, khối u carcinoid ở dạ dày ruột, bệnh ung thư niệu-sinh dục, khối u tế bào mầm, bệnh nguyên bào nuôi lên quan đến thai nghén, u thần kinh đệm, bệnh ung thư phụ khoa, các bệnh máu ác tính, bệnh bạch cầu tế bào lông, bệnh ung thư đầu và cổ, bệnh ung thư tế bào gan, bệnh ung thư vú di truyền, hội chứng mô bào, bệnh Hodgkin, nhiễm papillomavirus ở người, mang thai trứng nước, chứng tăng canxi huyết, bệnh ung thư hầu dưới, u melanin nội nhãn cầu, bệnh ung thư tế bào đảo, sarcoma Kaposi, bệnh ung thư thận, hội chứng mô bào tế bào Langerhan, bệnh ung thư thanh quản, sarcoma cơ trơn, bệnh bạch cầu, hội chứng Li-Fraumeni, bệnh ung thư mô, sarcoma mô mỡ, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư phổi, phù bạch huyết, u bạch huyết, u bạch huyết Hodgkin, u lympho không phải Hodgkin, bệnh ung thư vú ở nam giới, khối u hình que ác tính thuộc thận, u nguyên tủy bào, u melanin, bệnh ung thư tế bào merkel, u trung biểu mô, bệnh ung thư di căn, bệnh ung thư miệng, tân sinh đa tuyến nội tiết, u sùi dạng nấm, hội chứng loạn sản tủy, đa u tủy, các rối loạn tăng sản uỷ, bệnh ung thư mũi, bệnh ung thư mũi-hầu, u nguyên bào thận, u nguyên bào thần kinh, u sợi thần kinh, hội chứng phá vỡ nijmegen, bệnh ung thư da không phải non-u melanin, bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ (non-small-cell-lung-cancer - NSCLC), bệnh ung thư mắt, bệnh ung thư thực quản, bệnh ung thư khoang miệng, bệnh ung thư vòm họng, bệnh sarcoma xương, bệnh ung thư buồng trứng do tạo hậu môn giả, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư gần mũi, bệnh ung thư tuyến cận giáp, bệnh ung thư tuyến mang tai, bệnh ung thư dương vật, u ngoại bì thần kinh ngoại biên, bệnh ung thư tuyến yên, bệnh tăng hồng cầu vô căn, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư hiếm gặp và các rối loạn có liên quan, caxinom tế bào thận, u nguyên bào võng mạc, sarcoma cơ vân, hội chứng Rothmund-Thomson, bệnh ung thư tuyến nước bọt, sarcoma, u bao sợi thần kinh, hội chứng Sezary, bệnh ung thư da, bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ (small cell lung cancer - SCLC), bệnh ung thư ruột non, sarcoma mô mềm, khối u cột sống, carcinoma tế bào hình vảy (da), bệnh ung thư dạ dày, sarcoma hoạt dịch, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư tuyến ức, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư tế bào chuyển tiếp (bàng quang), bệnh ung thư tế bào chuyển tiếp (bể thận-khung xương chậu/niệu quản), bệnh

ung thư lá nuôi phôi, bệnh ung thư niệu đạo, bệnh ung thư hệ tiết niệu, uroplakin, sarcoma tử cung, bệnh ung thư tử cung, bệnh ung thư âm đạo, bệnh ung thư âm hộ, ung thư hệ bạch huyết Waldenstrom và khối u Wilms. Theo một phương án, khối u được chọn từ nhóm gồm đa u tủy hoặc u lympho không phải Hodgkin.

Như được dự tính để điều trị bệnh ung thư, các phần kháng thể của các cấu trúc dung hợp theo sáng chế có thể gắn kết với các kháng nguyên kết hợp với khối u, tức là, các kháng nguyên bề mặt tế bào mà được biểu hiện một cách chọn lọc bởi các tế bào ung thư hoặc được biểu hiện quá mức trên các tế bào ung thư so với hầu hết các tế bào bình thường. Có nhiều kháng nguyên kết hợp với khối u (tumour-associated antigens - TAAs) đã biết trong lĩnh vực này. Các ví dụ không giới hạn về TAAs gồm enzym tyrosinaza; kháng nguyên u melanin GM2; alphafetoprotein (AFP); kháng nguyên carcinoembryonic (carcinoembryonic antigen: CEA); Mucin 1 (MUC1); thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì của người (Human epidermal growth factor receptor - Her2/Neu); oncoprotein bệnh bạch cầu/u lympho tế bào T 1 (T-cell leukemia/lymphoma 1 - TCL1). TAAs ví dụ kết hợp với một số bệnh ung thư khác nhau là telomeraza (hTERT); kháng nguyên màng đặc hiệu đối với tuyến tiền liệt (prostate-specific membrane antigen - PSMA); tác nhân hoạt hóa urokinaza plasminogen và thụ thể của nó (uPA/uPAR); yếu tố sinh trưởng nội mô mạch và thụ thể của nó (VEGF/VEGFR); tác nhân cảm ứng metalloproteinaza cơ chất ngoại bào (EMMPRIN/CD147); yếu tố sinh trưởng biểu bì (EGFR); yếu tố sinh trưởng bắt nguồn từ tiểu cầu và thụ thể của nó (PDGF/PDGFR) và c-kit (CD117).

Danh sách TAAs khác được cung cấp trong US 2010/0297076, phần bộc lộ của tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Một mối quan tâm cụ thể là các kháng nguyên bề mặt tế bào kết hợp với các tế bào đa u tủy, bệnh bạch cầu hoặc u lympho, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, CD38, CD138, CD79, CS1, và HM1.24. Theo một phương án, kháng nguyên đối với các cấu trúc phối tử-IFN đã suy yếu, ví dụ, cấu trúc kháng thể-interferon đã suy yếu, là CD38.

CD38 là glycoprotein chuyển qua màng typ II có trọng lượng 46kDa. Nó có một đuôi tế bào chất đầu tận cùng N là ngắn gồm 20 axit amin, một chuỗi xoắn đơn chuyển qua màng và một miền ngoại bào dài gồm 256 axit amin (Bergsagel, P., Blood; 85:436,

1995 and Liu, Q., *Structure*, 13:1331, 2005). Nó được biểu hiện trên bề mặt của nhiều tế bào miễn dịch bao gồm các tế bào T dương tính với CD4 và CD8, các tế bào B, các tế bào NK, bạch cầu đơn nhân, các tế bào sinh chất và trên một tỷ lệ đáng kể các tế bào tiền thân tủy xương bình thường (Malavasi, F., *Hum. Immunol.* 9:9, 1984). Tuy nhiên, trong các lympho bào, sự biểu hiện này thể hiện là phụ thuộc vào trạng thái biệt hóa và hoạt hóa của tế bào. Các tế bào T và B tĩnh là âm tính trong khi các lympho bào trưởng thành và được hoạt hóa phần lớn là dương tính đối với sự biểu hiện CD38 (Funaro, A., *J. Immunol.* 145:2390, 1990). Các nghiên cứu khác chỉ rõ sự biểu hiện mRNA trong các cơ quan không tạo huyết như tuyến tụy, não, lách và gan (Koguma, T., *Biochim. Biophys. Acta* 1223:160, 1994.)

CD38 là enzym ngoại bào đa chức năng tham gia vào quá trình truyền tín hiệu qua màng và bám dính tế bào. Nó còn được biết đến như là ADP ribosa hydrolaza vòng do nó có thể biến đổi NAD^+ và NADP^+ thành cADPR, ADPR và NAADP, tùy thuộc vào độ pH ngoại bào. Các sản phẩm này gây ra sự dịch chuyển Ca^{2+} bên trong tế bào, điều này có thể dẫn đến sự tyrosin phosphoryl hóa và sự hoạt hóa tế bào. CD38 cũng là thụ thể mà có thể tương tác với phối tử CD31. Sự hoạt hóa thụ thể thông qua CD31 dẫn đến các sự kiện nội bào bao gồm sự dịch chuyển Ca^{2+} , sự hoạt hóa, sự tăng sinh, biệt hóa và sự di cư tế bào (được tổng kết trong Deaglio, S., *Trends in Mol. Med.* 14:210, 2008.)

CD38 được biểu hiện ở mức cao trên các tế bào đa u tủy, trong hầu hết các trường hợp bạch cầu lympho cấp tính dòng tế bào T và B, một số trường hợp bạch cầu tủy bào cấp tính, u lympho tế bào vùng trung tâm nang và u lympho lympho bào T. (Malavasi, F., *J. Clin Lab Res.* 22:73, 1992). Gần đây, sự biểu hiện CD38 đã trở thành dấu hiệu tiên lượng tin cậy trong bệnh bạch cầu lympho bào dòng tế bào B (B-lineage chronic lymphoblastic leukemia - B-CLL) (Ibrahim, S., *Blood.* 98:181, 2001 và Durig, J., *Leuk. Res.* 25:927, 2002). Các nhóm độc lập đã chứng minh rằng các bệnh nhân B-CLL mang dòng CD38^+ được đặc trưng bởi một tiến trình lâm sàng không thuận lợi với giai đoạn bệnh tiến triển nặng hơn, đáp ứng tồi hơn với các phương pháp hóa trị liệu và có thời gian sống sót ngắn hơn (Morabito, F., *Haematologica.* 87:217, 2002). Sự biểu hiện tăng cường và nhất quán của CD38 trên các khối u dạng lympho khiến cho nó là

đích hấp dẫn đối với các kỹ thuật trị liệu bằng kháng thể.

Các kháng nguyên được ưu tiên đối với sự phát triển các cấu trúc protein dung hợp kháng thể-IFN α 2b được aglycosyl hóa đã suy yếu mà hướng đích đến bệnh ung thư là các kháng nguyên mà thể hiện sự biểu hiện chọn lọc hoặc lớn hơn trên các tế bào ung thư so với hầu hết các tế bào khác, không được biến nạp trong cơ thể. Các ví dụ không protein về các kháng nguyên này bao gồm, các sphingolipit, gangliosit GD2 (Saleh *et al.*, 1993, J. Immunol., 151, 3390-3398), gangliosit GD3 (Shitara *et al.*, 1993, Cancer Immunol. Immunother. 36:373-380), gangliosit GM2 (Livingston *et al.*, 1994, J. Clin. Oncol. 12:1036-1044), gangliosit GM3 (Hoon *et al.*, 1993, Cancer Res. 53:5244-5250) và các kháng nguyên carbohydrat Lewis^x, lewis^y và lewis^{xy} mà có thể được biểu hiện trên các protein hoặc các glycolipit. Các ví dụ về kháng nguyên protein là HER-2/neu, papillomavirus người -E6 hoặc -E7, MUC-1; kháng nguyên pan-caxinom KS 1/4 (Perez và Walker, 1990, J. Immunol. 142:3662-3667; Bumal, 1988, Hybridoma 7(4):407-415); kháng nguyên caxinom buồng trứng CA125 (Yu *et al.*, 1991, Cancer Res. 51(2):468-475); phosphat axit tuyến tiền liệt (Tailor *et al.*, 1990, Nucl. Acids Res. 18(16):4928); kháng nguyên đặc hiệu tuyến tiền liệt (Henttu và Vihko, 1989, Biochem. Biophys. Res. Comm. 160(2):903-910; Israeli *et al.*, 1993, Cancer Res. 53:227-230); kháng nguyên kết hợp với u melanin p97 (Estin *et al.*, 1989, J. Natl. Cancer Instit. 81(6):445-446); kháng nguyên u melanin gp75 (Vijayasardahl *et al.*, 1990, J. Exp. Med. 171(4):1375-1380); kháng nguyên màng đặc hiệu với tuyến tiền liệt; kháng nguyên caxinom phôi (carcinoembryonic antigen - CEA) (Foon *et al.*, 1994, Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 13:294), MUC16 (các kháng thể gồm MJ-170, MJ-171, MJ-172 và MJ-173 [US 7,202,346], 3A5 [US 7,723,485]). NMB (US 8,039,593), kháng nguyên lympho bào ác tính ở người-APO-1 (Bernhard *et al.*, 1989, Science 245:301-304); kháng nguyên u melanin trọng lượng phân tử cao (high molecular weight melanoma antigen - HMW-MAA) (Natali *et al.*, 1987, Cancer 59:55-63; Mittelman *et al.*, 1990, J. Clin. Invest. 86:2136-2144); kháng nguyên u lympho Burkitt-38.13; CD19 (Ghetie *et al.*, 1994, Blood 83:1329-1336); kháng nguyên u lympho B ở người-CD20 (Reff *et al.*, 1994, Blood 83:435-445); GICA 19-9 (Herlyn *et al.*, 1982, J. Clin. Immunol. 2:135), CTA-1 và LEA; CD33 (Sgouros *et al.*, 1993, J. Nucl. Med. 34:422-430); các kháng nguyên oncofetal như alpha-fetoprotein đối với bệnh ung thư gan hoặc kháng nguyên oncofetal

khối u bàng quang (Hellstrom *et al.*, 1985, Cancer. Res. 45:2210-2188); các kháng nguyên biệt hóa như kháng nguyên caxinom phổi ở người L6 hoặc L20 (Hellstrom *et al.*, 1986, Cancer Res. 46:3917-3923); các kháng nguyên của sacôm xơ; kháng nguyên tế bào T bệnh bạch cầu ở người-Gp37 (Bhattacharya-Chatterjee *et al.*, 1988, J. Immunol. 141:1398-1403); typ cấy ghép đặc hiệu đối với khối u của kháng nguyên bề mặt tế bào (tumor-specific transplantation type of cell-surface antigen - TSTA) như các kháng nguyên khối u được cảm ứng bởi virus gồm kháng nguyên-T, các kháng nguyên màng bao và virus khối u ADN của các virus khối u ARN; các neoglycoprotein, các kháng nguyên ung thư vú như EGFR (thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì - Epidermal growth factor receptor), chất nhầy biểu mô đa hình (polymorphic epithelial mucin - PEM) (Hilkens *et al.*, 1992, Trends in Bio. Chem. Sci. 17:359); kháng nguyên chất nhầy biểu mô đa hình; kháng nguyên viên cầu chất béo sữa người; các kháng nguyên kết hợp với khối u đại trực tràng như TAG-72 (Yokata *et al.*, 1992, Cancer Res. 52:3402-3408), CO 17-1A (Ragnhammar *et al.*, 1993, Int. J. Cancer 53:751-758); các kháng nguyên biệt hóa (Feizi, 1985, Nature 314:53-57) như I(Ma) được phát hiện trong caxinom tuyến dạ dày, SSEA-1 được phát hiện trong các tế bào dạng tủy, VEP8, VEP9, Myl, VIM-D5, M18 và M39 được phát hiện trong các bệnh ung thư biểu mô vú, D₁₅₆₋₂₂ được phát hiện trong bệnh ung thư dạ trực tràng, TRA-1-85 (nhóm máu H), C14 được phát hiện trong caxinom tuyến đại tràng, F3 được phát hiện trong caxinom tuyến phổi, AH6 được phát hiện trong bệnh ung thư dạ dày, Y hapten được phát hiện trong các tế bào caxinom phổi, TL5 (nhóm máu A), các kháng nguyên chuỗi E1 (nhóm máu B) được phát hiện trong bệnh ung thư tuyến tụy, FC10.2 được phát hiện trong các tế bào caxinom phổi, kháng nguyên caxinom tuyến dạ dày, CO-514 (nhóm máu Le^a) được phát hiện trong caxinom tuyến, NS-10 được phát hiện trong các bệnh caxinom tuyến, CO-43 (nhóm máu Le^b), G49 được phát hiện trong các tế bào A431, 19.9 được phát hiện trong bệnh ung thư đại tràng; chất nhầy bệnh ung thư dạ dày; R₂₄ được phát hiện trong u melanin, MH2 (nhóm máu ALe^b/Le^y) được phát hiện trong bệnh caxinom tuyến đại tràng, 4.2, D1.1, OFA-1, G_{M2}, OFA-2 và M1:22:25:8 được phát hiện trong các tế bào caxinom phổi và SSEA-3 và SSEA-4. HMW-MAA (SEQ ID NO:433), còn được biết như là chondroitin sulfat proteoglycan trong bệnh u melanin, là protein gắn kết với màng gồm 2322 gốc, nó được biểu hiện quá mức ở mức trên 90% trên các thương tổn

do bệnh u melanin và novi lành tính được loại bỏ bằng phẫu thuật (Camploi, et. al, Crit Rev Immunol.;24:267,2004). Do đó, nó có thể là kháng nguyên kết hợp với bề mặt tế bào đích tiềm năng.

Các kháng nguyên ung thư ví dụ khác đề hướng đích bằng các cấu trúc protein dung hợp theo sáng chế bao gồm (các bệnh ung thư được lấy làm ví dụ được thể hiện trong dấu ngoặc đơn): CD5 (bệnh bạch cầu/u lympho tế bào T), CA15-3 (caxinom), CA19-9 (caxinom), L6 (caxinom), CA 242 (đại trực tràng), phosphatasa kiềm nhau thai (caxinom), phosphatasa axit tuyến tiền liệt (tuyến tiền liệt), MAGE-1 (caxinom), MAGE-2 (caxinom), MAGE-3 (caxinom), MAGE -4 (caxinom), thụ thể transferrin (caxinom), p97 (u melanin), MUC1 (ung thư vú), MART1 (u melanin), CD20 (u lympho không phải Hodgkin), CD52 (bệnh bạch cầu), CD33 (bệnh bạch cầu), gonadotropin màng đệm ở người (caxinom), CD38 (đa u tủy), CD21 (u lympho tế bào B), CD22 (u lympho), CD25 (u lympho tế bào B), CD37 (u lympho tế bào B), CD45 (bệnh bạch cầu tủy bào cấp), HLA-DR (u lympho tế bào B), thụ thể IL-2 (bệnh bạch cầu và u lympho tế bào T), CD40 (u lympho), CD79 (bệnh bạch cầu hoặc u lympho tế bào B, u lympho Hodgkin), các chất nhầy khác nhau (caxinom), P21 (caxinom), MPG (u melanin), Ep-CAM (các khối u biểu mô), thụ thể folat alpha (buồng trứng), A33 (đại trực tràng), G250 (thận), Ferritin (u lympho Hodgkin), de2-7 EGFR (u nguyên bào đệm, vú, và phổi), protein hoạt hóa nguyên bào sợi (biểu mô) và tenascin metalloproteinaza (u nguyên bào đệm). Một số kháng thể đặc hiệu, hữu dụng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, BR64 (Trail *et al.*, 1997, Cancer Research 57:100 105), BR96 mAb (Trail *et al.*, 1993, Science 261:212-215), các mAb kháng kháng nguyên CD40, như S2C6 mAb (Francisco *et al.*, 2000, Cancer Res. 60:3225-3231) hoặc các kháng thể kháng CD40 khác, như các kháng thể được bộc lộ trong các công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2003-0211100 và 2002-0142358; các mAb kháng kháng nguyên CD30, như AC10 (Bowen *et al.*, 1993, J. Immunol. 151:5896-5906; Wahl *et al.*, 2002 Cancer Res. 62(13):3736-42) hoặc MDX-0060 (công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2004-0006215) và các mAb kháng kháng nguyên CD70, như mAb 1F6 và mAb 2F2 (xem, ví dụ, công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2006-0083736) hoặc các kháng thể 2H5, 10B4, 8B5, 18E7, 69A7 (patent Mỹ số US 8,124,738). Các kháng thể khác đã được xem xét ở chỗ khác (Franke *et al.*, 2000, Cancer Biother. Radiopharm. 15:459 76;

Murray, 2000, Semin. Oncol. 27:64-70; Breitling, F., và Dubel, S., Recombinant Antibodies, John Wiley, and Sons, New York, 1998).

Theo các phương án nhất định, các kháng thể hữu dụng có thể gắn kết với thụ thể hoặc phức hợp của các thụ thể được biểu hiện trên tế bào đích. Thụ thể hoặc phức hợp thụ thể có thể gồm một thành viên của liên họ gen globulin miễn dịch, protein phù hợp mô chính, thụ thể xytokin, thành viên của liên họ thụ thể TNF, thụ thể chemokin, integrin, lectin, protein kiểm soát bổ sung, thụ thể yếu tố sinh trưởng, thụ thể hormon hoặc thụ thể chất dẫn truyền thần kinh. Các ví dụ không giới hạn về các thành viên liên họ globulin miễn dịch thích hợp là CD2, CD3, CD4, CD8, CD19, CD22, CD79, CD90, CD152/CTLA-4, PD-1, B7-H4, B7-H3, và ICOS. Các ví dụ không giới hạn về các thành viên liên họ thụ thể TNF thích hợp là TACI, BCMA, CD27, CD40, CD95/Fas, CD134/OX40, CD137/4-1BB, TNFR1, TNFR2, RANK, osteoprotegerin, APO 3, Apo2/TRAIL R1, TRAIL R2, TRAIL R3, và TRAIL R4. Các ví dụ không giới hạn về các integrin thích hợp là CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD29, CD41, CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD49e, CD49f, CD103 và CD104. Các ví dụ không giới hạn về các lectin thích hợp là lectin typ S, typ C, và typ I. Các ví dụ về các kháng thể đối với CEA được thể hiện trên bảng 1.

Bảng 1

Các kháng thể CEA			
Các dòng Ab	Patent	Người thụ quyền	Bình luận
COL-1	US 6,417,337	The Dow Chemical Company	Được làm giống như của người
806.077	US 6,903,203	AstraZeneca UK Ltd.	Được làm giống như của người
T84.66	US 7,776,330	City of Hope	Được làm giống như của người

Các kháng thể mà gắn kết với kháng nguyên CD22 được biểu hiện trên các tế bào B của người B gồm, ví dụ, HD6, RFB4, UV22-2, To15, 4KB128 và kháng thể

kháng CD22 được làm giống như của người (hLL2) (xem, ví dụ, Li *et al.* (1989) *Cell. Immunol.* 111: 85-99; Mason *et al.* (1987) *Blood* 69: 836-40; Behr *et al.* (1999) *Clin. Cancer Res.* 5: 3304s-3314s; Bonardi *et al.* (1993) *Cancer Res.* 53: 3015-3021).

Các kháng thể đối với CD33 gồm, ví dụ, HuM195 (xem, ví dụ, Kossman *et al.* (1999) *Clin. Cancer Res.* 5: 2748-2755; US5693761) và CMA-676 (xem, ví dụ, Sievers *et al.*, (1999) *Blood* 93: 3678-3684).

Các kháng thể kháng MUC-1 minh họa gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở Mc5 (xem, ví dụ, Peterson *et al.* (1997) *Cancer Res.* 57: 1103-1108; Ozzello *et al.* (1993) *Breast Cancer Res. Treat.* 25: 265-276), và hCTMO1 (xem, ví dụ, Van Hof *et al.* (1996) *Cancer Res.* 56: 5179-5185).

Các kháng thể kháng TAG-72 minh họa gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở CC49 (xem, ví dụ, Pavlinkova *et al.* (1999) *Clin. Cancer Res.* 5: 2613-2619), B72.3 (xem, ví dụ, Divgi *et al.* (1994) *Nucl. Med. Biol.* 21: 9-15), và các kháng thể được bộc lộ trong patent Mỹ số 5,976,531.

Các kháng thể kháng HM1.24 minh họa gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, kháng thể đơn dòng của chuột kháng HM1.24 và kháng thể IgG1kappa kháng HM1.24 được làm giống như của người (xem, ví dụ, Ono *et al.* (1999) *Mol. Immuno.* 36: 387-395).

Theo các phương án nhất định, nửa hướng đích gồm kháng thể kháng Her2. Gen *erBB 2*, thường được biến hơn dưới dạng (Her-2/neu), là gen gây ung thư mã hóa thụ thể xuyên màng. Một vài kháng thể đã được phát triển kháng lại Her-2/neu, và một số trong số vài kháng thể này đã được sử dụng trên lâm sàng. Các kháng thể này gồm trastuzumab (ví dụ, HERCEPTIN™; Fornir *et al.* (1999) *Oncology (Huntingt)* 13: 647-58), TAB-250 (Rosenblum *et al.* (1999) *Clin. Cancer Res.* 5: 865-874), BACH-250 (Id.), TA1 (Maier *et al.* (1991) *Cancer Res.* 51: 5361-5369), và các mAb được mô tả trong các patent Mỹ số 5,772,997; 5,770,195 (mAb 4D5; ATCC CRL 10463); và patent Mỹ số 5,677,171.

Các kháng thể kháng Her2/neu hoàn toàn của người khác đã được biết rõ đối với

các chuyên gia trong lĩnh vực này. Các kháng thể này gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các kháng thể C6 như C6.5, DPL5, G98A, C6MH3-B1, B1D2, C6VLB, C6VLD, C6VLE, C6VLF, C6MH3-D7, C6MH3-D6, C6MH3-D5, C6MH3-D3, C6MH3-D2, C6MH3-D1, C6MH3-C4, C6MH3-C3, C6MH3-B9, C6MH3-B5, C6MH3-B48, C6MH3-B47, C6MH3-B46, C6MH3-B43, C6MH3-B41, C6MH3-B39, C6MH3-B34, C6MH3-B33, C6MH3-B31, C6MH3-B27, C6MH3-B25, C6MH3-B21, C6MH3-B20, C6MH3-B2, C6MH3-B16, C6MH3-B15, C6MH3-B11, C6MH3-B1, C6MH3-A3, C6MH3-A2, và C6ML3-9. Các kháng thể này và các kháng thể kháng HER2/neu khác được mô tả trong các patent Mỹ số 6,512,097 và 5,977,322, trong công bố đơn quốc tế số WO 97/00271, trong Schier *et al.* (1996) J Mol Biol 255: 28-43, Schier *et al.* (1996) J Mol Biol 263: 551-567, v.v..

Thông thường hơn, các kháng thể mà hướng đến các thành viên khác nhau của họ thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì là rất thích hợp để sử dụng làm các kháng thể hướng đích hoặc các phần gắn kết kháng nguyên của chúng trong các cấu trúc theo sáng chế. Các kháng thể này gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các kháng thể kháng EGFR như được mô tả trong các patent Mỹ số 5,844,093 và 5,558,864, và trong patent châu Âu số 706,799A. Các kháng thể họ kháng EGFR được minh họa khác bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các kháng thể như C6.5, C6ML3-9, C6MH3-B1, C6-B1D2, F5, HER3.A5, HER3.F4, HER3.H1, HER3.H3, HER3.E12, HER3.B12, EGFR.E12, EGFR.C10, EGFR.B11, EGFR.E8, HER4.B4, HER4.G4, HER4.F4, HER4.A8, HER4.B6, HER4.D4, HER4.D7, HER4.D11, HER4.D12, HER4.E3, HER4.E7, HER4.F8 và HER4.C7 và các kháng thể tương tự (xem, ví dụ, các công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US 2006/0099205 A1 và US 2004/0071696 A1, các tài liệu này được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn).

CD38 được đặc biệt quan tâm để làm đích cho kháng thể đối với các cấu trúc protein dung hợp theo sáng chế. Các kháng thể đối với CD38 bao gồm, ví dụ, AT13/5 (xem, ví dụ, Ellis *et al.* (1995) J. Immunol. 155: 925-937), HB7, v.v..

Sáng chế còn đề xuất các chế phẩm chứa các polypeptit dung hợp theo sáng chế. Các chế phẩm này có thể còn chứa ít nhất là một trong số các chất phụ trợ thích hợp bất kỳ, như, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất pha loãng, chất kết dính, chất làm ổn định,

chất đệm, muối, dung môi ưa béo, chất bảo quản, chất phụ gia hoặc các chất tương tự. Các chất phụ trợ được dùng là được ưu tiên. Các phương pháp điều chế và các ví dụ không giới hạn về các dung dịch vô trùng này đã được biết rõ trong lĩnh vực này, như, nhưng không chỉ giới hạn ở, trong Gennaro, Ed., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, Mack Publishing Co. (Easton, Pa.) 1990. Các chất mang được dùng có thể được chọn theo thông lệ mà thích hợp đối với cách dùng, độ hòa tan và/hoặc độ ổn định của chế phẩm kháng thể như được biết rõ trong lĩnh vực này hoặc như được mô tả ở đây.

Tá dược và các chất bổ trợ được dùng hữu ích trong chế phẩm theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, protein, peptit, axit amin, lipid, và hydrat cacbon (chẳng hạn, đường, bao gồm monosacarit, di-, tri-, tetra-, và oligosacarit; đường được tạo dẫn xuất như alditol, axit aldonic, đường được este hóa v.v.; và các polysacarit hoặc polyme của đường), có thể có mặt ở dạng riêng rẽ hoặc kết hợp, gồm một loại hoặc dạng kết hợp chứa trọng lượng hoặc thể tích từ 1 đến 99,99%. Ví dụ về tá dược protein bao gồm albumin huyết thanh, như albumin huyết thanh người (human serum albumin - HSA), albumin người tái tổ hợp (recombinant human albumin - rHA), gelatin, casein, và các chất tương tự. Các axit amin đại diện mà cũng có thể có chức năng đệm bao gồm alanin, glyxin, arginin, betain, histidin, axit glutamic, axit aspartic, cystein, lysin, leucin, isoleucin, valin, methionin, phenylalanin, aspartam và các chất tương tự. Một axit amin được ưu tiên là histidin. Axit amin được ưu tiên thứ hai là arginin.

Tá dược hydrat cacbon thích hợp để dùng trong sáng chế bao gồm, ví dụ, các monosacarit, như fructoza, maltoza, galactoza, glucoza, D-manoza, sorboza và các chất tương tự; các disacarit, như lactoza, sucroza, trehaloza, cellobioza, và các chất tương tự; các polysacarit, như raffinosa, melezitoza, maltodextrin, dextran, tinh bột, và các chất tương tự; và các alditol, như manitol, xylitol, maltitol, lactitol, xylitol sorbitol (gluxitol), myoinositol và các chất tương tự. Tá dược hydrat cacbon được ưu tiên để dùng trong sáng chế này là manitol, trehaloza, và raffinosa.

Chế phẩm kháng thể cũng có thể chứa chất đệm hoặc chất điều chỉnh độ pH; thông thường, chất đệm là muối được điều chế từ axit hoặc bazơ hữu cơ. Chất đệm đại diện bao gồm muối của axit hữu cơ, như muối của axit citric, axit ascorbic, axit

gluconic, axit cacbonic, axit tartaric, axit succinic, axit axetic, hoặc axit phthalic; Tris, trometamin hydroclorua, chất đệm phosphat hoặc chất đệm axit amin. Chất đệm ưu tiên để dùng trong chế phẩm theo sáng chế là muối của axit hữu cơ, như xitrat hoặc các axit amin.

Ngoài ra, chế phẩm theo sáng chế có thể chứa tá dược/chất bổ trợ polyme, như polyvinylpyrrolidon, các ficoll (đường được polyme hóa), các dextrat (ví dụ, xyclodextrin, như 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin), các polyetylen glycol, các chất tạo mùi, các chất kháng vi sinh vật, các chất tạo ngọt, các chất chống oxy hóa, các chất chống tĩnh điện, các chất hoạt động bề mặt (ví dụ, các polysorbat như “TWEEN® 20” và “TWEEN® 80”), các lipid (ví dụ, các phospholipit, các axit béo), các steroid (ví dụ, cholesterol), và chất tạo chelat (ví dụ, EDTA).

Các tá dược này và các tá dược và/hoặc chất bổ trợ được dụng đã biết khác thích hợp để sử dụng trong các chế phẩm kháng thể theo sáng chế là đã được biết đến trong lĩnh vực này, ví dụ, như được liệt kê trong “Remington: The Science & Practice of Pharmacy”, 19 th ed., Williams & Williams, (1995), và trong “Physician's Desk Reference”, 52 nd ed., Medical Economics, Montvale, N.J. (1998), toàn bộ nội dung của các tài liệu này được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn. Chất mang hoặc tá dược được ưu tiên là các hydrat cacbon (ví dụ, các sacarit và các alditol) và các chất đệm (ví dụ, xitrat) hoặc các chất polyme.

Chuyên gia trong lĩnh vực này sẽ hiểu rõ rằng sáng chế được mô tả ở đây là nhạy với các biến đổi và các cải biến ngoài các biến đổi và các cải biến được mô tả cụ thể. Cần phải hiểu rằng sáng chế gồm tất cả các biến đổi và các cải biến mà nằm trong tinh thần và phạm vi của sáng chế. Sáng chế cũng gồm tất cả các bước, các dấu hiệu, các chế phẩm và các hợp chất được đề cập hoặc được chỉ rõ trong bản mô tả này, một cách riêng rẽ hoặc một cách kết hợp, và sự kết hợp bất kỳ và tất cả các kết hợp của hai hoặc nhiều bước hoặc dấu hiệu bất kỳ trong số các bước hoặc các dấu hiệu đã nêu.

Trừ khi có quy định khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả có cùng nghĩa như thường được hiểu bởi người có kỹ năng trung bình về lĩnh vực của sáng chế này. Mặc dù các phương pháp và vật liệu tương tự hoặc

tương đương với các phương pháp và vật liệu được mô tả trong bản mô tả có thể được dùng để thực hành hoặc thử nghiệm sáng chế, các phương pháp và vật liệu được ưu tiên sẽ được mô tả dưới đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Phương pháp chung

Sản xuất các cấu trúc dung hợp kháng thể ở các tế bào HEK-293E.

Các trình tự ADN của một số miền trong các polypeptit dung hợp theo sáng chế được cung cấp trong danh mục trình tự đính kèm được kết hợp ở đây. Các plasmid ADN mã hóa các cấu trúc protein (các cấu trúc dung hợp kháng thể-IFN α 2b đã suy yếu) được tạo ra bằng cách sử dụng kit HiSpeed Plasmid Maxi (Qiagen, Valencia, CA) và sau đó được chuyển nhiễm vào các tế bào HEK293E (CNRC, Montreal, Canada), được sinh trưởng trong môi trường tổng hợp F17 được bổ sung 0,45% (trọng lượng/thể tích) D-(+)-Glucose (Sigma, Castle Hill, NSW), 25 μ g/mL Geneticin (Invitrogen, Carlsbad, CA), và 1 x GlutaMAX (Invitrogen, Carlsbad, CA) sử dụng tác nhân chuyển nhiễm có trên thị trường và môi trường OptiMEM (Invitrogen, Carlsbad, CA). Sau khi để biểu hiện trong 6 ngày trong tủ áp được cung cấp 5% CO₂ và lắc ở tốc độ 120 vòng/phút, môi trường nuôi cấy được phân lập và được đưa đi tinh chế ái lực bằng cách sử dụng hạt agarose Protein A Mab Select SuRe™ (GE Healthcare, Piscataway, NJ). Các cấu trúc protein đã tinh chế được trao đổi với dung dịch đệm vào cột chứa 0,2M arginin HCl, 25mM axit xitric, 71,5mM natri hydroxit ở độ pH 6,0 bằng cách sử dụng cột PD Midi-Trap G-25 (GE Healthcare, Piscataway, NJ) hoặc cột HiPrep 26/10 Desalting (HiTrap Desalting HiPrep 26/10 Desalting). Tiếp theo, các cấu trúc protein đã tinh chế được cô đặc bằng cách sử dụng thiết bị lọc siêu ly tâm Amicon 50 kDa (Millipore, Billerica, MA), sau đó xác định hàm lượng protein bằng cách đọc độ hấp thụ ở 280 nm.

Sản xuất các cấu trúc dung hợp kháng thể ở các tế bào EXPI293.

Các plasmid ADN mã hóa các cấu trúc protein (các cấu trúc có liên quan đến kháng thể- IFN α 2b) được điều chế bằng cách sử dụng kit HiSpeed Plasmid Maxi (Qiagen, Valencia, CA) và sau đó được chuyển nhiễm vào các tế bào EXPI293 (Life

Technologies, Carlsbad, CA), được sinh trưởng trong môi trường biểu hiện EXPI (Life Technologies, Carlsbad, CA) sử dụng tác nhân chuyển nhiễm được cung cấp trong kit chuyển nhiễm EXPI293 và môi trường OptiMEM (Invitrogen, Carlsbad, CA). Sau khi để biểu hiện trong 3 ngày trong tủ áp được cung cấp 5% CO₂ và lắc ở tốc độ 125 vòng/phút, môi trường nuôi cấy được phân lập và được đưa đi tinh chế ái lực bằng cách sử dụng hạt agarose Protein A Mab Select SuRe™ (GE Healthcare, Piscataway, NJ). Các cấu trúc protein đã tinh chế được trao đổi với dung dịch đệm vào cột chứa 0,2M arginin HCl, ở độ pH 6,0 bằng cách sử dụng cột PD Midi-Trap G-25 (GE Healthcare, Piscataway, NJ) hoặc cột HiPrep 26/10 Desalting (HiTrap Desalting HiPrep 26/10 Desalting). Tiếp theo, các cấu trúc protein đã tinh chế được cô đặc bằng cách sử dụng thiết bị lọc siêu ly tâm Amicon 50 kDa (Millipore, Billerica, MA), sau đó xác định hàm lượng protein bằng cách đọc độ hấp thụ ở 280 nm.

Sản xuất các cấu trúc dung hợp kháng thể ở các tế bào CHO.

Các plasmit ADN mã hóa các cấu trúc protein (các cấu trúc liên quan đến kháng thể-IFN α 2b) được tạo ra bằng cách sử dụng kit HiSpeed Plasmid Maxi (Qiagen, Valencia, CA) và tiếp theo được chuyển nhiễm vào các tế bào CHO (Lonza) được sinh trưởng trong môi trường biểu hiện Freestyle™ CHO (Invitrogen, Carlsbad, CA) bằng cách sử dụng tác nhân chuyển nhiễm có trên thị trường và môi trường OptiPro SFM™ (Invitrogen, Carlsbad, CA). Sau khi để biểu hiện trong 6 ngày trong tủ áp được cung cấp 10% CO₂ và lắc ở tốc độ 120 vòng/phút, môi trường nuôi cấy được phân lập và được đưa đi tinh chế ái lực bằng cách sử dụng hạt agarose Protein A Mab Select SuRe™ (GE Healthcare, Piscataway, NJ). Các cấu trúc protein đã tinh chế được trao đổi với dung dịch đệm vào cột chứa 0,2M arginin.HCl, 25mM axit xitric, 71,5mM natri hydroxit ở độ pH 6,0 bằng cách sử dụng cột PD Midi-Trap G-25 (GE Healthcare, Piscataway, NJ) hoặc cột HiPrep 26/10 Desalting (HiTrap Desalting HiPrep 26/10 Desalting). Tiếp theo, các cấu trúc protein đã tinh chế được cô đặc bằng cách sử dụng thiết bị lọc siêu ly tâm Amicon 50 kDa (Millipore, Billerica, MA), sau đó xác định hàm lượng protein bằng cách đọc độ hấp thụ ở 280 nm.

Phương pháp đo hoạt tính hướng đích kháng nguyên của các cấu trúc protein dung hợp kháng thể-IFN α 2b

“Thử nghiệm tại đích (Daudi)”: Thử nghiệm này được sử dụng để định lượng hoạt tính chống tăng sinh của IFN α 2b và các cấu trúc protein dung hợp kháng thể-IFN α 2b đối với các tế bào mà biểu hiện cả thụ thể IFN và kháng nguyên được hướng đích bởi kháng thể mà được dung hợp với IFN α 2b. Các tế bào Daudi biểu hiện các kháng nguyên kết hợp với bề mặt tế bào là cả CD20 và CD38, cũng như các thụ thể IFN bề mặt tế bào. Khả năng sống sót của các tế bào Daudi được xác định bằng cách sử dụng chất phản ứng CellTiter-Glo®, Cat #G7570, của Promega (Madison, Wisconsin). Đây là thử nghiệm trên cơ sở sự phát quang xác định khả năng sống sót của các tế bào trong môi trường nuôi cấy dựa trên việc định lượng ATP. Cường độ tín hiệu tỷ lệ với số lượng các tế bào sống sót trong lỗ của đĩa vi chuẩn độ. Chi tiết của thử nghiệm này là như sau:

Các tế bào Daudi (thu được từ ATCC, Manassas, VA) được nuôi cấy trong bình T75 (TPP, Trasadingen, Switzerland, cat# 90076) đến mật độ được ưu tiên nằm trong khoảng từ $0,5 \times 10^5$ đến $0,8 \times 10^5$ tế bào sống sót/ml trong RPMI 1640 (Mediatech, Inc., Manassas, VA, cat # 10-040-CV) với 10% huyết thanh bào thai bò (FBS; Hyclone, Logan, UT cat# SH30070.03). Thu hoạch tế bào bằng cách ly tâm ở tốc độ 400g trong năm phút, gạn phần dịch nổi, và tái tạo huyền phù đối với viên kết tế bào trong RPMI 1640 + 10% FBS. Tiếp theo, các tế bào được đếm và mật độ được điều chỉnh đến $3,0 \times 10^5$ tế bào/ml trong RPMI 1640 + 10% FBS. Tiếp theo, 50 μ l huyền phù tế bào được phân vào mỗi lỗ của đĩa nuôi cấy mô đáy tròn 96 lỗ (dưới đây được gọi là “đĩa thí nghiệm”) (TPP, cat# 92067). Trên một đĩa 96 lỗ vô trùng riêng biệt (dưới đây gọi là “đĩa pha loãng”; Costar, Corning, NY cat# 3879), các mẫu kiểm tra được pha loãng theo dãy làm hai mẫu trong RPMI 1640 + 10% FBS. Tiếp theo, 50 μ l/lỗ được chuyển từ đĩa pha loãng sang đĩa thí nghiệm. Tiếp theo, đĩa thí nghiệm được ủ trong 4 ngày ở 37°C với 5% CO₂.

Hỗn hợp gồm dung dịch đệm thử nghiệm được cung cấp bởi nhà sản xuất và cơ chất thử nghiệm (dưới đây gọi là “chất phản ứng CellTiterGlo”, được trộn theo hướng dẫn của nhà sản xuất) được bổ sung vào đĩa thí nghiệm ở mức 100 μ l/lỗ. Đĩa được lắc trong hai phút. Tiếp theo, 100 μ l/lỗ được chuyển từ đĩa thí nghiệm vào đĩa màu trắng đục đáy bằng 96 lỗ (dưới đây gọi là “đĩa thử nghiệm”; BD Biosciences, Franklin Lakes,

NJ cat# 35 3296). Tiếp theo, toàn bộ phần có trong đĩa thử nghiệm được để ổn định trong bóng tối trong 15 phút ở nhiệt độ trong phòng. Đĩa được đọc trên thiết bị đếm Victor 3V Multilabel Counter (Perkin Elmer, Waltham, MA, model# 1420-041) trên kênh đo độ phát quang và độ phát quang được đo. Kết quả được biểu thị dưới dạng “đơn vị phát quang tương đối” (relative luminescence units - RLU).

Dữ liệu được phân tích bằng cách sử dụng chương trình Prism 5 (Graphpad, San Diego, CA) sử dụng phương pháp hồi quy không tuyến tính và khớp vào đường cong 3 thông số để xác định điểm giữa của đường cong (EC50). Đối với mỗi mẫu kiểm tra, hiệu lực so với IFN α 2b tự do (hoặc một số dạng khác của IFN với hiệu lực đã biết so với IFN α 2b) được tính dưới dạng tỷ số của các EC50.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rõ rằng cũng có thể sử dụng nhiều thử nghiệm thường dùng khác để xác định khả năng sống sót của tế bào.

“Thử nghiệm tại đích (ARP)” (đôi khi dưới đây còn được gọi là “thử nghiệm hướng đích”): Dòng tế bào đa u tủy ARP-1 là quà tặng của tiến sỹ Bart Barlogie MD, Giám đốc Viện u tủy thuộc Đại học của Trung tâm y tế Arkansas (Little Rock, AK). Dòng tế bào này được mô tả trong tài liệu: Hardin J. et al. (Interleukin-6 prevents dexamethasone-induced myeloma cell death. Blood; 84:3063, 1994). Các tế bào ARP-1 (CD38⁺) được sử dụng để kiểm tra các cấu trúc protein dung hợp kháng thể hướng đích CD38-IFN. Điều kiện nuôi cấy và điều kiện thử nghiệm là giống như đối với thử nghiệm trên cơ sở Daudi được phác họa trên đây, ngoại trừ các yếu tố sau: ARP-1 được nuôi cấy đến mật độ $4,0 \times 10^5$ đến $6,0 \times 10^5$ tế bào/ml. Nồng độ ARP-1 được điều chỉnh đến $1,0 \times 10^4$ tế bào/ml trước khi thử nghiệm.

Ví dụ 1

Các điểm đẳng điện của các protein dung hợp kháng thể kháng CD38- IFN α 2b đã suy yếu

Các tế bào được chuyển nhiễm tạm thời khác nhau biểu hiện các cấu trúc dung hợp kháng thể kháng CD38-IFN α 2b đã suy yếu (Bảng 2) được thu hoạch và tinh chế bằng cách sử dụng cột Mab Select Sure Protein A. Các mẫu được khử muối trong

200mM Arginin, 25mM Histidin, độ pH bằng 6,5 bằng cách sử dụng cột HiLoad Superdex 200.

Bảng 2: Bảng các cấu trúc

Các cấu trúc kháng thể	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	48	81	25	87, 31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, ΔT106)	48	81	110	61
A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106T)	50	81	107	
A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106A)	50	81	25	68
A10.21 IgG1 IFN (A145D, ΔT106)	50	81		83
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	55	81	107	
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	55	81	25	74
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	49	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	49	81	25	62
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I, T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I, T106A)	48	81	24	63
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106A)	48	81	25	64
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106A)	48	81	25	64

Các cấu trúc kháng thể	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106T)	48	81	109	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106A)	48	81	13	65
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106A)	48	81	25	66
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106T)	51	81	107	
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106A)	51	81	25	69
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106T)	53	81	107	
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106A)	53	81	25	72
A10.21 IgG2 (A330S, P331S) IFN (A145D, T106T)		81	107	
A10.21 IgG2 (A330S, P331S) IFN (A145D, T106A)		81	25	
A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	58	84	107	
A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	58	84	25	77
IgG4 kháng CD138 (S228P) IFN (A145D, T106T)	59	85	107	
IgG4 kháng CD138 (S228P) IFN (A145D, T106A)	59	85	25	
IgG4 kháng HLA (S228P) IFN (A145D, T106T)	60	86	107	
IgG4 kháng HLA (S228P) IFN (A145D, T106A)	60	86	25	

Các gel điều tiêu đẳng điện được sử dụng để xác định điểm đẳng điện (pI) của polypeptit dung hợp và để phát hiện các thay đổi nhỏ trong protein do các cải biến sau phiên mã như phosphoryl hóa và glycosyl hóa.

Gel IEF chế sẵn được nạp vào các thùng chứa đảm bảo sự bịt kín giữa gel và chất đệm. Sau đó 200mL 1x dung dịch đệm Catot được rót vào khoang trong đảm bảo rằng dung dịch đệm không đi ra được khoang ngoài. Sau đó 500mL 1x dung dịch đệm được rót vào khoang ngoài và được nạp đến $\frac{3}{4}$ thùng. Sau khi các mẫu và thang đo được tải lên gel, nó được chạy trong 1 giờ ở điện áp 100 vôn, 1 giờ ở điện áp 200 vôn

và ½ giờ ở điện áp 500 vôn. Ngay sau khi việc chạy gel kết thúc, gel được lấy ra và cố định trong dung dịch TCA trong bình chứa thủy tinh trong 30 phút. Sau đó gel này được rửa tức thì 3 lần bằng nước khử ion. Gel này được nhuộm màu trong SimplyBlue SafeStain (Invitrogen Life Technologies) trong đủ một giờ, và để qua đêm trong nước để làm mất màu. Hình ảnh cuối cùng được quét bằng cách sử dụng máy quét.

Điểm glycosyl hóa được liên kết với O của phần IFN α 2b của các cấu trúc dung hợp kháng thể-interferon đã suy yếu được loại bỏ hoặc bằng cách thế threonin 106 (T106) của interferon bằng alanin (được thể hiện như là T106A), serin (T106S), valin (T106V), glyxin (T106G) hoặc axit glutamic (T106E) hoặc bằng cách xóa bỏ T106 (được thể hiện như là Δ T106). Hiệu quả của các thay đổi này đối với pI và tính không đồng nhất của các cấu trúc dung hợp được nghiên cứu bằng cách so sánh các cấu trúc có và không có sự glycosyl hóa được liên kết với O bằng cách phân tách trên các gel IEF.

Trong mỗi trường hợp, việc xóa bỏ T106 hoặc thế T106 bằng alanin, serin, valin, glyxin hoặc axit glutamic làm giảm số lượng các dạng mang điện tích quan sát được trên gel IEF, như được chứng minh bằng số lượng các dải giảm khi được trực tiếp so sánh với trường hợp T106 không được cải biến, và do đó tính không đồng nhất của cấu trúc dung hợp được làm giảm (Fig.9). Sự giảm số lượng của các dạng mang điện tích trên gel IEF và do đó sự giảm tính không đồng nhất của phân tử kết hợp với T106S là phù hợp với việc loại bỏ sự glycosyl hóa được liên kết với O ở gốc 106 của IFN α 2b.

Việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O trong phần IFN đã suy yếu của các cấu trúc dung hợp với kháng thể dẫn đến pI gia tăng so với các protein được glycosyl hóa liên kết với O. Sử dụng đầu trước A10.21 của kháng thể tương tự, xu hướng này vẫn duy trì bất kể kiểu isotyp của kháng thể là IgG4, IgG1, IgG1 AA (IgG1 L235A, G237A, dạng giảm chức năng cảm ứng của IgG1), IgG2 hay IgG2 SS (IgG2 (A330S, P331S)) trong các cấu trúc (Fig.10).

Các sự thế YTE (M252Y, S254T, T256E) đã được chứng minh là làm tăng ái lực đối với FcRn, có thể gia tăng thời gian bán thải của các kháng thể. Các thí nghiệm khác kiểm tra liệu các sự thế ở các phần khác của các cấu trúc dung hợp kháng thể-IFN có

tác động đến tính không đồng nhất giảm có được do sự xóa bỏ hoặc thể T106 hay không. Tính không đồng nhất của cấu trúc dung hợp A10.21 được glycosyl hóa kháng CD38-IFN α 2b đã suy yếu (YTE, T106T) và cấu trúc dung hợp IFN không được glycosyl hóa với các sự thể YTE (YTE, T106A) được đánh giá trên các gel IEF. Việc loại bỏ sự glycosyl hóa của thành phần IFN α 2b của các cấu trúc dung hợp mang các sự đột biến YTE làm giảm tính không đồng nhất (Fig.11).

Sự làm suy yếu IFN α 2b đạt được bằng sự thể các gốc axit amin chủ chốt mà chịu trách nhiệm gắn kết với các thụ thể IFN. Số lượng các dạng mang điện tích của các cấu trúc A10.21 IgG4 (S228P) IFN với các sự thể axit amin làm suy yếu khác nhau trong IFN α 2b, có (T106T) hoặc không có sự glycosyl hóa được liên kết với O (T106A) của thành phần IFN α 2b được đánh giá. Các gốc axit amin riêng rẽ Arginin-33, Arginin-144 và Alanin-145 của IFN α 2b được thể đồng thời với Alanin cho gốc 33 (R33A), Isoleucin cho gốc 144 (R144I) hoặc Lysin, Glyxin hoặc Glutamin cho gốc 145 (A145K, A145G, A145Q). Khi được trực tiếp so sánh, các cấu trúc dung hợp IFN được aglycosyl hóa là ít không đồng nhất hơn so với các dạng đối chiếu được glycosyl hóa của chúng (Fig.12).

Sự giảm tính không đồng nhất được thể hiện là độc lập với phần kháng thể của cấu trúc dung hợp. Việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O trong phần IFN α 2b đã suy yếu của các cấu trúc dung hợp kháng thể (IgG4 (S228P)) -IFN đã suy yếu với tính đặc hiệu đối với HLA, CD138 và CD38 (epitop khác trên CD38 đối với kháng thể A10.21 - kháng thể A02.12) cũng dẫn đến sự giảm tính không đồng nhất (Fig.13) như được phát hiện bởi IEF.

Ví dụ 2

Hoạt tính chống tăng sinh của các protein dung hợp kháng thể-Interferon α 2b đã suy yếu

Tác dụng chống tăng sinh của IFN α 2b bao gồm hoạt tính trực tiếp và gián tiếp. Hoạt tính trực tiếp xảy ra thông qua việc ức chế sự tăng trưởng tế bào ung thư bằng sự kìm hãm chu trình tế bào (Matsui et al. 2003), sự chết tế bào theo chương trình bằng các con đường phụ thuộc thụ thể chết (Crowder et al. 2005) và không phụ thuộc thụ thể

chế (Otsuki et al. 1998), hoặc sự biệt hóa (Matsui et al. 2003). Tính gây độc tế bào trực tiếp đặc hiệu đối với đích của các protein dung hợp kháng thể-interferon đã suy yếu được xác định đối với các dòng tế bào dương tính với đích sử dụng thử nghiệm khả năng sống sót tế bào phát quang.

Các mẫu trình tự dẫn đầu dạng kháng CD38-IFN

Các cấu trúc (Bảng 3) hoặc được tách dòng ổn định hoặc được chuyển nhiễm tạm thời và được thu hoạch và được tinh chế bằng cách sử dụng cột Mab Select Sure Protein A. Các mẫu được khử muối trong 200mM Arginin, 25mM Histidin, độ pH bằng 6,5 bằng cách sử dụng cột HiLoad Superdex 200.

Bảng 3: Bảng các cấu trúc

Các cấu trúc kháng thể	Chuỗi nặng	SEQ ID NO.		
		Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	48	81	25	87, 31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, ΔT106)	48	81	110	61
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	49	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	49	81	25	62
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I T106T)	48	81	108	

Các cấu trúc kháng thể		SEQ ID NO.			
		Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I, T106A)	48	81	24	63	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106T)	48	81	107		
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106A)	48	81	25	64	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106T)	48	81	107		
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106A)	48	81	25	64	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106T)	48	81	109		
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106A)	48	81	13	65	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106T)	48	81	107		
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106A)	48	81	25	66	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145N, T106T)	48	81	107		
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145N, T106A)	48	81	25	66	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144N, T106T)	48	81	108		
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144N, T106A)	48	81	24	67	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144H, T106T)	48	81	108		
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144H, T106A)	48	81	24	67	
A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106T)	50	81	107		
A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106A)	50	81	25	68	
A10.21 IgG1 IFN (A145D, ΔT106)	50	81	110	83	
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106T)	51	81	107		

Các cấu trúc kháng thể	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106A)	51	81	25	69
A10.21 IgG1 (L235A, G237A, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	52	81	107	
A10.21 IgG1 (L235A, G237A, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	52	81	25	
A10.21 IgG1 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	52	81	107	
A10.21 IgG1 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)		81	25	70
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106T)	53	81	107	
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106A)	53	81	25	72
A10.21 IgG2 (A330S, P331S) IFN (A145D, T106T)		81	107	
A10.21 IgG2 (A330S, P331S) IFN (A145D, T106A)		81	25	
A10.21 IgG2 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	54	81	107	
A10.21 IgG2 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	54	81	25	73
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	55	81	107	
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	55	81	25	74
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	75	82	107	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106R)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106N)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	75	82	25	

Các cấu trúc kháng thể	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
T106D)				
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106C)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Q)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106H)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106I)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106L)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106K)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106M)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106F)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106P)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106W)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Y)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	75	82	25	
A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	58	84	107	
A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	58	84	25	77

Các cấu trúc kháng thể		SEQ ID NO.		
		Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
OPG-Fc (IgG2) IFN (A145D, T106T)	57		107	
OPG-Fc (IgG2) IFN (A145D, T106A)	57		25	78
IgG4 kháng CD138 (S228P) IFN (A145D, T106T)	59	85	107	
IgG4 kháng CD138 (S228P) IFN (A145D, T106A)	59	85	25	
IgG4 kháng HLA (S228P) IFN (A145D, T106T)	60	86	107	
IgG4 kháng HLA (S228P) IFN (A145D, T106A)	60	86	25	

IFN α 2b thương mại

INTRON® A, IFN α 2b được sản xuất bằng vi khuẩn thương mại của Schering-Plough, được sử dụng làm đối chứng dương.

Đo hoạt tính chống tăng sinh

Hoạt tính chống tăng sinh được đo bằng cách sử dụng các phương pháp được mô tả trên đây “thử nghiệm tăng sinh tế bào Daudi” và “thử nghiệm tăng sinh tế bào ARP-1”. Phương pháp thử nghiệm tăng sinh tế bào ARP-1 được sử dụng với dòng tế bào bổ sung NCI-H929 để đo hoạt tính chống tăng sinh của protein dung hợp kháng thể-IFN α 2b đã suy yếu. Trong một số thí nghiệm, các đĩa được đọc trên thiết bị đo độ phát quang vi đĩa GloMax® 96 chuyên biệt và các chất phản ứng CellTiter-Glo® 2.0 được sử dụng thay cho CellTiter-Glo ban đầu, cả hai chất này đều không tác động đến kết quả. Thử nghiệm tăng sinh tế bào ARP-1/ NCI-H929 hoặc Daudi được sử dụng để định lượng hoạt tính chống tăng sinh của các IFN và các cấu trúc protein dung hợp kháng thể-IFN α 2b đã suy yếu đối với các tế bào biểu hiện CD38. Các tế bào Daudi, ARP1 và NCI-H929 biểu hiện CD38 dưới dạng kháng nguyên kết hợp với bề mặt tế bào. Chi tiết của các thử nghiệm này là như sau:

Khả năng sống sót của các tế bào trong thử nghiệm tăng sinh tế bào ARP-1/ NCI-H929 được đo bằng cách sử dụng chất phản ứng CellTiter-Glo® 2.0, Cat # G9242, của

Promega (Madison, Wisconsin). Đây là thử nghiệm trên cơ sở sự phát quang xác định khả năng sống sót của các tế bào trong môi trường nuôi cấy dựa trên việc định lượng ATP. Cường độ tín hiệu tỷ lệ với số lượng các tế bào sống sót trong lỗ của đĩa vi chuẩn độ. Các tế bào (NCI-H929 từ ATCC, Manassas, VA và ARP-1, quà tặng của tiến sỹ Bart Barlogie MD, Giám đốc Viện u tủy thuộc Đại học của Trung tâm y tế Arkansas; Little Rock, AK) được nuôi cấy trong bình T75 (TPP, Trasadingen, Switzerland, cat# 90076) đến mật độ được ưu tiên nằm trong khoảng từ $0,5 \times 10^5$ đến $0,8 \times 10^5$ tế bào sống sót/mL trong RPMI 1640 (Mediatech, Inc., Manassas, VA, cat # 10-040- CV) với 10% huyết thanh bào thai bò (FBS; Hyclone, Logan, UT cat# SH30070.03). Thu hoạch tế bào bằng cách ly tâm ở tốc độ 400 x g trong năm phút, gạn phần dịch nổi, và tái tạo huyền phù đối với viên kết tế bào trong RPMI 1640 + 10% FBS. Tiếp theo, các tế bào được đếm và mật độ được điều chỉnh đến $3,0 \times 10^5$ tế bào/mL trong RPMI 1640 + 10% FBS. Tiếp theo, 50 μ L huyền phù tế bào được gieo cấy vào mỗi lỗ của đĩa nuôi cấy mô đáy tròn 96 lỗ (dưới đây được gọi là “đĩa thí nghiệm”) (TPP, cat# 92067). Các tế bào được ủ ở 4°C trong 1 giờ trước khi bổ sung các hợp chất kiểm tra. Trên một đĩa 96 lỗ vô trùng riêng biệt (dưới đây gọi là “đĩa pha loãng”; Costar, Corning, NY cat# 3879), các mẫu kiểm tra được pha loãng theo dãy làm hai mẫu trong RPMI 1640 + 10% FBS. 50 μ L/lỗ được chuyển từ đĩa pha loãng sang đĩa thí nghiệm. Sau đó đĩa thí nghiệm được ủ trong bốn ngày ở 37°C với 5% CO₂. Chất phản ứng “CellTiter-Glo® 2.0”, được bổ sung vào đĩa thí nghiệm ở mức 100 μ L/lỗ. Đĩa được lắc trong hai phút. 100 μ L/lỗ được chuyển từ đĩa thí nghiệm vào đĩa màu trắng đục đáy bằng 96 lỗ (dưới đây gọi là “đĩa thử nghiệm”; BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ cat# 35 3296). Tiếp theo, toàn bộ phần có trong đĩa thử nghiệm được để ổn định trong bóng tối trong 15 phút ở nhiệt độ trong phòng. Đĩa này được đọc trên máy đo độ phát quang vi đĩa GloMax® 96. Kết quả được biểu thị dưới dạng “đơn vị phát quang tương đối” (relative luminescence units - RLU).

Dữ liệu được phân tích bằng cách sử dụng chương trình Prism 5 (Graphpad, San Diego, CA) sử dụng phương pháp hồi quy không tuyến tính và khớp vào đường cong 4 thông số để xác định IC₅₀.

Điểm glycosyl hóa được liên kết với O của các cấu trúc dung hợp kháng thể

kháng CD38-interferon đã suy yếu được loại bỏ hoặc bằng cách thế threonin 106 (T106) bằng alanin (T106A), serin (T106S), valin (T106V), glyxin (T106G) hoặc axit glutamic (T106E) hoặc bằng cách xóa bỏ T106 (được thể hiện như là Δ T106). Tác dụng đối với sự tăng sinh tế bào được nghiên cứu bằng cách so sánh kháng thể A10.21 kháng CD38 được dung hợp với IFN α 2b đã suy yếu có và không có sự glycosyl hóa được liên kết với O. Việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O trong phần IFN đã suy yếu của các cấu trúc dung hợp kháng thể dẫn đến hoạt tính chống tăng sinh gia tăng như được thể hiện bằng IC50 (nM) thấp hơn so với các protein dung hợp được glycosyl hóa liên kết với O tương ứng, tức là, A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T) và A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106T) trên cả tế bào ARP1 (**Error! Reference source not found.**Fig. 1A) và tế bào NCI-H929 (Fig. 1B). Xu hướng này được duy trì bất kể liệu isotyp kháng thể là IgG4 và IgG1.

Sự thế threonin 106 (T106) bằng alanin (T106A), serin (T106S), valin (T106V), glyxin (T106G) hoặc axit glutamic (T106E) dẫn đến sự tăng hoạt tính chống tăng sinh như được thể hiện bằng IC50 (nM) thấp hơn so với các protein dung hợp được glycosyl hóa được liên kết với O. Tất cả các cấu trúc không được glycosyl hóa đều thể hiện hiệu lực “tại đích” cao hơn so với dạng đối chiếu được glycosyl hóa của chúng trên các tế bào NCI-H929 (Fig.14).

Tác động đối với hoạt tính chống tăng sinh của việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O ra khỏi thành phần IFN α 2b đã suy yếu được khảo sát trong phạm vi các protein dung hợp kháng thể kháng CD38-IFN α 2b đã suy yếu. Các biến thể của protein dung hợp kháng thể kháng CD38-IFN α 2b đã suy yếu R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D) có các sự thế axit amin khác nhau tại T106 để loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O trên thành phần IFN (T106A, T106G, T106N, T106F, T106R, T106D, T106E, T106Q, T106H, T106I, T106L, T106K, T106M, T106F, T106P, T106S, T106V, T106Y và T106W, (Bảng 4) được khảo sát và kết quả được thể hiện trên Fig. 2.

Mặc dù mức độ hiệu lực thay đổi giữa các sự thế khác nhau tại điểm T106, tất cả các sự thế mà được dự đoán là dẫn đến việc loại bỏ sự glycosyl hóa được liên kết với O đều làm gia tăng hiệu lực so với protein được glycosyl hóa được liên kết với O tương ứng Fig. 2.

Bảng 4: Các biến thể của cấu trúc dung hợp kháng thể R10A2 kháng CD38-IFN đã suy yếu với các sự thể axit amin khác nhau ở T106 để loại bỏ sự glycosyl hóa được liên kết với O.

Tên cấu trúc	SEQ ID NO.		
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	75	82	107
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106R)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106N)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106D)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106C)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Q)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106H)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106I)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106L)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106K)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106M)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106F)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106P)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106W)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Y)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	75	82	25

Các thay đổi tương đối về hiệu lực giữa hai protein dung hợp kháng thể kháng CD38-interferon khác nhau (A02.12 và A10.21) mà gắn kết các epitop khác nhau trên CD38, có hoặc không có sự glycosyl hóa được liên kết với O (A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T), A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A), A10.21 IgG4

(S228P) IFN (A145D, T106T) và A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A) được đánh giá theo cách thức tương tự. Việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O trong phần IFN đã suy yếu của các cấu trúc dung hợp kháng thể (IgG4 (S228P)) với tính đặc hiệu khác nhau đối với CD38 dẫn đến sự tăng hoạt tính chống tăng sinh bất kể đích của phần kháng thể của cấu trúc (Fig.15).

Việc làm suy yếu IFN α 2b đạt được bằng các sự thể làm suy yếu khác nhau. Hoạt tính chống tăng sinh của các cấu trúc A10.21 IgG4 (S228P) IFN với các sự thể làm suy yếu khác nhau trong IFN α 2b có (T106T) và không có sự glycosyl hóa được liên kết với O (T106A) (Bảng 5) cũng được đánh giá. Việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O trong thành phần IFN α 2b của các cấu trúc với các sự thể làm suy yếu khác nhau làm cho tất cả các cấu trúc này đều có hiệu lực cao hơn so với hiệu lực của dạng đối chiếu được glycosyl hóa của chúng (Fig.16).

Bảng 5: Các cấu trúc A10.21 IgG4 (S228P) IFN với các sự thể làm suy yếu khác nhau trong IFN α 2b có (T106T) và không có sự glycosyl hóa được liên kết với O (T106A).

Tên cấu trúc	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I, T106A)	48	81	24	63
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106A)	48	81	25	64
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106A)	48	81	25	64
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106T)	48	81	109	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106A)	48	81	13	65
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106A)	48	81	25	66
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145N, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145N, T106A)	48	81	25	66

Tên cấu trúc	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144N, T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144N, T106A)	48	81	24	67
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144H, T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144H, T106A)	48	81	24	67

Để nghiên cứu liệu các kháng thể/protein được dung hợp với IFN α 2b đã suy yếu khác mà có các đích gắn kết khác nhau có hoạt tính chống tăng sinh được điều biến như là kết quả của việc loại bỏ sự glycosyl hóa được liên kết với O hay không, 2 cấu trúc được tạo ra (kháng thể kháng CD138 và kháng thể kháng HLA và được dung hợp với IFN (A145D) có hoặc không có sự glycosyl hóa được liên kết với O (Bảng 6) và hai cấu trúc này được kiểm tra hoạt tính chống tăng sinh.

Việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O trong phần IFN đã suy yếu của các cấu trúc dung hợp kháng thể (IgG4 (S228P)) với tính đặc hiệu đối với HLA và CD138 dẫn đến sự tăng hoạt tính chống tăng sinh bất kể đích của phần kháng thể của cấu trúc. Điều này được chứng minh rằng trong các cấu trúc dung hợp kháng thể kháng HLA và CD138 (Fig.17).

Bảng 6: Các cấu trúc của các protein dung hợp IFN khác nhau: kháng thể kháng CD138 và kháng thể kháng HLA được dung hợp với IFN (A145D) có hoặc không có sự glycosyl hóa được liên kết với O

Các cấu trúc kháng thể	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
IgG4 kháng CD138 (S228P) IFN (A145D, T106T)	59	85	107	59
IgG4 kháng CD138 (S228P) IFN (A145D, T106A)	59	85	25	59
IgG4 kháng HLA (S228P) IFN (A145D,	60	86	107	

Các cấu trúc kháng thể	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
T106T)				
IgG4 kháng HLA (S228P) IFN (A145D, T106A)	60	86	25	

Tác dụng đối với hoạt tính chống tăng sinh của việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O ra khỏi các protein dung hợp chứa các sự thể trong vùng Fc để kéo dài thời gian bán thải hoặc giảm chức năng cảm ứng

Các sự thể YTE đã được chứng minh là làm tăng ái lực đối với FcRn, có thể gia tăng thời gian bán thải của các kháng thể. Các kháng thể dung hợp với IFN chứa các sự thể YTE được kiểm tra về hoạt tính chống tăng sinh với sự có mặt và không có mặt sự glycosyl hóa được liên kết với O. Các biến thể dưới đây được làm từ protein dung hợp kháng thể A10.21 kháng CD38-IFN đã suy yếu (Bảng 7).

Việc đưa sự thể YTE vào A10.21 IgG4 (S228P) (A145D, T106A) không tác động đến sự gia tăng hiệu lực do việc loại bỏ sự glycosyl hóa được liên kết với O ra khỏi IFN đã suy yếu (Fig.18).

Các sự thể L235A và G237A trong phần Fc của các biến thể IgG1 và các sự thể A330S và P331S trong phần Fc của các biến thể IgG2 dẫn đến việc giảm chức năng cảm ứng. Các kháng thể IgG1 được dung hợp với IFN đã suy yếu chứa các sự thể L235A và G237A và các kháng thể IgG2 được dung hợp với IFN đã suy yếu chứa các sự thể A330S và P331S được kiểm tra về hoạt tính chống tăng sinh với sự có mặt và không có mặt sự glycosyl hóa được liên kết với O. Các biến thể này được làm từ protein dung hợp kháng thể A10.21 kháng CD38-IFN đã suy yếu (Bảng 7). Việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O trong phần IFN đã suy yếu của các cấu trúc dung hợp kháng thể dẫn đến sự gia tăng hiệu lực bất kể liệu isotyp của kháng thể trong các cấu trúc kháng thể này là IgG1 hay IgG1 AA (IgG1 (L235A, G237A)), IgG2 hay IgG2 SS (IgG2 (A330S, P331S)) (Fig.19).

Bảng 7: Các protein dung hợp A10.21 chứa các sự thể trong vùng Fc để kéo dài thời gian bán thải hoặc giảm chức năng cảm ứng

Các cấu trúc kháng thể	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	49	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	49	81	25	62
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106T)	51	81	107	
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106A)	51	81	25	69
A10.21 IgG1 (L235A, G237A, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	52	81	107	
A10.21 IgG1 (L235A, G237A, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	52	81	25	
A10.21 IgG1 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	52	81	107	
A10.21 IgG1 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	111	81	25	70
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106T)	53	81	107	
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106A)	53	81	25	72
A10.21 IgG2 (A330S, P331S) IFN (A145D, T106T)	112	81	107	
A10.21 IgG2 (A330S, P331S) IFN (A145D, T106A)	112	81	25	
A10.21 IgG2 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	54	81	107	
A10.21 IgG2 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	54	81	25	73

Việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O ra khỏi phần interferon đã suy yếu của các protein dung hợp kháng thể kháng CD38-interferon bằng cách thế axit amin hoặc xóa bỏ T106 dẫn đến sự tăng hoạt tính chống tăng sinh trên các tế bào đích dương tính với CD38, CD138 hoặc HLA (gấp 1,3 đến 12 lần).

Ví dụ 3

Hoạt tính tại đích/sai đích của các protein dung hợp kháng thể-IFN α 2b đã suy yếu

Thử nghiệm gen thông báo iLiteTM được thực hiện để xác định định lượng hoạt tính sinh học của Interferon Alpha (IFN α 2b) của người (IU/ml) bằng cách sử dụng sự phát quang sinh học được tạo ra bởi luciferaza. Các tế bào được sử dụng trong thử nghiệm này biểu hiện CD38 và được sử dụng để đo hoạt tính ‘tại đích’ của các protein dung hợp dạng kháng CD38-IFN α 2b đã suy yếu. Các tế bào này cũng có thể được sử dụng để đo hoạt tính ‘sai đích’ khi CD38 được phong bế bằng kháng thể kháng CD38 nhận diện cùng một epitop. Các thử nghiệm này có thể được sử dụng để xác định chỉ số chọn lọc (Selectivity Index - SI) là số đo cách các protein dung hợp dạng kháng CD38-IFN có hoạt tính chọn lọc đối với các tế bào đích dương tính với CD38 và không có hoạt tính đối với các tế bào mà CD38 đã được phong bế (các tế bào âm tính với CD38 bất chước). SI càng lớn thì tính chọn lọc của các chất đối với đích càng lớn, trong khi số gần bằng 1 chỉ ra rằng không có tính chọn lọc đối với đích hoặc không phải đích. Intron A được sử dụng làm đối chứng dương vì nó có hoạt tính đối với các tế bào mà biểu hiện các thụ thể interferon alpha, IFNAR1/2 nhưng không chọn lọc đối với các kháng nguyên được biểu hiện trên bề mặt tế bào khác (tức là CD38) có SI xấp xỉ bằng 1.

Các cấu trúc kháng thể-IFN đã suy yếu

Các trình tự đối với các cấu trúc được sử dụng được nêu trong phần Danh mục trình tự, và được liệt kê trong Bảng 8 dưới đây.

Bảng 8

Các cấu trúc kháng thể	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	48	81	25	87, 31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, ΔT106)	48	81	110	61
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	49	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	49	81	25	62
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I, T106A)	48	81	24	63
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106A)	48	81	25	64
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G,	48	81	107	

Các cấu trúc kháng thể	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
T106T)				
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106A)	48	81	25	64
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106T)	48	81	109	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106A)	48	81	13	65
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106A)	48	81	25	66
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145N, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145N, T106A)	48	81	25	66
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144N, T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144N, T106A)	48	81	24	67
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144H, T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144H, T106A)	48	81	24	67
A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106T)	50	81	107	
A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106A)	50	81	25	68
A10.21 IgG1 IFN (A145D, ΔT106)	50	81	110	83
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106T)	51	81	107	

Các cấu trúc kháng thể	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106A)	51	81	25	69
A10.21 IgG1 (L235A, G237A, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	52	81	107	
A10.21 IgG1 (L235A, G237A, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	52	81	25	
A10.21 IgG1 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	52	81	107	
A10.21 IgG1 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	111	81	25	70
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106T)	53	81	107	
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106A)	53	81	25	72
A10.21 IgG2 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	54	81	107	
A10.21 IgG2 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	54	81	25	73
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	55	81	107	
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	55	81	25	74
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	75	82	107	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106R)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106N)	75	82	25	

Các cấu trúc kháng thể	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106D)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106C)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Q)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106H)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106I)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106L)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106K)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106M)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106F)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106P)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106W)	75	82	25	

Các cấu trúc kháng thể	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Y)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	75	82	25	
A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	58	84	107	
A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	58	84	25	77
OPG-Fc (IgG2) IFN (A145D, T106T)	57		107	
OPG-Fc (IgG2) IFN (A145D, T106A)	57		25	78
IgG4 kháng CD138 (S228P) IFN (A145D, T106T)	59	85	107	
IgG4 kháng CD138 (S228P) IFN (A145D, T106A)	59	85	25	
IgG4 kháng HLA (S228P) IFN (A145D, T106T)	60	86	107	
IgG4 kháng HLA (S228P) IFN (A145D, T106A)	60	86	25	

INTRON® A được sử dụng làm đối chứng dương.

Đo hoạt tính tại đích/sai đích

Hoạt tính tại đích/sai đích được đo bằng cách sử dụng phương pháp giống như được mô tả trên đây là "thử nghiệm gen thông báo iLite"

Thử nghiệm gen thông báo iLite (PBL Interferon Source, Piscataway, NJ, Cat# 51100) được thử nghiệm rộng rãi như được mô tả bởi nhà sản xuất, với việc bổ sung bước phong bế IgG người. Dòng tế bào iLite được mô tả bởi nhà sản xuất như là “dòng tế bào chuyển nhiễm ổn định có nguồn gốc từ dòng tế bào tiền bạch cầu đơn nhân to ở

người có sẵn trên thị trường được đặc trưng bởi sự biểu hiện của kháng nguyên MHC Lớp II, cụ thể là kháng nguyên lympho bào ở người (HLADR), trên bề mặt tế bào.” Dòng tế bào này biểu hiện CD38 và chứa gen luciferaza được chuyển nhiễm ổn định, sự biểu hiện của chúng được dẫn dắt bởi yếu tố đáp ứng interferon (interferon-response element - IRE), cho phép hoạt tính interferon được định lượng dựa trên công suất phát quang.

Nhà sản xuất cung cấp đĩa iLite (dưới đây được gọi là đĩa thử nghiệm) và chất pha loãng được lấy ra từ tủ lạnh ở -80°C và được để cân bằng đến nhiệt độ trong phòng. 50 μL dịch pha loãng được bổ sung vào mỗi lỗ của đĩa thử nghiệm. Các lọ chứa các tế bào thông báo được cung cấp bởi nhà sản xuất được lấy ra từ tủ lạnh ở -80°C và được làm tan giá trong bồn nước ở 37°C . Các phần phân ước 25 μL chứa các tế bào được phân phối vào mỗi lỗ của đĩa thử nghiệm. Tiếp theo, 12,5 μL chứa IgG người ở nồng độ 8 mg/mL mà được pha loãng trong RPMI 1640 + 10% FBS (Sigma Chemicals, St. Louis, MO; cat# I4506) được bổ sung vào mỗi lỗ. Các phần chứa trong mỗi lỗ được trộn và ủ ở 37°C trong 15 phút. Trên một “đĩa pha loãng” riêng biệt, các mẫu kiểm tra được pha loãng theo dãy làm hai mẫu trong RPMI 1640 + 10% FBS. Tiếp theo, 12,5 μL mẫu kiểm tra được chuyển từ đĩa pha loãng đến đĩa thử nghiệm. Sau đó, đĩa thử nghiệm được ủ ở 37°C với 5% CO_2 trong 17 giờ. Dung dịch đệm thử nghiệm được cung cấp bởi nhà sản xuất và cơ chất được lấy ra từ tủ lạnh ở -80°C và để cân bằng đến nhiệt độ trong phòng trong hai giờ. Dung dịch đệm thử nghiệm được cung cấp bởi nhà sản xuất được bổ sung vào lọ chứa cơ chất được cung cấp bởi nhà sản xuất và được trộn kỹ theo hướng dẫn của nhà sản xuất để tạo ra “dung dịch phát quang”. Tiếp theo, 100 μL dung dịch phát quang được bổ sung vào mỗi lỗ của đĩa thử nghiệm. Đĩa được lắc trong 2 phút. Tiếp theo, đĩa được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 5 phút trong bóng tối và được đọc trên thiết bị đếm Victor 3V Multilabel Counter trên kênh đo độ phát quang và độ phát quang được đo và biểu thị dưới dạng RLU.

Để kiểm tra hoạt tính sai đích của các cấu trúc protein dung hợp kháng thể kháng CD38-IFN trong thử nghiệm iLite, chất pha loãng được cung cấp bởi nhà sản xuất được bổ sung 0,25 mg/mL kháng thể kháng CD38 (kháng thể nhận diện epitop trên CD38 giống như cấu trúc protein dung hợp kháng thể-IFN được kiểm tra, để phong bế việc

gắn kết bất kỳ của các cấu trúc protein dung hợp kháng thể kháng CD38-IFN với CD38 được biểu hiện trên các tế bào iLite). Trạng thái phong bế này được thực hiện bằng cách xử lý với protein dung hợp kháng thể kháng CD38-IFN hoặc IFN α 2b.

Dữ liệu được phân tích bằng cách sử dụng chương trình Prism 5 (Graphpad, San Diego, CA) sử dụng phương pháp hồi quy không tuyến tính và khớp vào đường cong 3 thông số để xác định điểm giữa của đường cong (EC50). Chỉ số chọn lọc (SI) được tính bằng tỷ số EC50 (hoạt tính sai đích)/ EC50 (hoạt tính tại đích). Chỉ số chọn lọc (SI) là số đo cách cấu trúc dạng kháng CD38-IFN có hoạt tính chọn lọc đối với các tế bào biểu hiện CD38 và không có hoạt tính đối với các tế bào không có CD38. SI có trị số càng lớn thì tính chọn lọc của các chất đối với đích càng lớn, trong khi trị số gần bằng 1 chỉ ra rằng không có tính chọn lọc đối với đích. Intron A được sử dụng làm đối chứng dương, có SI gần bằng 1.

Điểm glycosyl hóa được liên kết với O của các cấu trúc dung hợp kháng thể kháng CD38-interferon đã suy yếu được loại bỏ bằng cách thế threonin 106 (T106) bằng alanin (được thể hiện như là T106A). Hoạt tính được nghiên cứu bằng cách so sánh các kháng thể kháng CD38, A10.21 và A10.43, được dung hợp với IFN α 2b có và không có sự glycosyl hóa được liên kết với O.

Việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O trong phần IFN đã suy yếu của các cấu trúc dung hợp kháng thể (được thể hiện dưới dạng T106A) dẫn đến sự gia tăng nhẹ hoạt tính tại đích (Fig.3 và Bảng 9) cũng như dẫn đến sự gia tăng từ mức nhẹ đến không không gia tăng hoạt tính sai đích so với các protein được glycosyl hóa được liên kết với O. Cả protein được glycosyl hóa được liên kết với O và protein không được glycosyl hóa đều thể hiện tính chọn lọc cao đối với các tế bào CD38+, trong khi Intron A không thể hiện tính chọn lọc.

Bảng 9: EC50 và SI của các protein dung hợp kháng thể kháng CD38-IFN α 2b đã suy yếu A10.21 và A10.43 có và không có sự glycosyl hóa được liên kết với O

Mẫu kiểm tra	EC50 (nM)		SI
	Tại đích	Sai đích	
Intron A	0,00017	0,00016	0,90
A10.21 IgG4 (S228P) IFN(A145D, T106T)	0,00240	2,33	972
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	0,00182	2,23	1223
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	0,00560	2,31	412
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	0,00124	2,25	1822

Tác động đối với hoạt tính tại đích/sai đích của việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O ra khỏi IFN đã suy yếu của các protein dung hợp cũng có thể được khảo sát theo cách thức tương tự.

Các thử nghiệm hoạt tính tại đích-sai đích gen thông báo iLiteTM được thực hiện để chứng minh hoạt tính chọn lọc của các protein dung hợp dạng kháng CD38-IFN đã suy yếu đối với các tế bào đích dương tính với CD38 và hoạt tính hạn chế đối với các tế bào mà CD38 bị phong bế bằng kháng thể kháng CD38 (nhận diện cùng epitop) bất chước hoạt tính lường trước trên các tế bào đích âm tính.

Việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O trong phần IFN đã suy yếu của các cấu trúc dung hợp kháng thể (bằng sự thế T106A) dẫn đến sự gia tăng nhẹ hoạt tính tại đích cũng như dẫn đến sự gia tăng từ mức nhẹ đến không gia tăng hoạt tính sai đích so với các protein được glycosyl hóa được liên kết với O. Cả protein dung hợp kháng thể kháng CD38-interferon đã suy yếu được glycosyl hóa được liên kết với O và protein dung hợp kháng thể kháng CD38-interferon đã suy yếu không được glycosyl hóa đều thể hiện tính chọn lọc cao đối với các tế bào CD38⁺, trong khi Intron A không

thể hiện tính chọn lọc.

Để khảo sát tiếp sự điều biến về chỉ số chọn lọc nhờ việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O trong phần IFN đã suy yếu của các cấu trúc dung hợp kháng thể, hoạt tính tại đích-sai đích được khảo sát trong phạm vi các cấu trúc. Các thay đổi được khảo sát được dựa trên cấu trúc A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T). Các thay đổi này bao gồm xóa bỏ threonin 106 (Δ T106), thế T106 bằng serin (T106S), thế YTE (YTE T106T và YTE T106A), làm suy yếu IFN bằng sự thế alanin 145 bằng glutamin (A145Q) và thay đổi isotyp kháng thể thành IgG1 (IgG1 T106T và IgG1 T106A).

Phần lớn các cấu trúc biểu thị chỉ số chọn lọc >1 , cường độ chọn lọc đối với các tế bào đích dương tính với CD38 thay đổi tùy thuộc vào cấu trúc dung hợp dạng kháng CD38-IFN (Fig.20). Độ chọn lọc cao nhất được thấy ở A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A).

Ví dụ 4

Hoạt tính sai đích của các protein dung hợp kháng thể kháng CD38-IFN α 2b đã suy yếu

Các tế bào HEK-Blue™ IFN- α/β cho phép phát hiện các IFN typ I có hoạt tính sinh học của người bằng cách giám sát sự hoạt hóa con đường ISGF3. Sự kích thích các tế bào HEK-Blue™ IFN- α/β bằng IFN- α người làm hoạt hóa con đường JAK/STAT/ISGF3 và sau đó làm cảm ứng sự sản sinh SEAP (gen thông báo dưới sự kiểm soát của promoter ISG54 có thể cảm ứng bởi IFN- α/β). Mức SEAP trong dịch nổi có thể dễ dàng được xác định bằng QUANTI-Blue™. Tác dụng của việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O ra khỏi phần interferon đã suy yếu của các protein dung hợp kháng thể-interferon được đánh giá bằng cách sử dụng thử nghiệm gen thông báo này.

Sản xuất cấu trúc protein dung hợp kháng thể/Fc

Các tế bào được chuyển nhiễm tạm thời khác nhau biểu hiện các protein dung hợp interferon được thu hoạch và tinh chế bằng cách sử dụng cột Mab Select Sure Protein A. Các mẫu được khử muối trong 200mM Arginin, 25mM Histidin, độ pH bằng

6,5 bằng cách sử dụng cột HiLoad Superdex 200.

Bảng 10

Các cấu trúc kháng thể	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	48	81	25	87, 31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, ΔT106)	48	81	110	61
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	49	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	49	81	25	62
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I, T106A)	48	81	24	63
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106A)	48	81	25	64
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106A)	48	81	25	64
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106T)	48	81	109	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106A)	48	81	13	65
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106A)	48	81	25	66
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145N, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145N, T106A)	48	81	25	66
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144N, T106T)	48	81	108	

Các cấu trúc kháng thể	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144N, T106A)	48	81	24	67
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144H, T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144H, T106A)	48	81	24	67
A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106T)	50	81	107	
A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106A)	50	81	25	68
A10.21 IgG1 IFN (A145D, ΔT106)	50	81	110	83
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106T)	51	81	107	
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106A)	51	81	25	69
A10.21 IgG1 (L235A, G237A, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	52	81	107	
A10.21 IgG1 (L235A, G237A, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	52	81	25	
A10.21 IgG1 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	52	81	107	
A10.21 IgG1 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)		81	25	70
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106T)	53	81	107	
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106A)	53	81	25	72
A10.21 IgG2 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	54	81	107	
A10.21 IgG2 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	54	81	25	73
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	55	81	107	
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	55	81	25	74
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	75	82	107	

Các cấu trúc kháng thể	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106R)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106N)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106D)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106C)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Q)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106H)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106I)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106L)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106K)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106M)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106F)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106P)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106W)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Y)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	75	82	25	
A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	58	84	107	
A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	58	84	25	77
OPG-Fc (IgG2) IFN (A145D, T106T)	57		107	
OPG-Fc (IgG2) IFN (A145D, T106A)	57		25	78
IgG4 kháng CD138 (S228P) IFN (A145D, T106T)	59	85	107	
IgG4 kháng CD138 (S228P) IFN (A145D, T106A)	59	85	25	

Các cấu trúc kháng thể	SEQ ID NO.			
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN	VH + IFN
IgG4 kháng HLA (S228P) IFN (A145D, T106T)	60	86	107	
IgG4 kháng HLA (S228P) IFN (A145D, T106A)	60	86	25	

INTRON® A được sử dụng làm đối chứng dương.

Đo hoạt tính sai đích bằng thử nghiệm HEK-Blue

Hoạt tính sai đích của cấu trúc dung hợp kháng thể-IFN được đo bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như được mô tả trong “thử nghiệm sai đích HEK-Blue” ngoại trừ thể tích tế bào được gieo cấy, kháng thể được pha loãng và dịch nổi được sử dụng. Chi tiết của thử nghiệm này là như sau.

Thử nghiệm sai đích HEK-Blue được sử dụng để định lượng khả năng gắn kết của các cấu trúc dung hợp kháng thể-IFN với thụ thể interferon- α/β (IFNAR) bằng cách sử dụng dòng tế bào HEK-Blue™ IFN- α/β (InvivoGen, San Diego, CA). “Thử nghiệm sai đích (HB-IFN)” được thực hiện phần lớn là như được mô tả bởi nhà sản xuất dòng tế bào HEK-Blue IFN- α/β . Các tế bào HEK-Blue™ IFN- α/β được thiết kế đặc biệt để giám sát sự hoạt hóa con đường JAK-STAT, được cảm ứng bởi các IFN typ I. Các tế bào được tạo ra bằng cách đưa các gen STAT2 và IRF9 của người vào các tế bào HEK293 để đạt được con đường truyền tín hiệu IFN typ I hoạt tính đầy đủ. Các tế bào HEK-Blue™ IFN- α/β biểu hiện ổn định gen thông báo, phosphatase kiềm tính được tiết ra ở phôi (secreted embryonic alkaline phosphatase - SEAP), dưới sự kiểm soát của promoter ISG54. ISG54 là ISG đã được biết rõ được hoạt hóa bởi các IFN typ I thông qua cơ chế phụ thuộc ISRE. Khi kích thích IFN- α hoặc IFN β , các tế bào HEK-Blue™ IFN- α/β hoạt hóa con đường JAK-STAT và sau đó hoạt hóa sự biểu hiện của gen thông báo SEAP. SEAP được tiết vào môi trường và có thể được định lượng bằng cách sử dụng chất phản ứng đo màu QUANTI-Blue™.

Ngắn gọn là, các tế bào HEK-Blue IFN- α/β (Invivogen, San Diego CA cat# hkb-ifnab) được làm tan giá và nuôi cấy trong môi trường DMEM (Mediatech, Manassas VA, cat# 10-013-CV) + 10% FBS (Hyclone, Logan UT, cat# SH30070.03) đã được làm bất hoạt bởi nhiệt (HI FBS). Khi các tế bào đạt tới mức nhập dòng 60-80%, chúng được lấy ra bằng dụng cụ nạo tế bào Cell Stripper (Mediatech, cat# 25-056-CI). Các tế bào được rửa hai lần trong DMEM + HI FBS và được đếm. Các tế bào được điều chỉnh đến mật độ $2,77 \times 10^5$ tế bào sống sót/mL trong DMEM + HI FBS và được gieo cấy ở mức 180 μ L/lỗ trong đĩa nuôi cấy mô 96 lỗ đáy bằng (dưới đây gọi là “đĩa thí nghiệm”). Tiếp theo, 20 μ L IFN- α 2b hoặc cấu trúc protein dung hợp, được pha loãng trong DMEM + HI FBS, được bổ sung vào mỗi lỗ. Đĩa được ủ ở 37°C 5% CO₂ trong 16 đến 24 giờ. QUANTI-Blue (Invivogen, cat# rep-qb1) được điều chế theo hướng dẫn của nhà sản xuất. QUANTI-Blue (180 μ L) được cho vào mỗi lỗ của đĩa đáy bằng (dưới đây gọi là “đĩa thử nghiệm”). Tiếp theo, 20 μ L dịch nổi trên mỗi lỗ từ đĩa thí nghiệm được chuyển đến đĩa thử nghiệm. Tiếp theo, đĩa thử nghiệm được ủ ở 37°C trong 1 đến 3 giờ. Độ hấp thụ ở đĩa thử nghiệm ở 620 nm được đọc trên máy đọc vi đĩa mô hình SpectraMaxPlus 384 của Molecular Devices. Dữ liệu được phân tích bằng cách sử dụng chương trình Graph Pad Prism.

Tác động của sự có mặt hoặc không có mặt điểm glycosyl hóa được liên kết với O trong IFN α 2b đối với hoạt tính sai đích của các kháng thể kháng CD38 được dung hợp với IFN đã suy yếu được đánh giá.

Điểm glycosyl hóa được liên kết với O của các cấu trúc dung hợp kháng thể kháng CD38 với interferon đã suy yếu được loại bỏ hoặc bằng cách thế threonine 106 (T106) bằng alanine (được thể hiện như là T106A) hoặc bằng cách xóa bỏ T106 (được thể hiện như là Δ T106). Tác dụng đối với hoạt tính sai đích được nghiên cứu bằng cách so sánh kháng thể X10.21 kháng CD38 được dung hợp với IFN α 2b đã suy yếu có và không có sự glycosyl hóa được liên kết với O.

Việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O trong phần IFN đã suy yếu của các cấu trúc dung hợp kháng thể dẫn đến sự tăng nhẹ hoạt tính sai đích so với các protein được glycosyl hóa được liên kết với O, tức là, A10.21 IgG4 IFN (145D, T106T) và A10.21 IgG1 IFN (145D, T106T) (Fig.5). Xu hướng này được duy trì bất kể isotyp

(Fig.5). Tuy nhiên IFN α 2b (A145D) là quá suy yếu đến mức mức độ gây cảm ứng của SEAP trong thử nghiệm này bị hạn chế ngay cả khi liều lượng cao nhất được sử dụng. Do đó EC50 chỉ là trị số gần đúng.

Hoạt tính sai đích của các kháng thể được dung hợp với IFN đã suy yếu (R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D)) có các sự thể axit amin khác nhau để loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O được khảo sát. Tất cả các sự thể axit amin khả dĩ được kiểm tra và các cấu trúc được liệt kê trong bảng 11.

Bảng 11

Tên cấu trúc	SEQ ID NO.		
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	75	82	107
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106R)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106N)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106D)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106C)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Q)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106H)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106I)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106L)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106K)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106M)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106F)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106P)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106W)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Y)	75	82	25

Tên cấu trúc	SEQ ID NO.		
	Chuỗi nặng	Chuỗi nhẹ	IFN
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	75	82	25

Thấy rằng, mỗi sự thể trong số các sự thể này đều biểu thị hoạt tính sai đích tương tự hoặc nhỏ hơn một chút (EC_{50} gia tăng) so với kháng thể được dung hợp IFN được O-glycosyl hóa R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T). Tuy nhiên, IFN α 2b (A145D) là quá suy yếu đến mức mức độ gây cảm ứng của SEAP trong thử nghiệm này bị hạn chế ngay cả khi liều lượng cao nhất được sử dụng. Do đó EC_{50} chỉ là trị số gần đúng.

Hoạt tính sai đích của cấu trúc kháng thể kháng CD38-IFN α 2b đã suy yếu khác và tác động của việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O bằng sự thể T106A được nghiên cứu. A10.43 có 7 thay đổi axit amin trong chuỗi nặng so với A10.21 trong khi hai cấu trúc này có trình tự chuỗi nhẹ giống nhau (xem Danh mục trình tự). Kết quả chứng minh rằng việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O bằng sự thể T106A làm gia tăng nhẹ hoạt tính sai đích của A10.43. Tuy nhiên, IFN α 2b (A145D) là quá suy yếu đến mức mức độ gây cảm ứng của SEAP trong thử nghiệm này bị hạn chế ngay cả khi liều lượng cao nhất được sử dụng. Do đó EC_{50} chỉ là trị số gần đúng.

Việc loại bỏ điểm glycosyl hóa được liên kết với O trong phần IFN đã suy yếu của các cấu trúc dung hợp kháng thể-interferon dẫn đến sự tăng nhẹ đến không tăng hoạt tính sai đích cũng như dẫn đến sự tăng nhẹ hoạt tính tại đích so với các protein glycosyl hóa được liên kết với -O. Cả protein dung hợp kháng thể kháng CD38-interferon đã suy yếu được glycosyl hóa được liên kết với O và protein dung hợp kháng thể kháng CD38-interferon đã suy yếu không được glycosyl hóa đều thể hiện tính chọn lọc cao đối với các tế bào CD38+, trong khi Intron A không thể hiện tính chọn lọc.

Ví dụ 5

Đánh giá sự gắn kết của thụ thể FC sơ sinh (FcRn) của người với dạng kháng CD38-IFN đã suy yếu

FcRn được đa gắn thẻ His được cố định lên các ô lưu lượng có hoạt tính được quy định của chip cảm biến CM5 trong thiết bị tăng cường Biacore T200 sử dụng phương thức kết hợp amin, trong khi sự cố định trống được thực hiện trên các ô lưu lượng tham chiếu. Các xung FcRn được đa gắn thẻ His được tiêm lên các bề mặt hoạt tính để đảm bảo rằng dung dịch sẽ sơ bộ tập trung vào ô lưu lượng. Sau đó các bề mặt này được rửa bằng dung dịch NaOH 50mM. Cả bề mặt tham chiếu và bề mặt hoạt tính đều được hoạt hóa trong bảy phút bằng hỗn hợp EDC/NHS 50:50. Điều này được thực hiện bằng chuỗi các xung FcRn được đa gắn thẻ His ở nồng độ 2 $\mu\text{g/mL}$ trong dung dịch Natri Axetat 10 mM, độ pH bằng 5,0 chỉ trên các bề mặt hoạt tính. Khi đích 150 RU đạt được, cả hai bề mặt được khử hoạt hóa bằng dung dịch etanolamin 1M, độ pH bằng 8,5 trong bảy phút. Phương thức này dẫn đến sự cố định hóa xấp xỉ 150 RU FcRn được đa gắn thẻ His lên các bề mặt hoạt tính. Mỗi bề mặt hoạt tính được sử dụng cho một lần chạy.

Các kháng thể kiểm tra được khử muối trong dung dịch đệm chạy PBS-P (DPBS, độ pH bằng 7,4 và 0,005% Tween-20 được điều chỉnh đến độ pH bằng 6,0 bằng HCl ở 25°C) sử dụng cột khử muối Zeba Spin, 7K MWCO, 0,5 mL (Pierce Product # 89882). Sau khi khử muối, nồng độ của mỗi mẫu được điều chỉnh đến 1 mg/mL.

Vào ngày thử nghiệm, các dung dịch nồng độ 1 mg/mL được pha loãng tiếp trong dung dịch đệm chạy để tạo ra nồng độ cao nhất, và sau đó được pha loãng 1:2 để tạo ra chuỗi nồng độ. Các mẫu kiểm tra được cho lên bề mặt sử dụng lưu lượng là 50 $\mu\text{L/phút}$. Pha kết hợp là 100 giây trong khi pha phân ly là 300 giây đối với tất cả các nồng độ được kiểm tra. Bề mặt hoạt tính và bề mặt tham chiếu được hồi phục bằng cách sử dụng việc tiêm trong 60 giây dung dịch 100 mM Tris, 50 mM NaCl ở độ pH bằng 8,0 để loại bỏ kháng thể kiểm tra. Các hằng số gắn kết được xác định ở 25°C.

Tương tác gắn kết kháng thể FcRn đa His được đánh giá bằng cách sử dụng mô hình phản ứng hai trạng thái trong đó R_{max} được đặt cục bộ và thông số RI (chỉ số khúc xạ) được đặt cục bộ. Tất cả các dữ liệu được trừ tham chiếu hai lần: đầu tiên là trừ đi tín hiệu trong ô tham chiếu (cố định trống) thu được từ việc gắn kết kháng thể với chất nền dextran, và thứ hai là, trừ đi tín hiệu của kháng thể 0 nM đối với bề mặt hoạt tính.

Các hằng số gắn kết được xác định cho ít nhất hai lần chạy riêng rẽ đối với mỗi kháng thể. Prolia Lot 1035726 được kiểm tra bên cạnh các mẫu kháng CD38/IFN để làm đối chứng dương cho mỗi lần chạy. Các trị số trung bình đối với k_{a1} , k_{d1} , k_{a2} , k_{d2} và K_D được xác định.

Trị số ái lực và trị số động lực trung bình đối với việc gắn kết FcRn của 4 dạng kháng CD38/IFN (A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A), A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T) A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A) A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)) được đo. Trong hình thức thiết lập mẫu này, dòng A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A) thể hiện ái lực cao nhất đối với FcRn.

Ví dụ 6

Hiệu lực của các kháng thể kháng CD38 được dung hợp với interferon alpha 2b đã suy yếu có và không có sự glycosyl hóa được liên kết với O trong mô hình NCI-H929 đa u tủy ở chuột nhắt

Thuốc và điều trị:

Bảng 12

Nhóm	N	Chế độ 1			
		Chất	$\mu\text{g/con}$ chuột	Đường dùng	Phác đồ
1 [#]	8	chất dẫn	20	trong phúc mạc	hai lần/tuần x 5
2	8	A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	20	trong phúc mạc	hai lần/tuần x 5
3	8	A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	20	trong phúc mạc	hai lần/tuần x 5
4	8	A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	20	trong phúc mạc	hai lần/tuần x 5
5	8	A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	20	trong phúc mạc	hai lần/tuần x 5

- Nhóm đối chứng

Quy trình:

- Tiêm dưới da 1×10^7 tế bào khối u H929 trong 50% Matrigel vào sườn các

con chuột nhất cái CR CB.17 SCID.

- Thể tích tiêm tế bào là 0,2 mL/con chuột.
- Độ tuổi ở ngày bắt đầu: 8 đến 12 tuần.
- Thực hiện việc phối hợp cặp đôi khi các khối u đạt đến cỡ trung bình là 170 - 350 mm³, và bắt đầu điều trị.
- Thể tích liều dùng = 0,2 mL/con chuột. Không điều chỉnh trọng lượng cơ thể.
- Trọng lượng cơ thể: một lần mỗi ngày x 5 sau đó hai lần mỗi tuần cho đến khi kết thúc
- Đo bằng thước kẹp: hai lần mỗi tuần đến khi kết thúc
- TGD điểm cuối. Các con chuột được giám sát riêng rẽ. Điểm cuối của thí nghiệm là thể tích khối u là 2000 mm³ hoặc 60 ngày, tùy theo mức nào đạt trước. Các con chuột đáp ứng có thể phải theo dõi lâu hơn. Nếu đạt đến điểm cuối, các con chuột được làm chết êm ái theo SOP #687.

Kết quả được thể hiện trên Fig.8. Hiệu lực tương đương đại khái được xem xét có và không có sự glycosyl hóa được liên kết với O, với dạng được aglycosyl hóa có hiệu lực nhiều hơn một chút đối với việc làm cản trở sự phát triển khối u.

Ví dụ 7

Trong việc đánh giá sự gắn kết của thụ thể Fc sơ sinh của người (FcRn) với các kháng thể kháng CD38 được dung hợp với IFN đã suy yếu có và không có sự glycosyl hóa được liên kết với O, các protein không có sự glycosyl hóa được liên kết với O đã thể hiện ái lực cao nhất đối với FcRn. Tác dụng của điều này có thể được đánh giá trên các con khỉ cynomolgus và trên chuột nhất có FcRn được làm giống như của người.

Thử nghiệm trên khỉ Cynomolgus

Thiết kế thử nghiệm trên khi để so sánh +/- O-glyc

- Truyền trong tĩnh mạch liều đơn 3mg/kg (1 giờ) thông qua ống thông bên trong
 - A10.21 IgG4 (S228P) IFN (145D, T106A) (n=4)
 - A10.21 IgG4 (S228P) IFN (145D, T106T) (n=4)
 - A10.21 IgG4 (S228P) IFN (145D, T106A) (n=4)
 - A10.21 IgG4 (S228P) IFN (145D, T106T) (n=4)
- So sánh PK và PD (tác dụng sinh học tức là các mức neopterin trong huyết thanh)
- PK: tất cả các con khi, ≤ 1 ml, 11 điểm thời gian (Trước khi dùng liều, 0 phút (ngay sau khi truyền). 2, 6, 12, 24, 48, 96, 120, 168 và 240 giờ sau khi truyền. Các mẫu (80) được phân tích bằng ELISA.
- Lấy mẫu TK: Hệ bảng WinNonlin {phân tích không gián cách}
- Bệnh lý lâm sàng: Huyết học và hóa học huyết- tất cả các con khi, 3 dịp (trước khi điều trị, 24 giờ sau khi dùng liều và Ngày thứ 8)
- Neopterin trong huyết thanh- tất cả các con khi, ~0,5ml 3 dịp tại 5 điểm thời gian (trước khi dùng liều, 12, 24, 96, 168 giờ sau khi dùng liều)

Thử nghiệm được động học trên các con chuột nhất có FcRN được làm giống như của người

1. Ba mươi hai (32) con chuột nhất cái B6.Cg-*Fcgr^{tm1Dcr}*Tg(CAG-FCGRT)276Dcr/DcrJ (JAX stock# 004919) được dùng liều vào ngày thứ 1 bằng cách tiêm trong phúc mạc 1mg/kg của;

- A10.21 IgG4 (S228P) IFN (145D, T106A) (n=8)
- A10.21 IgG4 (S228P) IFN (145D, T106T) (n=8)

- A10.43 IgG4 (S228P) IFN (145D, T106A) (n=8)
- A10.43 IgG4 (S228P) IFN (145D, T106T) (n=8)

2. Trọng lượng cơ thể được đo 3 ngày trước khi dùng liều, vào ngày dùng liều và sau đó là hàng tuần.

3. Việc quan sát bên ngoài lồng được thực hiện hàng ngày và việc quan sát lâm sàng được thực hiện hàng tuần.

4. Thu gom máu được động học: Các con chuột được lấy máu (25 μ l) ở thời điểm 3 ngày trước khi dùng liều và

1, 12, 24, 48 và 72 giờ và 5, 7, 10, và 14 ngày sau khi dùng liều. Các con chuột được lấy máu trong 2 đội (4 con chuột/nhóm/đội).

5. Tất cả các con chuột được làm chết vào ngày thứ 14. Việc chọc tim cuối cùng được thực hiện để thu gom máu.

6. Máu được thu gom vào các ống lithi heparin và được ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng/phút trong 2 phút ở 4°C.

7. Các mẫu huyết tương được pha loãng 1:10 trong PBS và được đóng băng trước khi phân tích bằng ELISA gắn kết đối với A10.21 IgG4 IFN(145D) A106, A10.21 IgG4 IFN(145D) T106, A10.43 IgG4 IFN(145D) A106 hoặc A10.43 IgG4 IFN(145D) T106.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Polypeptit dung hợp chứa miền thứ nhất và miền thứ hai, trong đó miền thứ nhất chứa kháng thể hoặc phần gắn kết kháng nguyên của nó, mà gắn kết với kháng nguyên kết hợp với bề mặt tế bào và miền thứ hai chứa interferon α 2b (IFN α 2b) được aglycosyl hóa chứa trình tự axit amin, trong đó T106 được xóa bỏ hoặc được thế bằng axit amin được chọn từ nhóm gồm A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, V, W và Y, trong đó T106 tương ứng với trình tự SEQ ID NO: 1 và trong đó IFN α 2b được aglycosyl hóa còn chứa một hoặc nhiều sự thế hoặc xóa bỏ axit amin mà làm suy yếu hoạt tính của IFN α 2b được aglycosyl hóa.
2. Polypeptit dung hợp theo điểm 1, trong đó T106 được xóa bỏ hoặc được thế bằng axit amin chọn từ nhóm gồm A, E, S, và V.
3. Polypeptit dung hợp theo điểm 2, trong đó polypeptit dung hợp này chứa:
 - i) thể đột biến suy yếu A145D tương ứng với SEQ ID NO: 1; hoặc
 - ii) thể đột biến suy yếu A144D tương ứng với SEQ ID NO: 1 trong đó gốc ở vị trí 106 được xóa bỏ.
4. Polypeptit dung hợp theo điểm 1, trong đó gốc ở vị trí T106 được thế bằng A.
5. Polypeptit dung hợp theo điểm 1, trong đó trình tự axit amin của IFN α 2b được aglycosyl hóa được cải biến bằng (các) đột biến làm suy yếu được chọn từ nhóm gồm L15A, R22A, R23A, S25A, L26A, F27A, L30A, L30V, K31A, D32A, R33A, R33K, R33Q, H34A, Q40A, D114R, L117A, R120A, R120E, R125A, R125E, K131A, E132A, K133A, K134A, M148A, R149A, S152A, L153A, N156A, (L30A, H57Y, E58N và Q61S), (R33A, H57Y, E58N, Q61S), (M148A, H57Y, E58N và Q61S), (L153A, H57Y, E58N và Q61S), (R144A, H57Y, E58N và Q61S), (N65A, L80A, Y85A và Y89A), (N65A, L80A, Y85A, Y89A và D114A), (N65A, L80A, Y85A, Y89A và L117A), (N65A, L80A, Y85A, Y89A và R120A), (Y85A, Y89A và D114A), (Y85A, Y89A, và R120A), (D114A và R120A), (L117A và R120A), (L117A, R120A và K121A), (R120A và K121A), (R120E và K121E), sự thay thế R ở vị trí 144 bằng A, D, E, G, H, I, K, L, N, Q, S, T, V hoặc Y, sự thay thế A ở vị trí 145 bằng D, E, G, H, I,

K, L, M, N, Q, R, S, T, V hoặc Y, và sự xóa bỏ các gốc L161 đến E165.

6. Polypeptit dung hợp theo điểm 1, trong đó trình tự axit amin của IFN α 2b được aglycosyl hóa bao gồm sự xóa bỏ T106 và còn được cải biến bằng (các) đột biến làm suy yếu được chọn từ nhóm gồm L15A, R22A, R23A, S25A, L26A, F27A, L30A, L30V, K31A, D32A, R33A, R33K, R33Q, H34A, Q40A, D113R, L116A, R119A, R119E, R124A, R124E, K130A, E131A, K132A, K133A, M147A, R148A, S149A, L152A, N155A, (L30A, H57Y, E58N và Q61S), (R33A, H57Y, E58N, Q61S), (M147A, H57Y, E58N và Q61S), (L152A, H57Y, E58N và Q61S), (R143A, H57Y, E58N và Q61S), (N65A, L80A, Y85A và Y89A,) (N65A, L80A, Y85A, Y89A và D113A), (N65A, L80A, Y85A, Y89A và L116A), (N65A, L80A, Y85A, Y89A và R1190A), (Y85A, Y89A và D113A), (Y85A, Y89A, và R119A), (D113A và R119A), (L116A và R119A), (L116A, R119A và K120A), (R119A và K120A), (R119E và K120E), sự thay thế R ở vị trí 143 bằng A, D, E, G, H, I, K, L, N, Q, S, T, V hoặc Y, sự thay thế A ở vị trí 144 bằng D, E, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V hoặc Y, và sự xóa bỏ các gốc L160 đến E164.

7. Polypeptit dung hợp theo điểm 1, trong đó trình tự axit amin của IFN α 2b được aglycosyl hóa được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 3 đến 30 và các SEQ ID NO: 32 đến 47.

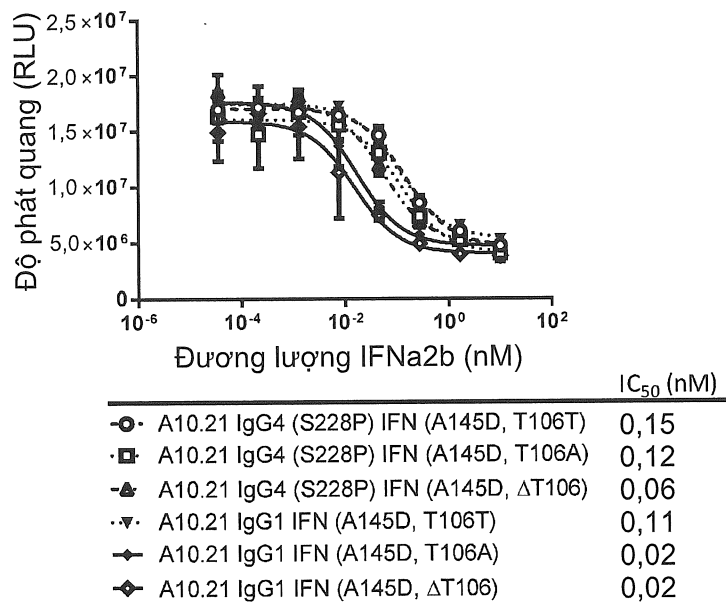
8. Polypeptit dung hợp theo điểm 1, trong đó kháng nguyên kết hợp với bề mặt tế bào được chọn từ nhóm gồm CD38, CD138, phối tử-RANK, HM1.24, CD56, CS1, CD20, CD74, IL-6R, Blys (BAFF), BCMA, HLA-SR, HLA-DR, Kininogen, microglobulin beta2, Ep-CAM, FGFR3, ICAM-1, matriptaza, CD52, EGFR, GM2, alpha4-integrin, IFG-1R, KIR, CD3, CD4, CD8, CD24, CD44, CD69, CD70, CD71, CD79, CD83, CD86, CD96, HLA, PD-1, ICOS, CD33, CD115, CD11c, CD19, CD52, CD14, FSP1, FAP, PDGFR alpha, PDGFR beta, ASGR1, ASGR2, FSP1, RTI140/Ti-alpha, HTI56, thụ thể VEGF, CD241 sản phẩm của gen RCHE, CD117 (c-kit), CD71 (thụ thể transferrin), CD36 (thụ thể thrombospondin), CD34, CD45RO, CD45RA, CD115, CD168, CD235, CD236, CD237, CD238, CD239 và CD240.

9. Polypeptit dung hợp theo điểm 1, trong đó kháng thể gắn kết với CD38.

10. Polypeptit dung hợp theo điểm 9, trong đó trình tự axit amin V_H của kháng thể được chọn từ nhóm gồm các trình tự SEQ ID NO: 48 đến 56 và 58.
11. Polypeptit dung hợp theo điểm 10, trong đó trình tự axit amin V_L của kháng thể được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 81, 82 và 84.
12. Polypeptit dung hợp theo điểm 1, trong đó miền thứ nhất được liên kết với miền thứ hai thông qua liên kết peptit.
13. Polypeptit dung hợp theo điểm 1, trong đó miền thứ nhất được liên kết trực tiếp với miền thứ hai thông qua liên kết peptit.
14. Polypeptit dung hợp theo điểm 1, trong đó đầu tận cùng C của miền thứ nhất được liên kết với đầu tận cùng N của miền thứ hai.
15. Chế phẩm chứa polypeptit dung hợp như được bảo hộ trong điểm 1 và chất mang hoặc chất pha loãng được dung.
16. Polypeptit dung hợp theo điểm 1, trong đó trình tự axit amin của IFN α 2b được aglycosyl hóa là SEQ ID NO: 25.
17. Polynucleotit mã hóa polypeptit dung hợp theo điểm 1.
18. Polypeptit dung hợp chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 31, 61 đến 77, 83 và 87, và trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm các SEQ ID NO: 81, 82 và 84.
19. Polypeptit dung hợp chứa các trình tự axit amin SEQ ID NO: 87 và SEQ ID NO: 81.
20. Phương pháp tạo ra polypeptit dung hợp phối tử polypeptit-IFN α 2b đã suy yếu ở các tế bào động vật có vú, trong đó polypeptit dung hợp phối tử polypeptit-IFN α 2b đã suy yếu này có tính không đồng nhất được cải thiện và/hoặc có sự gắn kết FcRn được tăng cường, phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào động vật có vú tái tổ hợp chứa một hoặc nhiều polynucleotit mã hóa polypeptit dung hợp phối tử polypeptit-IFN α 2b đã suy yếu theo điểm 1, và bước thu hồi polypeptit dung hợp phối tử polypeptit-IFN α 2b đã suy yếu từ tế bào động vật có vú tái tổ hợp này.

Fig.1

A.



B.

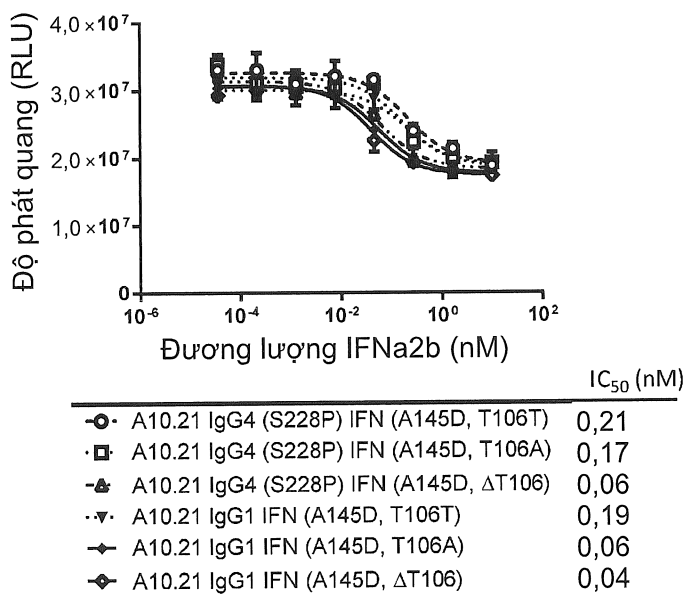
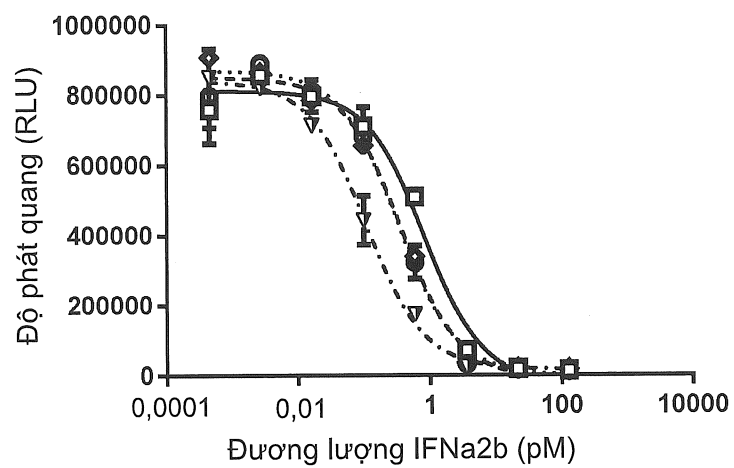


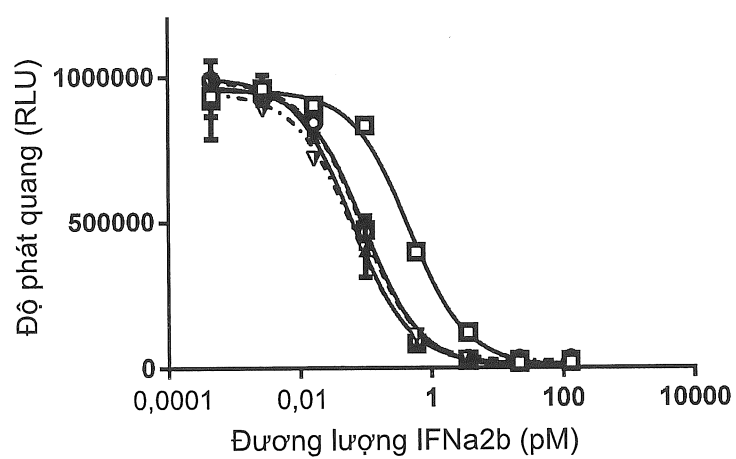
Fig.2

Fig.2A



	IC ₅₀ (pM)
□ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	0,84
▽ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	0,11
◆ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106D)	0,33
● R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	0,37

Fig.2B



	IC ₅₀ (pM)
■ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	0,46
▲ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106F)	0,06
▼ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	0,06
● R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106H)	0,08
■ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106I)	0,09

Fig.2C

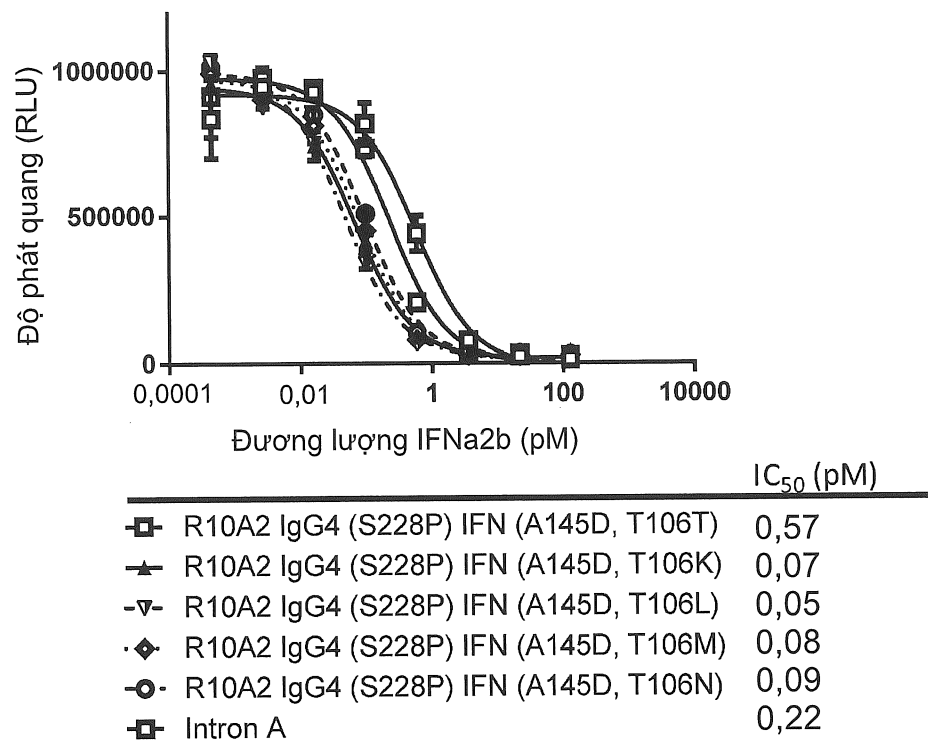


Fig.2D

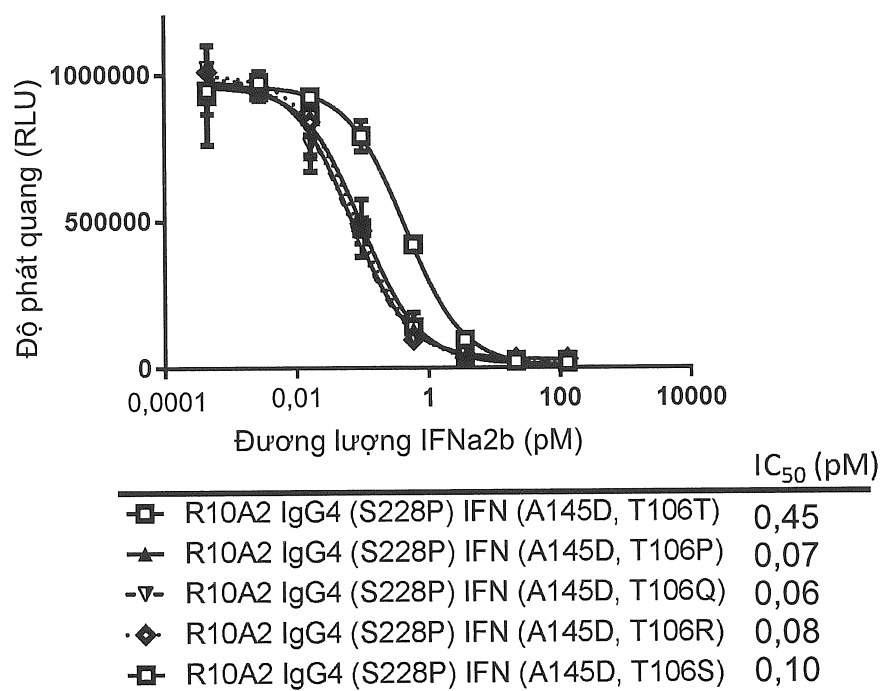
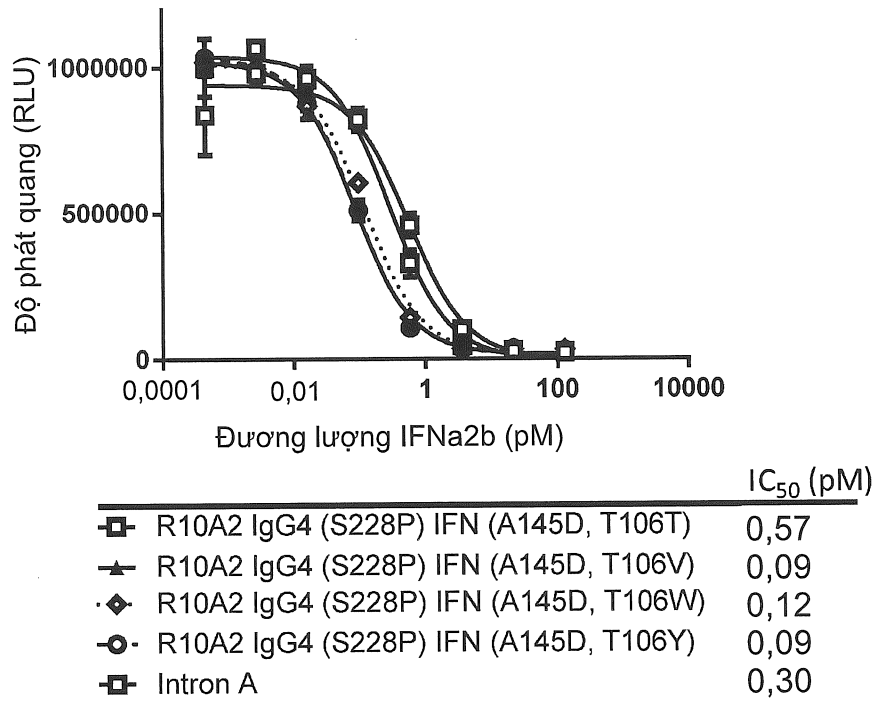


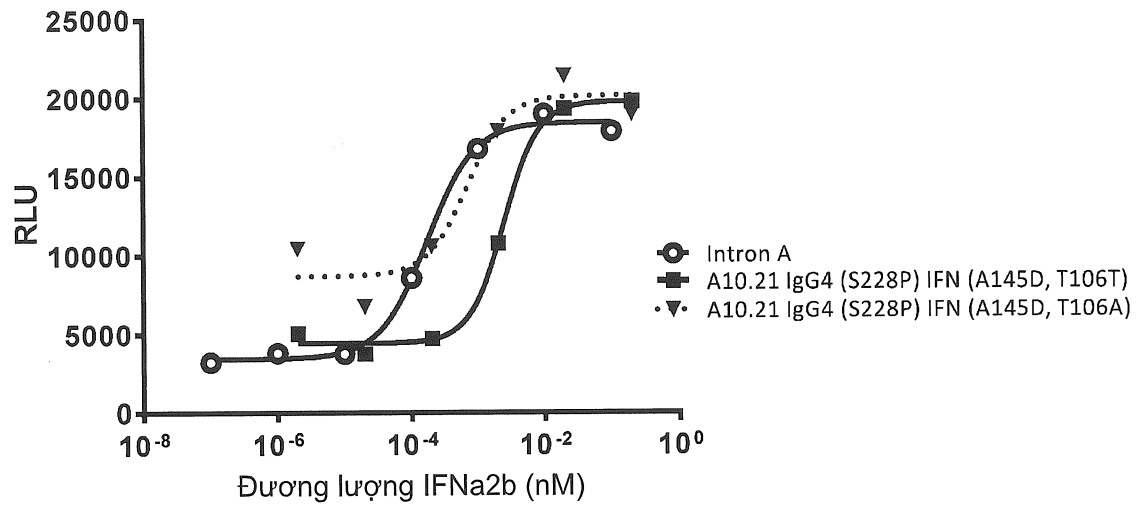
Fig.2E



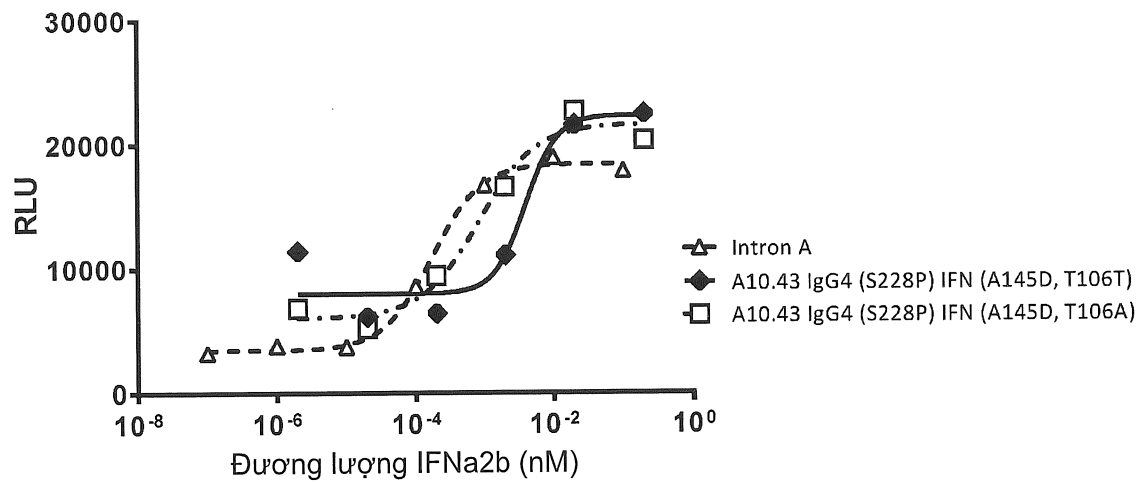
- 7/29 -

Fig.3

A.



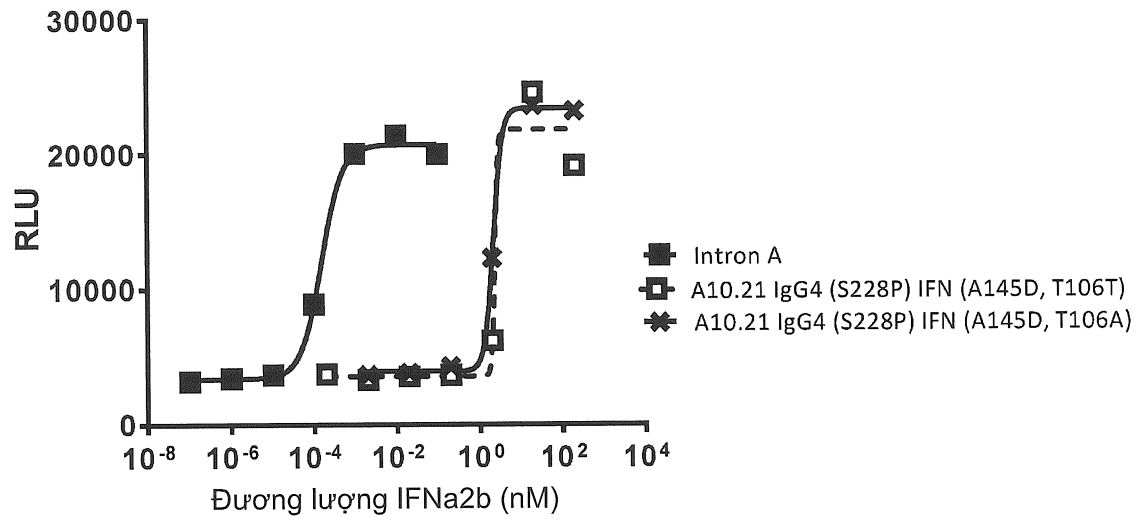
B.



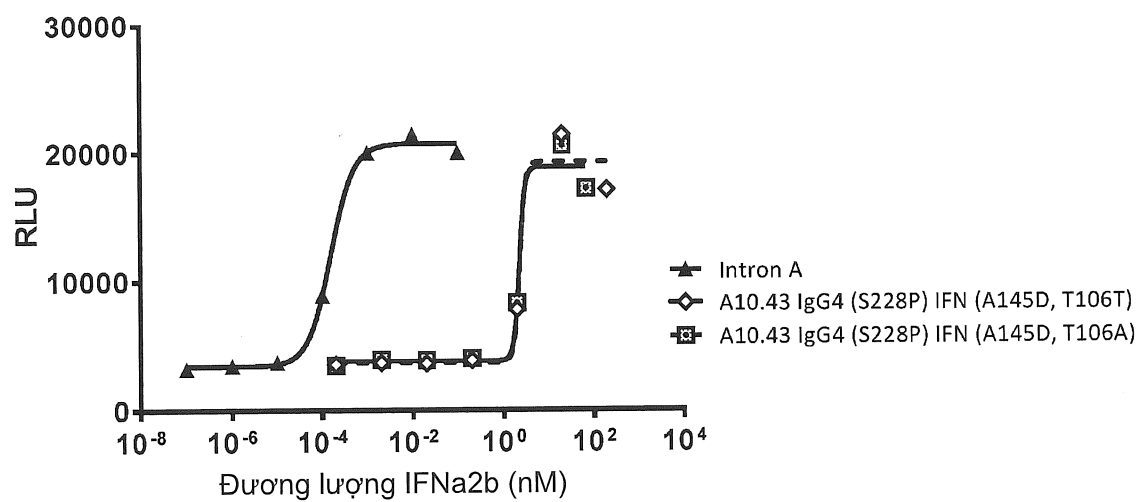
- 8/29 -

Fig.4

A.

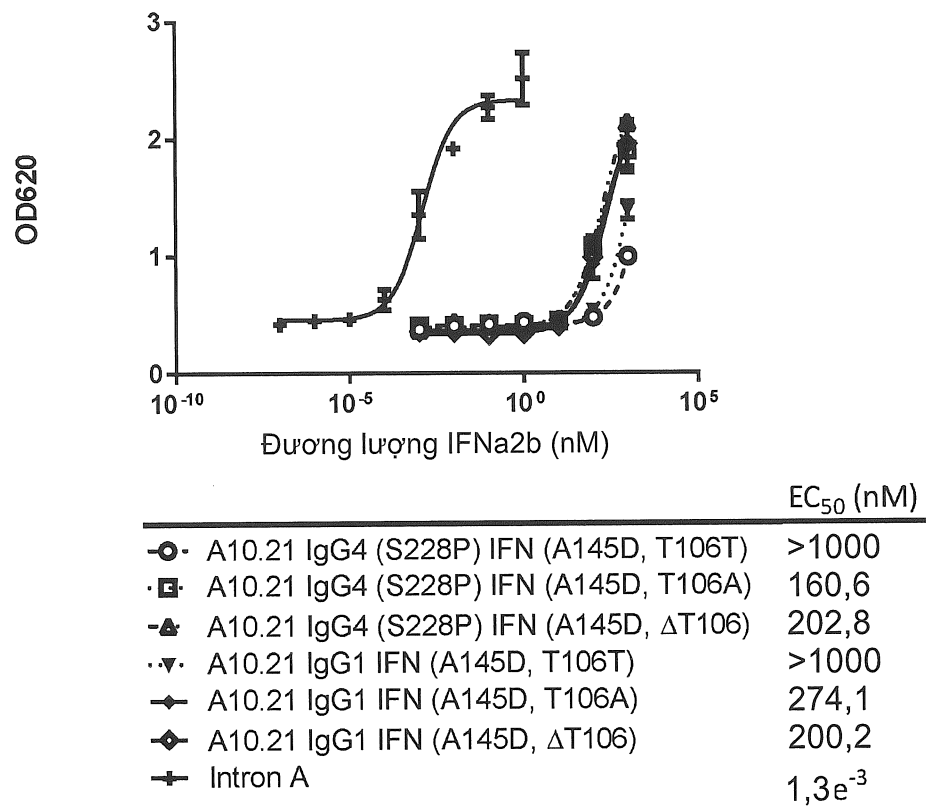


B.



- 9/29 -

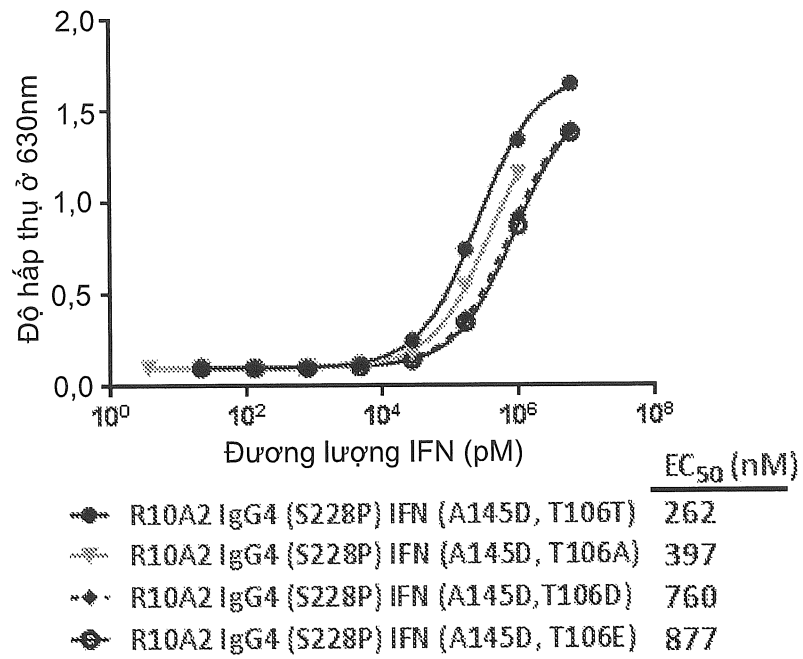
Fig.5



- 10/29 -

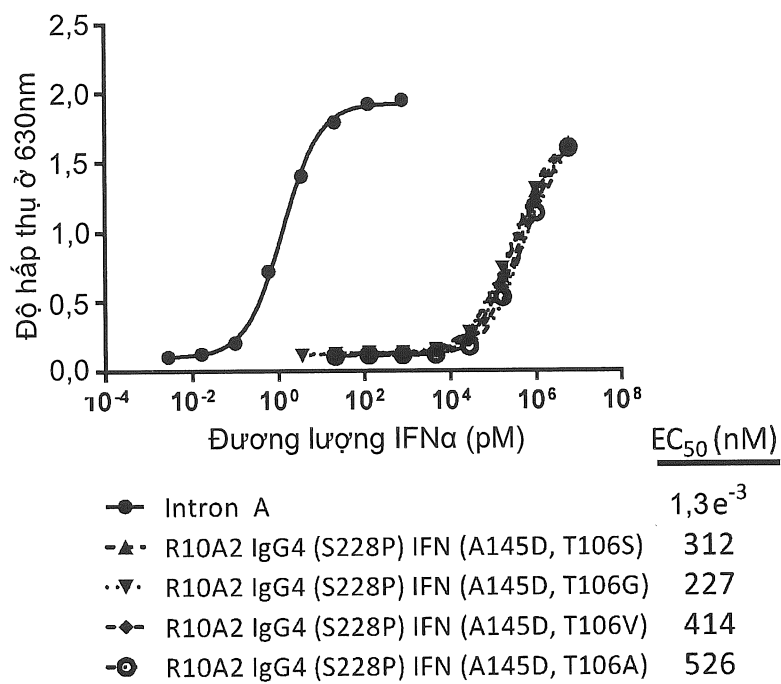
Fig.6

Fig.6A



- 11/29 -

Fig.6B



- 12/29 -

Fig.6C

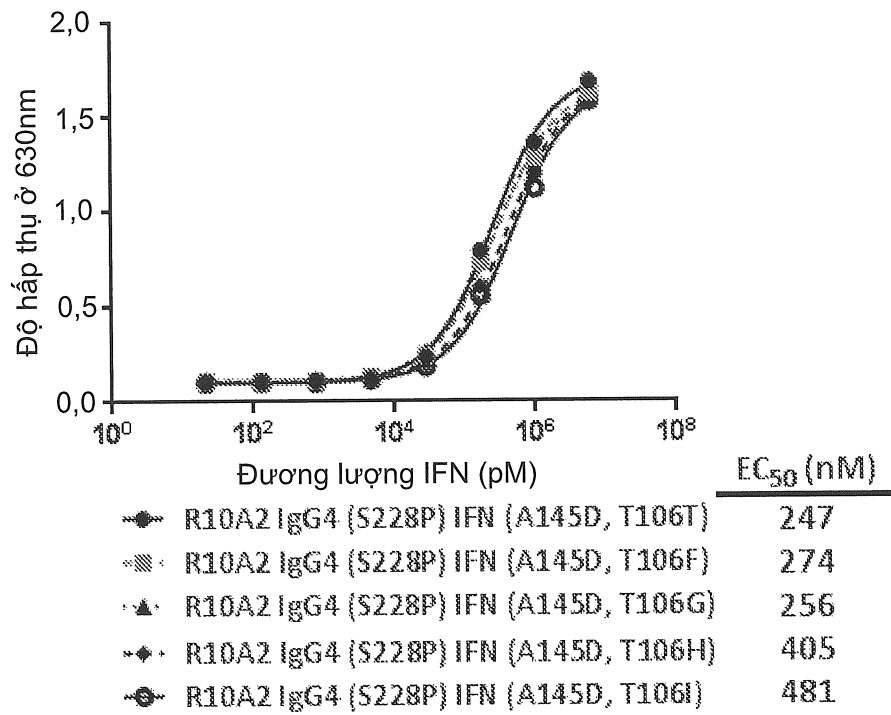
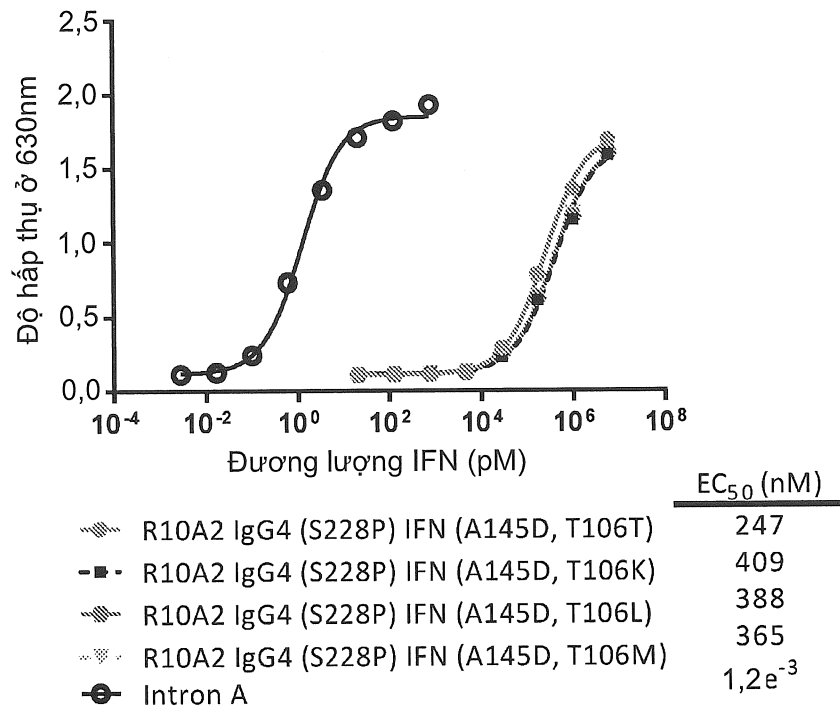


Fig.6D



- 15/29 -

Fig.6F

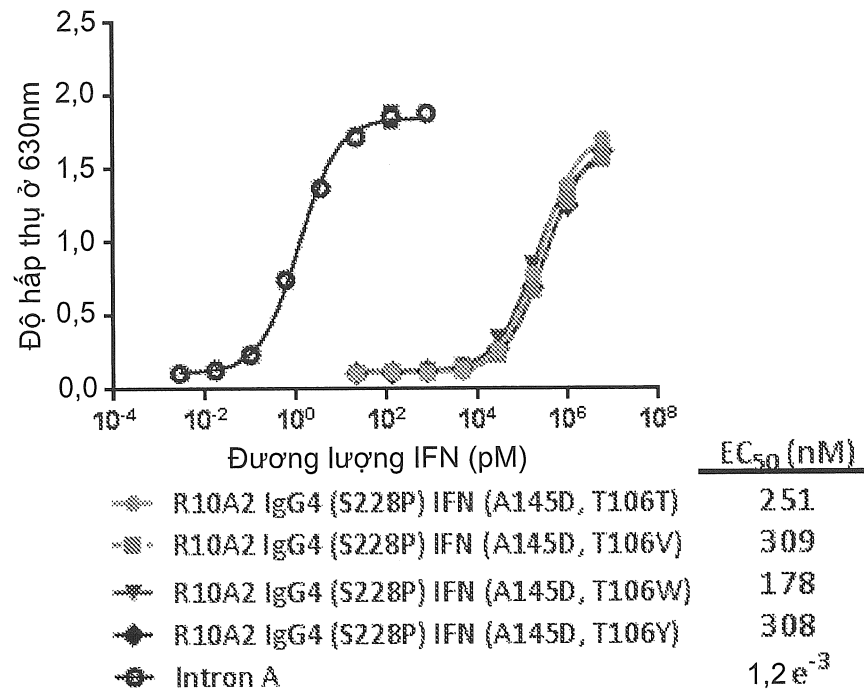


Fig.7

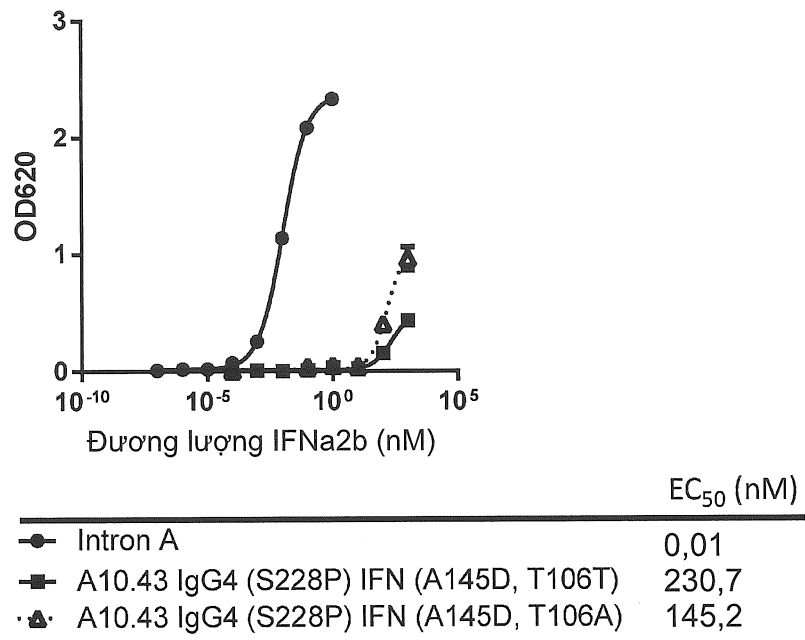


Fig.8

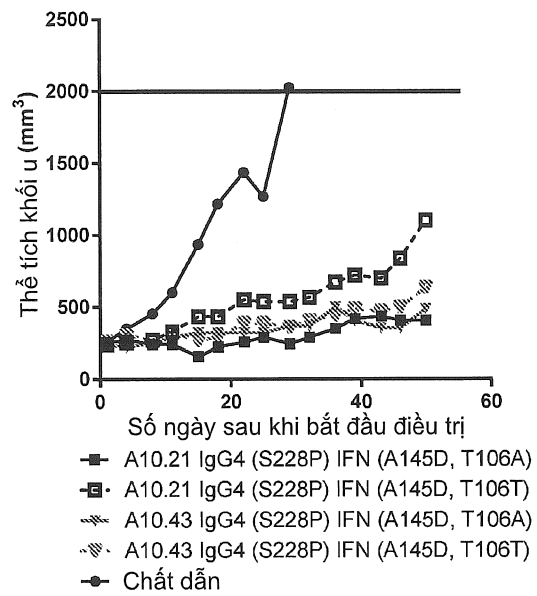
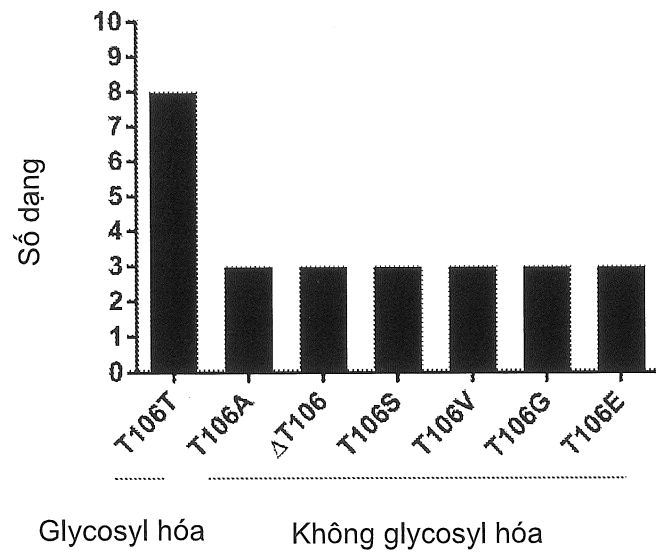


Fig.9



- 19/29 -

Fig.10

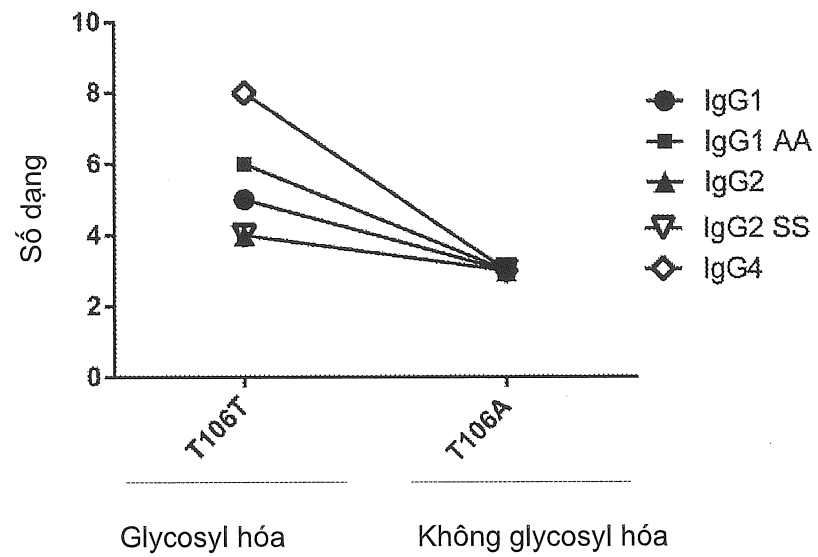


Fig.11

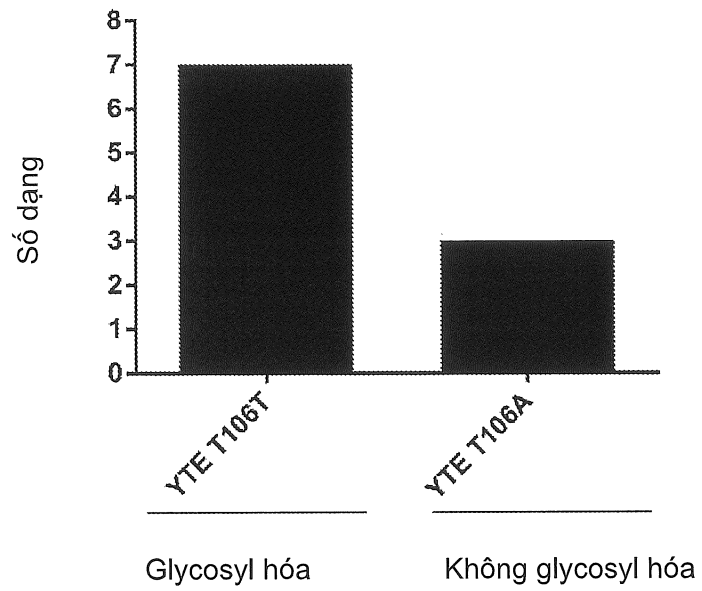


Fig.12

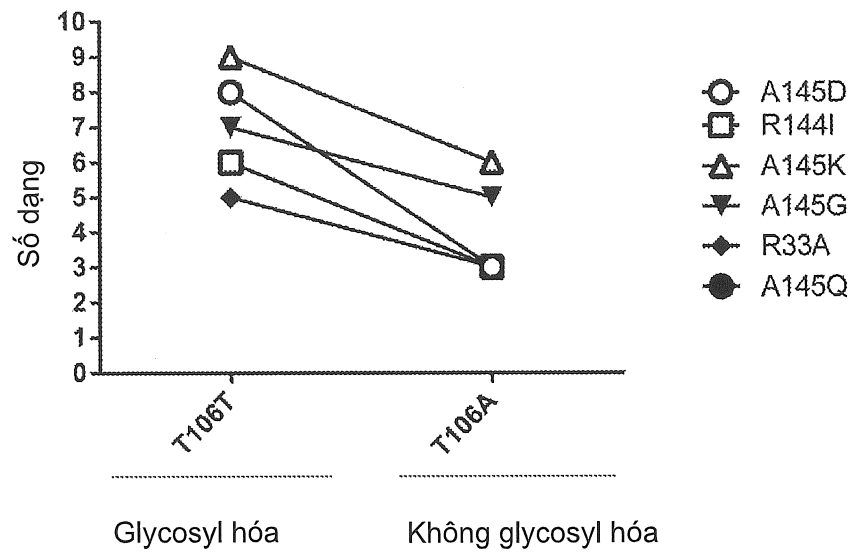


Fig.13

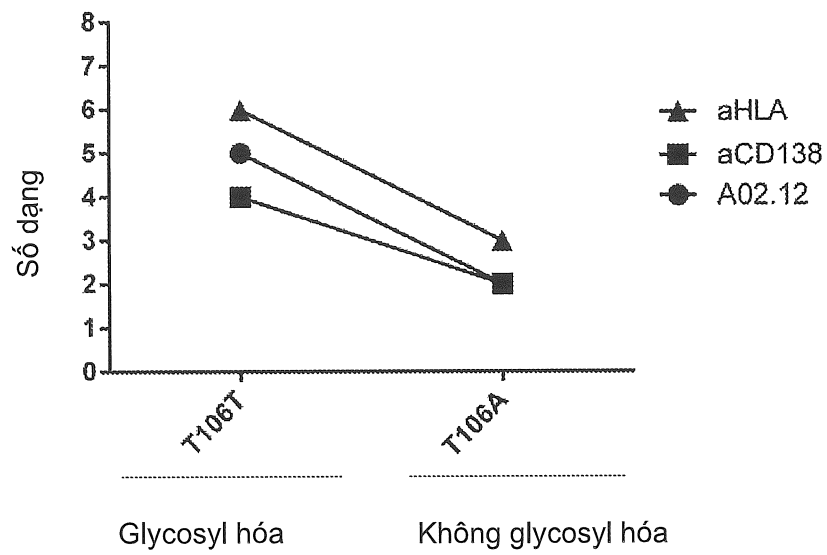
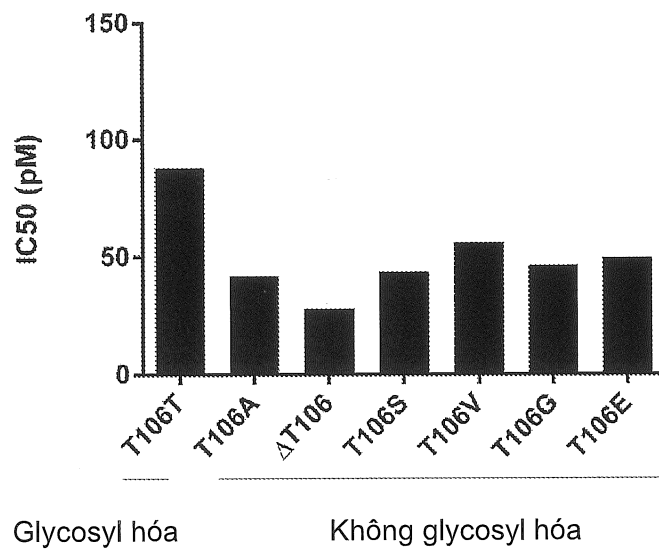


Fig.14



- 24/29 -

Fig.15

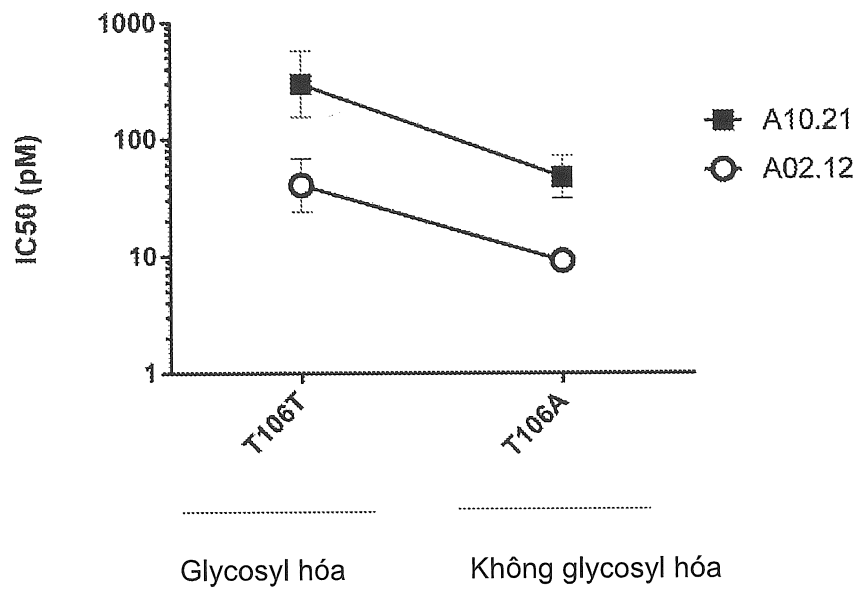


Fig.16

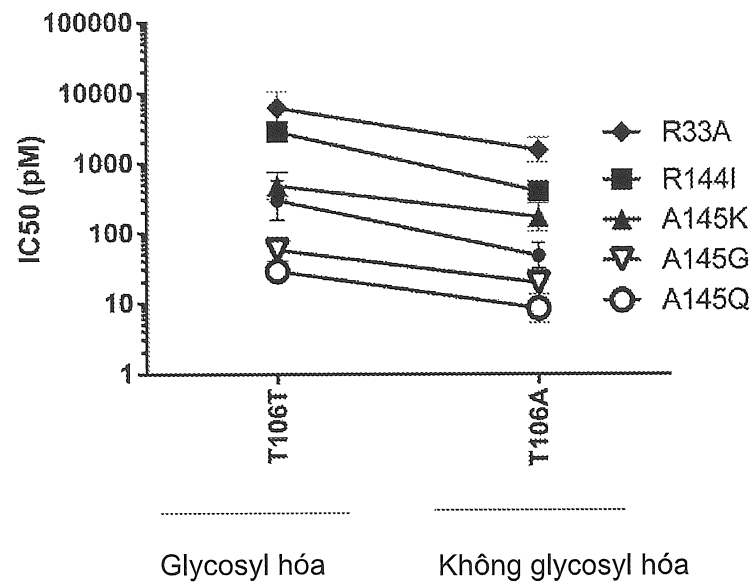
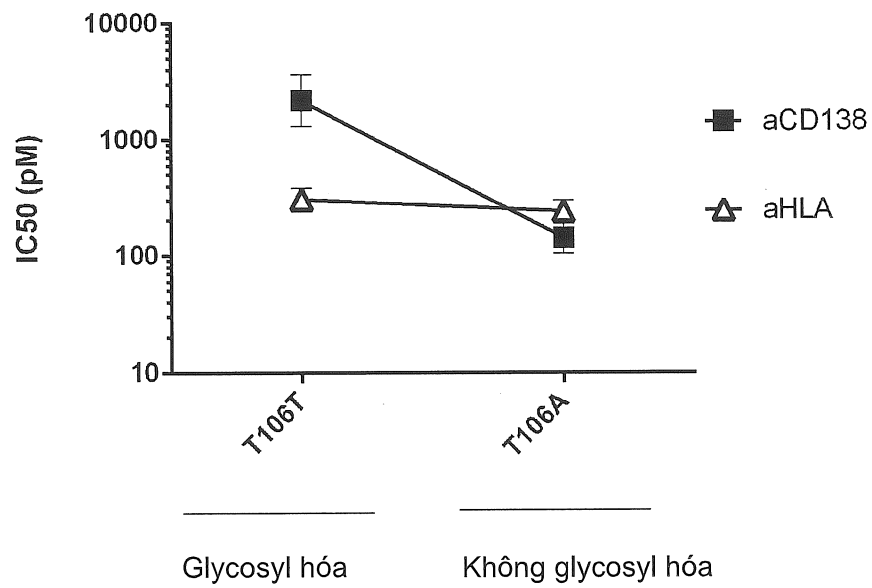


Fig.17



- 27/29 -

Fig.18

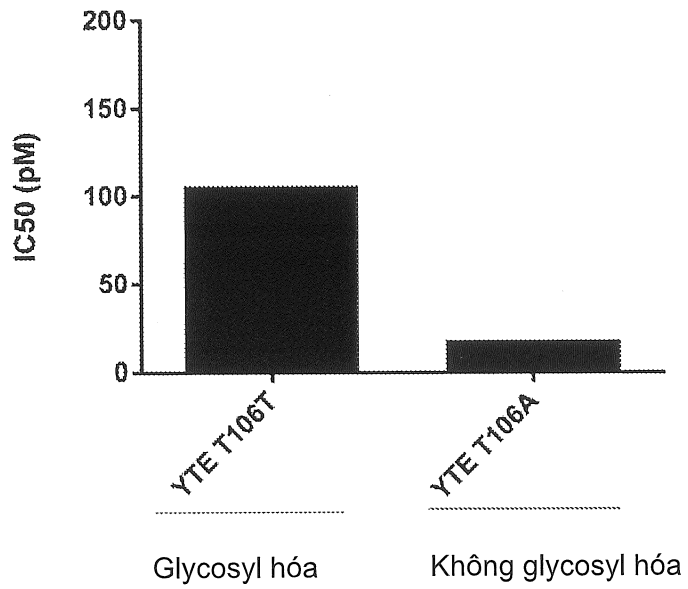


Fig.19

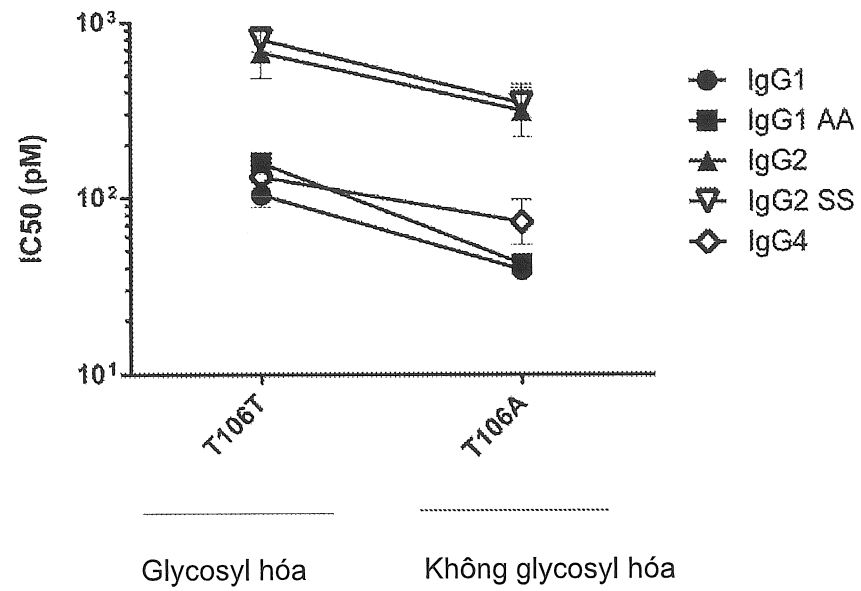
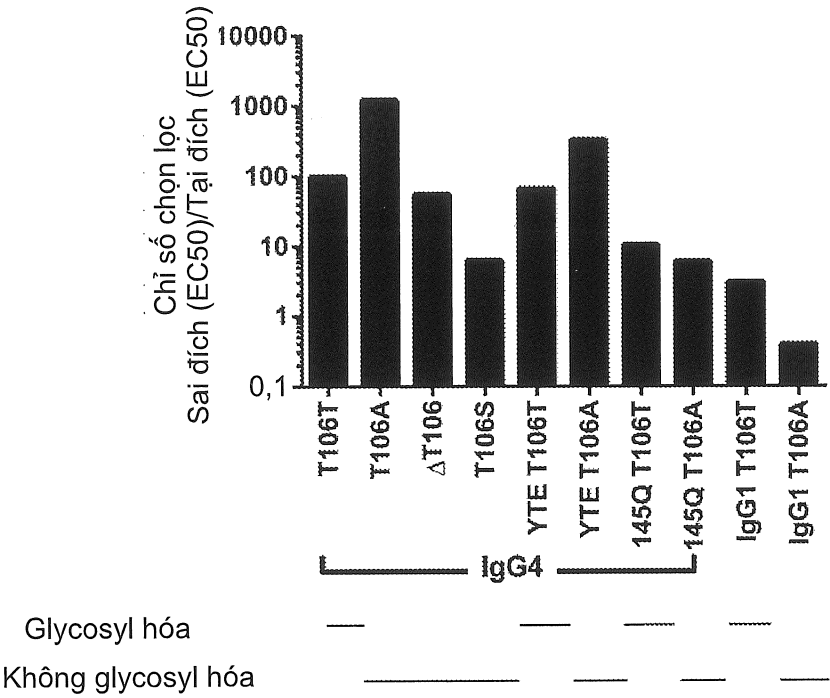


Fig.20



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Teva Pharmaceuticals Australia Pty Ltd
 <120> Polypeptit dung hợp chứa các biến thể interferon $\alpha 2b$ được aglycosyl hóa, chế phẩm chứa polypeptit này và phương pháp tạo ra polypeptit dung hợp này
 <130> 35241105/WJP
 <160> 112
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 165
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo
 <220>
 <223> Interferon alpha-2-b với sự đột biến ở vị trí axit amin 106
 <220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (106)..(106)
 <223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, V, W, Y
 <400> 1
 Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15
 Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30
 Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45
 Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60
 Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80
 Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95
 Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Xaa Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 2

<211> 164

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223 Interferon alpha-2-b với sự xóa bỏ axit amin ở vị trí 106

<400> 2

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu

100 105 110
 Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
 115 120 125
 Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala
 130 135 140
 Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
 145 150 155 160
 Arg Ser Lys Glu

<210> 3

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu L15A

<400> 3

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Ala Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 4

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu A19W

<400> 4

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Trp Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 5

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu R22A

<400> 5

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Ala Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

```

      85              90              95
Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
      100              105              110
Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
      115              120              125
Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
      130              135              140
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
      145              150              155              160
Leu Arg Ser Lys Glu
      165

```

<210> 6

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu R23A

<400> 6

```

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1              5              10              15

```

```

Leu Leu Ala Gln Met Arg Ala Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
      20              25              30

```

```

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
      35              40              45

```

```

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
      50              55              60

```

```

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
      65              70              75              80

```

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 7

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

 $\langle 220 \rangle$

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu S25A

 $\langle 400 \rangle$ 7

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ala Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

$\langle 210 \rangle$ 8

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

 $\langle 220 \rangle$

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu L26A

<400> 8

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Ala Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

[illegible]

$\langle 210 \rangle$ 9

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

 $\langle 220 \rangle$

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu F27A

<400> 9

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Ala Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 10

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu L30X, trong đó X có thể axit amin bất kỳ được chọn từ A, V

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (30)..(30)

<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ A, V

<400> 10

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Xaa Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35	40	45
Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe		
50	55	60
Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu		
65	70	75 80
Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu		
85	90	95
Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys		
100	105	110
Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu		
115	120	125
Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg		
130	135	140
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser		
145	150	155 160
Leu Arg Ser Lys Glu		
165		

<210> 11

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu K31A

<400> 11

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Ala Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 12

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu D32A

<400> 12

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Ala
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 13

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu R33X, trong đó X có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ K, A, Q

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (33)..(33)

<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ K, A, Q

<400> 13

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Xaa His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 14

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu H34A

<400> 14

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg Ala Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 15

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu Q40A

<400> 15

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Ala Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 16

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu D114R

<400> 16

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Arg Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 17

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu L117A

<400> 17

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Ala Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 18

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu R120X trong đó X có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ A, E

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (120)..(120)

<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ A, E

<400> 18

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Xaa Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 19

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu R125X trong đó X có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ A, E

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (125)..(125)

<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ A, E

<400> 19

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Xaa Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 20

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu K131A

<400> 20

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

```

                100                105                110
Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
      115                120                125

Tyr Leu Ala Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
      130                135                140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
      145                150                155                160

Leu Arg Ser Lys Glu
                165

```

<210> 21

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu E132A

<400> 21

```

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1                5                10                15

```

```

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
      20                25                30

```

```

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
      35                40                45

```

```

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
      50                55                60

```

```

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
      65                70                75                80

```

```

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
                85                90                95

```

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Ala Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 22

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu K133A

<400> 22

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Ala Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 23

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu K134A

<400> 23

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85	90	95
Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys		
100	105	110
Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu		
115	120	125
Tyr Leu Lys Glu Lys Ala Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg		
130	135	140
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser		
145	150	155
160		
Leu Arg Ser Lys Glu		
165		

<210> 24

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu R144X trong đó X có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ A, D, E, G, H, I, K, L, N, Q, S, T, V, Y

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (144)..(144)

<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ A, D, E, G, H, I, K, L, N, Q, S, T, V, Y

<400> 24

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Xaa
 130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 25

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu A145X trong đó X có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ D, E, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, Y

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (145)..(145)

<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ D, E, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, Y

<400> 25

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Xaa Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 26

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu M148A

<400> 26

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Ala Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 27

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu R149A

<400> 27

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Ala Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 28

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu S152A

<400> 28

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ala Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 29

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu L153A

<400> 29

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Ala Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 30

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa sự đột biến làm suy yếu N156A

<400> 30

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Ala Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 31

<211> 612

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A592D, T553X) trong đó X có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ A, G, E, S, V

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (553)..(553)

<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ A, G, E, S, V

<400> 31

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

Thr	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Val	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Ser
			20					25					30		

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

Gly	Trp	Ile	Asp	Pro	Glu	Tyr	Gly	Arg	Thr	Asp	Val	Ala	Glu	Lys	Phe
	50						55				60				

Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80

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

Ala	Arg	Thr	Lys	Tyr	Asn	Ser	Gly	Tyr	Gly	Phe	Pro	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105					110		

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

Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala
	130						135					140			

Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

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

Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn			
	370						375					380						
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser			
385						390				395					400			
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg			
				405					410					415				
Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu			
			420					425					430					
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Cys			
	435						440						445					
Asp	Leu	Pro	Gln	Thr	His	Ser	Leu	Gly	Ser	Arg	Arg	Thr	Leu	Met	Leu			
	450					455					460							
Leu	Ala	Gln	Met	Arg	Arg	Ile	Ser	Leu	Phe	Ser	Cys	Leu	Lys	Asp	Arg			
465					470					475					480			
His	Asp	Phe	Gly	Phe	Pro	Gln	Glu	Glu	Phe	Gly	Asn	Gln	Phe	Gln	Lys			
				485					490					495				
Ala	Glu	Thr	Ile	Pro	Val	Leu	His	Glu	Met	Ile	Gln	Gln	Ile	Phe	Asn			
			500					505					510					
Leu	Phe	Ser	Thr	Lys	Asp	Ser	Ser	Ala	Ala	Trp	Asp	Glu	Thr	Leu	Leu			
	515						520					525						
Asp	Lys	Phe	Tyr	Thr	Glu	Leu	Tyr	Gln	Gln	Leu	Asn	Asp	Leu	Glu	Ala			
	530					535					540							
Cys	Val	Ile	Gln	Gly	Val	Gly	Val	Xaa	Glu	Thr	Pro	Leu	Met	Lys	Glu			
545					550				555						560			
Asp	Ser	Ile	Leu	Ala	Val	Arg	Lys	Tyr	Phe	Gln	Arg	Ile	Thr	Leu	Tyr			
			565						570					575				

Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp
 580 585 590

Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
 595 600 605

Arg Ser Lys Glu
 610

<210> 32

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa các sự
 đột biến làm suy yếu L30A, H57Y, E58N và Q61S

<400> 32

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Ala Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu Tyr Asn Met Ile Ser Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 33

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa các sự
 đột biến làm suy yếu R33A, H57Y, E58N và Q61S

<400> 33

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Ala His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu Tyr Asn Met Ile Ser Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125
 Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140
 Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160
 Leu Arg Ser Lys Glu
 165
 <210> 34
 <211> 165
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo
 <220>
 <223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa các sự
 đột biến làm suy yếu M148A, H57Y, E58N và Q61S
 <400> 34
 Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15
 Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30
 Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45
 Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu Tyr Asn Met Ile Ser Gln Ile Phe
 50 55 60
 Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80
 Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95
 Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Ala Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 35

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa các sự
 đột biến làm suy yếu L153A, H57Y, E58N và Q61S

<400> 35

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu Tyr Asn Met Ile Ser Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Ala Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 36

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa các sự
 đột biến làm suy yếu R144A, H57Y, E58N và Q61S

<400> 36

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu Tyr Asn Met Ile Ser Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

```

100              105              110
Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115              120              125
Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Ala
130              135              140
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145              150              155              160
Leu Arg Ser Lys Glu
165

```

<210> 37

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa các sự đột biến làm suy yếu N65A, L80A, Y85A, Y89A

<400> 37

```

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1              5              10              15

```

```

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20              25              30

```

```

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35              40              45

```

```

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50              55              60

```

```

Ala Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Ala
65              70              75              80

```

```

Leu Asp Lys Phe Ala Thr Glu Leu Ala Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85              90              95

```

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 38

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa các sự
 đột biến làm suy yếu N65A, L80A, Y85A, Y89A và D114A

<400> 38

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Ala Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Ala
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Ala Thr Glu Leu Ala Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Ala Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 39

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa các sự
 đột biến làm suy yếu N65A, L80A, Y85A, Y89A và L117A

<400> 39

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Ala Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Ala
 65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Ala Thr Glu Leu Ala Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

[illegible] $\langle 210 \rangle$ 40

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

 $\langle 220 \rangle$

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa các sự đột biến làm suy yếu N65A, L80A, Y85A, Y89A và R120A

 $\langle 400 \rangle$ 40

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Ala Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Ala
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Ala Thr Glu Leu Ala Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Ala Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 41

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa các sự
đột biến làm suy yếu Y85A, Y89A và R120A

<400> 41

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Ala Thr Glu Leu Ala Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Ala Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 42

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa các sự
đột biến làm suy yếu D114A,R120A

<400> 42

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

```

<210> 43
<211> 165
<212> PRT
<213> Nhân tạo
<220>
<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa các sự
đột biến làm suy yếu L117A,R120A
<400> 43
Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15
Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30
Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45
Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

```

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Ala Ala Val Ala Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 44

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa các sự
đột biến làm suy yếu L117A,R120A,K121A

<400> 44

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Ala Ala Val Ala Ala Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 45

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa
các sự đột biến làm suy yếu R120A,K121A

<400> 45

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60
 Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80
 Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95
 Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110
 Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Ala Ala Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125
 Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140
 Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160
 Leu Arg Ser Lys Glu
 165

 <210> 46
 <211> 165
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo
 <220>
 <223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa
 các sự đột biến làm suy yếu R120E,K121E
 <400> 46
 Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15
 Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30
 Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Glu Glu Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 47

<211> 160

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được aglycosyl hóa (T106A) của người chứa
sự xóa bỏ làm suy yếu đối với các gốc L161-E165

<400> 47

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

<210> 48

<211> 447

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VH 10.21 được định dạng dưới dạng IgG4 kết hợp với sự thể ổn định hóa vùng bản lề S228P

<400> 48

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe

50		55		60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr				
65		70		75
				80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys				
	85		90	95
Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln				
	100		105	110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val				
	115		120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala				
	130		135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser				
145		150		155
				160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val				
	165		170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro				
	180		185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys				
	195		200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro				
	210		215	220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val				
225		230		235
				240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr				
	245		250	255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu				
	260		265	270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445
 <210> 49
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo
 <220>

<223> Trình tự VH 10.21 được định dạng dưới dạng IgG4 kết hợp với sự thể ổn định hóa vùng bản lề S228P và các gốc YTE được thể ở lần lượt ở các vị trí 252, 254, 256

<400> 49

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

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

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

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

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu
 245 250 255

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

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

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

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

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

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

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

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

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

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405 410 415
 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445
 <210> 50
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự VH 10.21 được định dạng dưới dạng IgG1
 <400> 50
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30
 Val Met Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys
 450

<210> 51

<211> 450

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VH 10.21 được định dạng dưới dạng IgG1 kết hợp với các sự
 thể L238A và G240A để giảm chức năng cảm ứng

<400> 51

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe

50						55										60
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Tyr	
65					70					75					80	
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85					90					95		
Ala	Arg	Thr	Lys	Tyr	Asn	Ser	Gly	Tyr	Gly	Phe	Pro	Tyr	Trp	Gly	Gln	
			100					105						110		
Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	
		115					120					125				
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	
	130					135					140					
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	
145					150					155					160	
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	
				165					170					175		
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	
			180					185					190			
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	
		195					200						205			
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	
	210					215					220					
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Ala	Gly	Ala	
225					230					235					240	
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	
				245					250					255		
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	
			260					265						270		

```

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys
      450

<210> 52
<211> 450
<212> PRT

```

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VH 10.21 được định dạng dưới dạng IgG1 kết hợp với các sự thể L235A và G237A (giảm chức năng cảm ứng) và M255Y, S257T, T259E

<400> 52

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

Thr	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Val	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Ser
			20						25					30	

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

Gly	Trp	Ile	Asp	Pro	Glu	Tyr	Gly	Arg	Thr	Asp	Val	Ala	Glu	Lys	Phe
	50						55				60				

Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80

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

Ala	Arg	Thr	Lys	Tyr	Asn	Ser	Gly	Tyr	Gly	Phe	Pro	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105					110		

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys
 450

<210> 53

<211> 446

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VH 10.21 được định dạng trên khung IgG2

<400> 53

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

325 330 335
 Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 54
 <211> 446
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo
 <220>
 <223> Trình tự VH 10.21 được định dạng lên khung IgG2 kết hợp với các sự
 thể M251Y, S253T và T255E
 <400> 54
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30
 Val Met Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140

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

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

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

Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205

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

Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro
 245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

	260		265		270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr					
	275		280		285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val					
	290		295		300
Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys					
305		310		315	320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser					
	325		330		335
Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro					
	340		345		350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val					
	355		360		365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly					
	370		375		380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp					
385		390		395	400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp					
	405		410		415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His					
	420		425		430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
	435		440		445
<210> 55					
<211> 447					
<212> PRT					
<213> Nhân tạo					
<220>					

<223> Trình tự VH 10.43 được định dạng lên khung IgG4 kết hợp với sự thể ổn định hóa vùng bản lề S228P

<400> 55

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Asp Ser
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

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

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

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

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro		
210	215	220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val		
225	230	235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
245	250	255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu		
260	265	270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
275	280	285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
290	295	300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
305	310	315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile		
325	330	335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
340	345	350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
355	360	365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
370	375	380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
385	390	395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
405	410	415

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

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

<210> 56

<211> 447

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VH 10.152 được định dạng dưới dạng IgG4 kết hợp với sự thể
 ổn định hóa vùng bản lề S228P

<400> 56

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala

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

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445
 <210> 57
 <211> 401
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo
 <220>
 <223> OPG-Fc construct
 <400> 57
 Glu Thr Phe Pro Pro Lys Tyr Leu His Tyr Asp Glu Glu Thr Ser His
 1 5 10 15
 Gln Leu Leu Cys Asp Lys Cys Pro Pro Gly Thr Tyr Leu Lys Gln His
 20 25 30
 Cys Thr Ala Lys Trp Lys Thr Val Cys Ala Pro Cys Pro Asp His Tyr
 35 40 45
 Tyr Thr Asp Ser Trp His Thr Ser Asp Glu Cys Leu Tyr Cys Ser Pro
 50 55 60
 Val Cys Lys Glu Leu Gln Tyr Val Lys Gln Glu Cys Asn Arg Thr His
 65 70 75 80

Asn	Arg	Val	Cys	Glu	Cys	Lys	Glu	Gly	Arg	Tyr	Leu	Glu	Gly	Glu	Phe	85	90	95
Cys	Leu	Lys	His	Arg	Ser	Cys	Pro	Pro	Gly	Phe	Gly	Val	Val	Gln	Ala	100	105	110
Gly	Thr	Pro	Glu	Arg	Asn	Thr	Val	Cys	Lys	Arg	Cys	Pro	Asp	Gly	Phe	115	120	125
Phe	Ser	Asn	Glu	Thr	Ser	Ser	Lys	Ala	Pro	Cys	Arg	Lys	His	Thr	Asn	130	135	140
Cys	Ser	Val	Phe	Gly	Leu	Leu	Leu	Thr	Gln	Lys	Gly	Asn	Ala	Thr	His	145	150	155
Asp	Asn	Ile	Cys	Ser	Gly	Asn	Ser	Glu	Ser	Thr	Gln	Lys	Glu	Arg	Lys	165	170	175
Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	180	185	190
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	195	200	205
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	210	215	220
Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	225	230	235
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	245	250	255
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	260	265	270
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	275	280	285

Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
290 295 300

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
305 310 315 320

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
325 330 335

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
340 345 350

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
355 360 365

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
370 375 380

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
385 390 395 400

Lys

<210> 58

<211> 448

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VH X2.12 được định dạng dưới dạng IgG4 (S228P)

<400> 58

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

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

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

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

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

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

Cys Ala Arg Val Gly Gly Ala Gly Gly Trp Pro Leu Asp Val Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140

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

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

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

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

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
 210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240

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

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro

260	265	270
Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
275	280	285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
290	295	300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
305	310	315
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr		
325	330	335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
340	345	350
Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys		
355	360	365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
370	375	380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
385	390	395
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser		
405	410	415
Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
420	425	430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys		
435	440	445
<210>	59	
<211>	449	
<212>	PRT	
<213>	Nhân tạo	
<220>		

<223> Trình tự VH kháng CD138 được định dạng lên khung IgG4 (S228P)

<400> 59

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Thr Gly Arg Thr Ile Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Ile Ser Ser Asn Thr Val Gln

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Arg Asp Tyr Tyr Gly Asn Phe Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
 210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240

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

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

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

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe 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 Gly Leu Pro Ser Ser 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 Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Glu 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 Leu Gly
 435 440 445

Lys

<210> 60

<211> 447

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VH kháng HLA được định dạng lên IgG4 kết hợp với sự thể ổn định hóa vùng bản lề S228P

<400> 60

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

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

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

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile
 50 55 60

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

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ala Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Thr Phe Thr Thr Ser Thr Ser Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

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

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

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

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

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

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

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

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

<210> 61

<211> 611

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự A10.21VH được định dạng lên khung IgG4 kết hợp với sự thể ổn định hóa vùng bản lề S228P và sự xóa bỏ gốc Threonin ở vị trí 553 (tức là:T106 trong trình tự interferon)

<400> 61

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe

50		55		60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr				
65		70		75
				80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys				
	85		90	95
Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln				
	100		105	110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val				
	115		120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala				
	130		135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser				
145		150		155
				160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val				
	165		170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro				
	180		185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys				
	195		200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro				
	210		215	220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val				
225		230		235
				240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr				
	245		250	255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu				
	260		265	270

Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	275	280	285	
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	290	295	300	
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	305	310	315	320
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	325	330	335	
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	340	345	350	
Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	355	360	365	
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	370	375	380	
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	385	390	395	400
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	405	410	415	
Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	420	425	430	
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Cys	435	440	445	
Asp	Leu	Pro	Gln	Thr	His	Ser	Leu	Gly	Ser	Arg	Arg	Thr	Leu	Met	Leu	450	455	460	
Leu	Ala	Gln	Met	Arg	Arg	Ile	Ser	Leu	Phe	Ser	Cys	Leu	Lys	Asp	Arg	465	470	475	480

His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys
 485 490 495

Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn
 500 505 510

Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
 515 520 525

Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala
 530 535 540

Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp
 545 550 555 560

Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu
 565 570 575

Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp Glu
 580 585 590

Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg
 595 600 605

Ser Lys Glu
 610

<210> 62

<211> 612

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> A10.21 IgG4 IFN

<400> 62

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30

Val	Met	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Met			
		35					40					45						
Gly	Trp	Ile	Asp	Pro	Glu	Tyr	Gly	Arg	Thr	Asp	Val	Ala	Glu	Lys	Phe			
	50					55					60							
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Tyr			
65					70					75					80			
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
				85					90					95				
Ala	Arg	Thr	Lys	Tyr	Asn	Ser	Gly	Tyr	Gly	Phe	Pro	Tyr	Trp	Gly	Gln			
			100					105					110					
Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val			
		115					120					125						
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala			
	130					135					140							
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser			
145					150					155					160			
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val			
				165					170					175				
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro			
			180					185					190					
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys			
		195					200					205						
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro			
	210					215						220						
Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val			
225					230					235					240			
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Tyr	Ile	Thr	Arg	Glu			

	245		250		255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu					
	260		265		270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys					
	275		280		285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser					
	290		295		300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys					
305		310		315	320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile					
	325		330		335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro					
	340		345		350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu					
	355		360		365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn					
	370		375		380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser					
385		390		395	400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg					
	405		410		415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu					
	420		425		430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Cys					
	435		440		445
Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu					
	450		455		460

Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg
 465 470 475 480

His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys
 485 490 495

Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn
 500 505 510

Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
 515 520 525

Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala
 530 535 540

Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu
 545 550 555 560

Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
 565 570 575

Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp
 580 585 590

Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
 595 600 605

Arg Ser Lys Glu
 610

<210> 63

<211> 612

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> A10.21 IgG4 IFN

<400> 63

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

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

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

435	440	445
Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu		
450	455	460
Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg		
465	470	475
His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys		
485	490	495
Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn		
500	505	510
Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu		
515	520	525
Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala		
530	535	540
Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu		
545	550	555
Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr		
565	570	575
Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Ile Ala		
580	585	590
Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu		
595	600	605
Arg Ser Lys Glu		
610		

<210> 64
 <211> 612
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo
 <220>

<223> A10.21 IgG4 IFN

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (592)..(592)

<223> Where Xaa có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ G, K

<400> 64

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

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

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

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

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

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

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

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

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

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

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

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

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

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

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385		390		395		400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg						
	405		410		415	
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu						
	420		425		430	
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Cys						
	435		440		445	
Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu						
	450		455		460	
Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg						
	465		470		475	
His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys						
		485		490		495
Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn						
		500		505		510
Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu						
	515		520		525	
Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala						
	530		535		540	
Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu						
	545		550		555	
Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr						
		565		570		575
Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Xaa						
		580		585		590
Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu						
	595		600		605	

Arg Ser Lys Glu

610

<210> 65

<211> 612

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> A10.21 IgG4 IFN

<400> 65

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140

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

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

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

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

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

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

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

Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu
 450 455 460

Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Ala
 465 470 475 480

His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys
 485 490 495

Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn
 500 505 510

Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
 515 520 525

Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala
 530 535 540

Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu
 545 550 555 560

Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
 565 570 575

Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala

```

                    580                      585                      590
Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
          595                      600                      605

Arg Ser Lys Glu
      610

<210>  66
<211>  612
<212>  PRT
<213>  Nhân tạo
<220>
<223>  A10.21 IgG4 IFN

<220>
<221>  BIẾN THỂ
<222>  (592)..(592)
<223>  Where Xaa có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ the group Q, N
<400>  66
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1              5              10              15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
          20              25              30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
          50              55              60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65              70              75              80

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

Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
          100             105             110

```

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

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

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

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

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

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

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

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

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

Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu
 450 455 460

Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg
 465 470 475 480

His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys
 485 490 495

Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn
 500 505 510

Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
 515 520 525

Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala

530 535 540
 Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu
 545 550 555 560
 Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
 565 570 575
 Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Xaa
 580 585 590
 Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
 595 600 605
 Arg Ser Lys Glu
 610

 <210> 67
 <211> 612
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo
 <220>
 <223> A10.21 IgG4 IFN

 <220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (591)..(591)
 <223> Where Xaa có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ H, N
 <400> 67
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30

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

 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Thr	Asp	Thr	Ala	Tyr	65	70	75	80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Ala	Arg	Thr	Lys	Tyr	Asn	Ser	Gly	Tyr	Gly	Phe	Pro	Tyr	Trp	Gly	Gln	100	105	110	
Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	115	120	125	
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	130	135	140	
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	145	150	155	160
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	165	170	175	
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	180	185	190	
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	195	200	205	
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	210	215	220	
Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	225	230	235	240
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	245	250	255	
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	260	265	270	

Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	275	280	285	
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	290	295	300	
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	305	310	315	320
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	325	330	335	
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	340	345	350	
Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	355	360	365	
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	370	375	380	
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	385	390	395	400
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	405	410	415	
Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	420	425	430	
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Cys	435	440	445	
Asp	Leu	Pro	Gln	Thr	His	Ser	Leu	Gly	Ser	Arg	Arg	Thr	Leu	Met	Leu	450	455	460	
Leu	Ala	Gln	Met	Arg	Arg	Ile	Ser	Leu	Phe	Ser	Cys	Leu	Lys	Asp	Arg	465	470	475	480
His	Asp	Phe	Gly	Phe	Pro	Gln	Glu	Glu	Phe	Gly	Asn	Gln	Phe	Gln	Lys				

485 490 495
 Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn
 500 505 510
 Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
 515 520 525
 Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala
 530 535 540
 Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu
 545 550 555 560
 Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
 565 570 575
 Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Xaa Ala
 580 585 590
 Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
 595 600 605
 Arg Ser Lys Glu
 610
 <210> 68
 <211> 615
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo
 <220>
 <223> A10.21 IgG1 IFN
 <400> 68
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30
 Val Met Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35	40	45
Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe		
50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln		
100	105	110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val		
115	120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala		
130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser		
145	150	155
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val		
165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro		
180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys		
195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp		
210	215	220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly		
225	230	235
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile		
245	250	255

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly Lys Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr
 450 455 460

Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu
465 470 475 480

Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln
485 490 495

Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln
500 505 510

Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu
515 520 525

Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp
530 535 540

Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu
545 550 555 560

Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile
565 570 575

Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val
580 585 590

Val Arg Asp Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln
595 600 605

Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu
610 615

<210> 69

<211> 615

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> A10.21 IgG1 IFN

<400> 69

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

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

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

Gly Lys Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr
 450 455 460

Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu
 465 470 475 480

Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln
 485 490 495

Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln
 500 505 510

Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu
 515 520 525

Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp
 530 535 540

Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu
 545 550 555 560

Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile
 565 570 575

Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val
 580 585 590

Val Arg Asp Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln
 595 600 605

Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu
 610 615

<210> 70

<211> 615

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> A10.21 IgG1 IFN

<400> 70

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420	425	430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
435	440	445
Gly Lys Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr		
450	455	460
Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu		
465	470	475
Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln		
485	490	495
Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln		
500	505	510
Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu		
515	520	525
Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp		
530	535	540
Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu		
545	550	555
Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile		
565	570	575
Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val		
580	585	590
Val Arg Asp Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln		
595	600	605
Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu		
610	615	
<210> 71		
<211> 615		

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> A10.21 IgG1 IFN

<400> 71

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr
 450 455 460
 Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu
 465 470 475 480
 Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln
 485 490 495
 Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln
 500 505 510
 Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu
 515 520 525
 Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp
 530 535 540
 Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu
 545 550 555 560
 Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile
 565 570 575
 Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val
 580 585 590
 Val Arg Asp Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln
 595 600 605
 Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu

610

615

<210> 72

<211> 611

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> A10.21 IgG2 IFN

<400> 72

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140

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

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

				165					170							175
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	
			180					185					190			
Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	
		195					200					205				
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	
	210					215					220					
Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
225					230					235					240	
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	
				245					250					255		
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	
			260					265					270			
Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	
		275					280					285				
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	
	290					295					300					
Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	
305					310					315					320	
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	
				325					330					335		
Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	
			340					345					350			
Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	
		355					360					365				
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	
	370					375					380					

Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	385	390	395	400
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	405	410	415	
Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	420	425	430	
Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Cys	Asp	435	440	445	
Leu	Pro	Gln	Thr	His	Ser	Leu	Gly	Ser	Arg	Arg	Thr	Leu	Met	Leu	Leu	450	455	460	
Ala	Gln	Met	Arg	Arg	Ile	Ser	Leu	Phe	Ser	Cys	Leu	Lys	Asp	Arg	His	465	470	475	480
Asp	Phe	Gly	Phe	Pro	Gln	Glu	Glu	Phe	Gly	Asn	Gln	Phe	Gln	Lys	Ala	485	490	495	
Glu	Thr	Ile	Pro	Val	Leu	His	Glu	Met	Ile	Gln	Gln	Ile	Phe	Asn	Leu	500	505	510	
Phe	Ser	Thr	Lys	Asp	Ser	Ser	Ala	Ala	Trp	Asp	Glu	Thr	Leu	Leu	Asp	515	520	525	
Lys	Phe	Tyr	Thr	Glu	Leu	Tyr	Gln	Gln	Leu	Asn	Asp	Leu	Glu	Ala	Cys	530	535	540	
Val	Ile	Gln	Gly	Val	Gly	Val	Ala	Glu	Thr	Pro	Leu	Met	Lys	Glu	Asp	545	550	555	560
Ser	Ile	Leu	Ala	Val	Arg	Lys	Tyr	Phe	Gln	Arg	Ile	Thr	Leu	Tyr	Leu	565	570	575	
Lys	Glu	Lys	Lys	Tyr	Ser	Pro	Cys	Ala	Trp	Glu	Val	Val	Arg	Asp	Glu	580	585	590	

Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg
 595 600 605

Ser Lys Glu
 610

<210> 73

<211> 611

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> A10.21 IgG2 IFN

<400> 73

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140

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

355	360	365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly		
370	375	380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp		
385	390	395
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp		
405	410	415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His		
420	425	430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Cys Asp		
435	440	445
Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu		
450	455	460
Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg His		
465	470	475
Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys Ala		
485	490	495
Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn Leu		
500	505	510
Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu Asp		
515	520	525
Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala Cys		
530	535	540
Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp		
545	550	555
Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu		
565	570	575

Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp Glu
 580 585 590

Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg
 595 600 605

Ser Lys Glu
 610

<210> 74

<211> 612

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> A10.43 IgG4 IFN

<400> 74

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Asp Ser
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

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

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

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

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

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

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

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

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

Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu
 450 455 460

Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg
 465 470 475 480

His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys
 485 490 495

Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn
 500 505 510

Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
 515 520 525

Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala
 530 535 540

Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu

545 550 555 560
 Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
 565 570 575
 Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp
 580 585 590
 Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
 595 600 605
 Arg Ser Lys Glu
 610

<210> 75

<211> 612

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> R10A2 IgG4 IFN

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (553)..(553)

<223> Where Xaa có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ A, C, D, E, F, G, H, I, L, K, M, N, P, Q, R, S, V, W, Y

<400> 75

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

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

Val Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Lys Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Ser Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65		70		75		80
Ile Tyr Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys						
		85		90		95
Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln						
		100		105		110
Gly Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val						
		115		120		125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala						
		130		135		140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser						
145		150		155		160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val						
		165		170		175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro						
		180		185		190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys						
		195		200		205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro						
		210		215		220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val						
225		230		235		240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr						
		245		250		255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu						
		260		265		270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys						
		275		280		285

Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	290	295	300	
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	305	310	315	320
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	325	330	335	
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	340	345	350	
Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	355	360	365	
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	370	375	380	
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	385	390	395	400
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	405	410	415	
Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	420	425	430	
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Cys	435	440	445	
Asp	Leu	Pro	Gln	Thr	His	Ser	Leu	Gly	Ser	Arg	Arg	Thr	Leu	Met	Leu	450	455	460	
Leu	Ala	Gln	Met	Arg	Arg	Ile	Ser	Leu	Phe	Ser	Cys	Leu	Lys	Asp	Arg	465	470	475	480
His	Asp	Phe	Gly	Phe	Pro	Gln	Glu	Glu	Phe	Gly	Asn	Gln	Phe	Gln	Lys	485	490	495	

Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn
 500 505 510

Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
 515 520 525

Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala
 530 535 540

Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Xaa Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu
 545 550 555 560

Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
 565 570 575

Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp
 580 585 590

Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
 595 600 605

Arg Ser Lys Glu
 610

<210> 76

<211> 612

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> A10.152 IgG4 IFN

<400> 76

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

260	265	270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
275	280	285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
290	295	300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
305	310	315
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile		
	325	330
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
	340	345
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
	355	360
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
	370	375
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
385	390	395
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
	405	410
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		
	420	425
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Cys		
	435	440
Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu		
	450	455
Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg		
465	470	475
		480

His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys
 485 490 495

Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn
 500 505 510

Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
 515 520 525

Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala
 530 535 540

Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu
 545 550 555 560

Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
 565 570 575

Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp
 580 585 590

Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
 595 600 605

Arg Ser Lys Glu
 610

<210> 77

<211> 613

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> A02.12 IgG4 IFN

<400> 77

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

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

Ser	Tyr	Tyr	Trp	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	His	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu		
35						40						45					
Trp	Ile	Gly	Tyr	Ile	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asn	Pro	Ser		
50						55						60					
Leu	Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe		
65						70						75				80	
Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr		
85						90						95					
Cys	Ala	Arg	Val	Gly	Gly	Ala	Gly	Gly	Trp	Pro	Leu	Asp	Val	Trp	Gly		
100						105						110					
Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser		
115						120						125					
Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala		
130						135						140					
Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val		
145						150						155				160	
Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala		
165						170						175					
Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val		
180						185						190					
Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His		
195						200						205					
Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly		
210						215						220					
Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser		
225						230						235				240	

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

450	455	460
Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp		
465	470	475 480
Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln		
485	490	495
Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe		
500	505	510
Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu		
515	520	525
Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu		
530	535	540
Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys		
545	550	555 560
Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu		
565	570	575
Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg		
580	585	590
Asp Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser		
595	600	605
Leu Arg Ser Lys Glu		
610		
<210> 78		
<211> 566		
<212> PRT		
<213> Nhân tạo		
<220>		
<223> OPG-Fc (IgG2) IFN		
<400> 78		
Glu Thr Phe Pro Pro Lys Tyr Leu His Tyr Asp Glu Glu Thr Ser His		

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

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 225 230 235 240

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
 245 250 255

Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 260 265 270

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 275 280 285

Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 290 295 300

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 305 310 315 320

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 325 330 335

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
 340 345 350

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 355 360 365

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 370 375 380

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 385 390 395 400

Lys Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu
 405 410 415

Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys
 420 425 430

Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe
 435 440 445

Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile
 450 455 460

Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr
 465 470 475 480

Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu
 485 490 495

Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met
 500 505 510

Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr
 515 520 525

Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val
 530 535 540

Arg Asp Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu
 545 550 555 560

Ser Leu Arg Ser Lys Glu
 565

<210> 79

<211> 614

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> IgG4 kháng CD138 IFN

<400> 79

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

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

Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Glu Ile Leu Pro Gly Thr Gly Arg Thr Ile Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Ile Ser Ser Asn Thr Val Gln
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Asp Tyr Tyr Gly Asn Phe Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
 210 215 220
 Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys
 465 470 475 480
 Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe
 485 490 495
 Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile
 500 505 510
 Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr
 515 520 525
 Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu
 530 535 540
 Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met
 545 550 555 560
 Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr
 565 570 575
 Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val
 580 585 590
 Arg Asp Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu
 595 600 605
 Ser Leu Arg Ser Lys Glu
 610
 <210> 80
 <211> 612
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo
 <220>
 <223> IgG4 kháng HLA IFN
 <400> 80
 Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln
 1 5 10 15

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

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

435		440		445
Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu				
450		455		460
Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg				
465		470		475 480
His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys				
	485		490	495
Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn				
	500		505	510
Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu				
	515		520	525
Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala				
	530		535	540
Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu				
545		550		555 560
Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr				
	565		570	575
Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp				
	580		585	590
Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu				
	595		600	605
Arg Ser Lys Glu				
610				

<210> 81
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo
 <220>

<223> Chuỗi nhẹ A10.21 và A10.43

<400> 81

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

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

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Asn Thr His Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 82

<211> 214

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nhẹ R10A2

<400> 82

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

Glu	Arg	Val	Thr	Met	Asn	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asn	Val	Asp	Ser	Asp
			20					25					30		

Val	Asp	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Thr	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
	35						40					45			

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

Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Phe	Thr	Ile	Ser	Asn	Met	Gln	Ala
65					70					75				80	

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

Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
			100					105					110		

Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
						115		120					125		

Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
						130		135			140				

Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
145					150					155					160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 83

<211> 614

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> A10.21 IgG1 IFN

<400> 83

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr
 450 455 460
 Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu
 465 470 475 480
 Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln
 485 490 495
 Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln
 500 505 510
 Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu
 515 520 525
 Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp

530 535 540
 Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Glu Thr Pro Leu Met
 545 550 555 560
 Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr
 565 570 575
 Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val
 580 585 590
 Arg Asp Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu
 595 600 605
 Ser Leu Arg Ser Lys Glu
 610

 <210> 84
 <211> 222
 <212> PRT
 <213> Nhân tạo
 <220>
 <223> Chuỗi nhẹ A02.12 lamda
 <400> 84
 Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly Glu
 1 5 10 15

 Ser Ala Arg Leu Thr Cys Thr Leu Pro Ser Asp Ile Asn Val Arg Tyr
 20 25 30

 Tyr Asn Ile Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Pro Pro Arg Tyr
 35 40 45

 Leu Leu Tyr Tyr Tyr Ser Asp Ser His Lys Gly Gln Gly Ser Gly Val
 50 55 60

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

 Leu Leu Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys

	85		90		95
Met Thr Trp Ser Ser Asn Gly Ser Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln					
	100		105		110
Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe					
	115		120		125
Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys					
	130		135		140
Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala					
145		150		155	160
Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys					
	165		170		175
Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro					
	180		185		190
Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu					
	195		200		205
Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser					
	210		215		220
<210> 85					
<211> 214					
<212> PRT					
<213> Nhân tạo					
<220>					
<223> Chuỗi nhẹ kháng CD138					
<400> 85					
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly					
1	5		10		15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Asn Asn Tyr					
	20		25		30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Glu Leu Leu Ile					

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

<210> 86

<211> 215

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nhẹ kháng HLA

<400> 86

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

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

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

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

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Thr Val Gln Ala
65 70 75 80

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

Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Arg Arg Thr Val Ala
100 105 110

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

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

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

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

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 87

<211> 612

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)

<400> 87

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140

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

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

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

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

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

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

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

Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu
 450 455 460

Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg
 465 470 475 480

His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys
 485 490 495

Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn
 500 505 510

Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
 515 520 525

Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala
 530 535 540

Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu
 545 550 555 560

Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
 565 570 575

Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp

580

585

590

Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu

595

600

605

Arg Ser Lys Glu

610

<210> 88

<211> 495

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> IFN alpha-2-beta

<400> 88

tgtgatctgc	ctcaaacc	cagcctgg	agcaggag	ccttgatg	cctggcac	60
atgaggagaa	tctctctttt	ctcctgcttg	aaggacagac	atgactttgg	atttccccag	120
gaggagtttg	gcaaccagtt	ccaaaaggct	gaaaccatcc	ctgtcctcca	tgagatgac	180
cagcagatct	tcaatctctt	cagcacaaag	gactcatctg	ctgcttgggg	tgagaccctc	240
ctagacaaat	tctacactga	actctaccag	cagctgaatg	acctggaagc	ctgtgtgata	300
caggggggtg	gggtgacaga	gactcccctg	atgaaggagg	actccattct	ggctgtgagg	360
aaatacttcc	aaagaatcac	tctctatctg	aaagagaaga	aatacagccc	ttgtgcctgg	420
gaggttgtca	gagcagaaat	catgagatct	ttttctttgt	caacaaactt	gcaagaaagt	480
ttaagaagta	aggaa					495

<210> 89

<211> 1341

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Polynucleotide of 10.21 as an IgG2 kết hợp với S228P

<400> 89

gaagtgcagc	tggtgcagtc	tggcgccgaa	gtgaagaaac	ccggcgctac	cgtgaagatc	60
tcttgcaagg	tgtccggcta	caccttcacc	gactccgtga	tgaactgggt	gcagcaggcc	120
cctggcaagg	gcctggaatg	gatgggctgg	atcgaccccc	agtacggcag	aaccgacgtg	180
gccgagaagt	tccagggcag	agtgaccatc	accgccgaca	cctccaccga	caccgcctac	240
atggaactgt	cctccctgcg	gagcgaggac	accgccgtgt	actactgcgc	ccggaccaag	300
tacaactccg	gctacggctt	cccctactgg	ggccagggca	ccaccgtgac	cgtgtcctcc	360
gcctccacca	agggcccctc	cgtgttccct	ctggccccctt	gctcccgggtc	cacctccgag	420
tctaccgccc	ctctgggctg	cctgggtcaag	gactacttcc	ccgagcctgt	gacagtgtcc	480

tggaactctg	gcgccctgac	ctccggcgctg	cacaccttcc	ctgccgtgct	gcagtcctcc	540
ggcctgtact	ccctgtcctc	cgtcgtgacc	gtgccttcca	gctccctggg	caccaagacc	600
tacacctgta	acgtggacca	caagccctcc	aacaccaagg	tggacaagcg	ggtggaatct	660
aagtacggcc	ctccctgccc	cccctgccct	gcccctgaat	ttctgggcgg	accttccgtg	720
ttcctgttcc	ccccaaagcc	caaggacacc	ctgatgatct	cccggacccc	cgaagtgacc	780
tgcgtggtgg	tggacgtgtc	ccaagaggac	cccagaggtg	agttcaattg	gtacgtggac	840
ggcgtggaag	tgcacaacgc	caagaccaag	cccagagagg	aacagttcaa	ctccacctac	900
cgggtggtgt	ccgtgctgac	cgtgctgcac	caggactggc	tgaacggcaa	agaatacaag	960
tgcaaagtct	ccaacaaggg	cctgccctcc	agcatcgaaa	agaccatctc	caaggccaag	1020
ggacagcccc	gcgagcccca	ggtgtacacc	ctgcccccta	gccaagagga	aatgaccaag	1080
aaccaggtgt	ccctgacctg	cctcgtgaag	ggcttctacc	cctccgatat	cgccgtggaa	1140
tgggagtcca	acggccagcc	cgagaacaac	tacaagacca	ccccccctgt	gctggactcc	1200
gacggctcct	tcttctgtga	ctctcggctg	accgtggaca	agtcccgggtg	gcaagagggc	1260
aacgtgttct	cctgctccgt	gatgcacgag	gccctgcaca	accactacac	ccagaagtcc	1320
ctgtccctga	gcctgggcaa	g				1341

<210> 90

<211> 1341

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polynucleotit 10.43 dưới dạng IgG4 kết hợp với S228P

<400> 90

caggtgcagc	tgggtgcagtc	tggcgccgaa	gtgaagaaac	ctggcgccctc	cgtgaagggtg	60
tcctgcaagg	tgtccggcta	caccctgacc	gactccgtga	tgaactgggt	ccgacaggcc	120
cctggcaagg	gcctggaatg	gatgggctgg	atcgaccccg	agtacggcag	aaccgacgtg	180
gccagaaaat	tccagggcag	agtgaccatg	accgccgaca	cctccaccga	caccgcctac	240
atggaactgt	cctccctgcg	gagcgaggac	accgccgtgt	actactgcgc	ccggaccaag	300
tacaactccg	gctacggctt	cccctactgg	ggccaggggca	ccaccgtgac	cgtgtcctct	360
gcttccacca	agggccccctc	cgtgttccct	ctggccccctt	gctcccggtc	cacctccgag	420
tctaccgccg	ctctgggctg	cctgggtcaag	gactacttcc	ccgagcctgt	gacagtgtcc	480
tggaactctg	gcgccctgac	ctccggcgctg	cacaccttcc	ctgccgtgct	gcagtcctcc	540
ggcctgtact	ccctgtcctc	cgtcgtgacc	gtgccttcca	gctccctggg	caccaagacc	600
tacacctgta	acgtggacca	caagccctcc	aacaccaagg	tggacaagcg	ggtggaatct	660
aagtacggcc	ctccctgccc	cccctgccct	gcccctgaat	ttctgggcgg	accttccgtg	720
ttcctgttcc	ccccaaagcc	caaggacacc	ctgatgatct	cccggacccc	cgaagtgacc	780
tgcgtggtgg	tggacgtgtc	ccaagaggac	cccagaggtg	agttcaattg	gtacgtggac	840
ggcgtggaag	tgcacaacgc	caagaccaag	cccagagagg	aacagttcaa	ctccacctac	900
cgggtggtgt	ccgtgctgac	cgtgctgcac	caggactggc	tgaacggcaa	agaatacaag	960
tgcaaagtct	ccaacaaggg	cctgccctcc	agcatcgaaa	agaccatctc	caaggccaag	1020

```

ggacagcccc gcgagcccca ggtgtacacc ctgcccccta gccaaagagga aatgaccaag      1080
aaccaggtgt ccctgacctg cctcgtgaag ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa      1140
tgggagtcca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggactcc      1200
gacggctcct tcttctgtga ctctcggctg accgtggaca agtccccgtg gcaagagggc      1260
aacgtgttct cctgctccgt gatgcacgag gcctgcaca accactacac ccagaagtcc      1320
ctgtccctga gcctgggcaa g                                     1341

```

<210> 91

<211> 1344

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Polynucleotide of 2.12 formatted an an IgG4 kết hợp với S228P

<400> 91

```

cagctgcagc tgcaggaatc tggccctggc ctcgtgaagc ccagcgagac actgagcctg      60
acctgtaccg tgtccggcgg cagcatcagc agcagctcct actactggtc ctggatcaga      120
cagcaccctg gcaagggcct ggaatggatc ggctacatct actacagcgg cagcaccaac      180
tacaacccca gcctgaagtc cagagtgacc atcagcgtgg acaccagcaa gaaccagttc      240
tcctgaagc tgagcagcgt gacagccgcc gataccgccg tgtactactg tgccagagtg      300
ggcggagctg gcggctggcc tctggatgtg tggggacagg gcaccaccgt gacagtgtcc      360
tcagctagca ccaagggccc cagcgtgttc cctctggccc cttgtagcag aagcaccagc      420
gagtctacag ccgccctggg ctgcctcgtg aaggactact ttcccagacc cgtcaccgtg      480
tcttggaaact ctggcgtctt gacaagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc      540
agcggcctgt actctctgag cagcgtcgtg accgtgcccc gctctagcct gggcaccaag      600
acctacacct gtaacgtgga ccacaagccc agcaaacacca aggtggacaa gcgggtggaa      660
tctaagtagc gccctccctg cctccttgc ccagccctg aatttctggg cggaccctcc      720
gtgttctctg tcccccaaaa gcccaaggac accctgatga tcagccggac cccgaagtg      780
acctgcgtgg tgggtggatgt gtcccaggaa gatcccgagg tgcagttcaa ttggtacgtg      840
gacggcgtgg aagtgcacaa cgccaagacc aagcccagag aggaacagtt caacagcacc      900
taccgggtgg tgtccgtgct gacagtgtct caccaggact ggctgaacgg caaagagtac      960
aagtgcaagg tgtccaacaa gggcctgcct agcagcatcg agaaaaccat cagcaaggcc      1020
aagggccagc ccgcggaacc tcaggtgtac aactgcccc ctagccagga agagatgacc      1080
aagaaccagg tgtccctgac ctgtctcgtg aaaggcttct acccctccga tatcgccgtg      1140
gaatgggaga gcaacggcca gcccgagaac aactacaaga ccaccccccc tgtgctggac      1200
agcgacggct cattcttctt gtacagcaga ctgaccgtgg acaagagccg gtggcaggaa      1260
ggcaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac gaggccttgc acaaccacta caccagaag      1320
tcctgtccc tgtctctggg caag                                     1344

```

<210> 92

<211> 1341

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Polynucleotide of R10A2 được định dạng dưới dạng IgG4 kết hợp với S228P

<400> 92

gaagtccagc tgcagcagtc tggccccgaa gtgggcagac ctggctcctc cgtgaagatc	60
tcttgcaagg cctccggcta caccttcacc gactccgtga tgaactgggt caagcagtct	120
cccggccagg gcttggaaatg gatcggatgg atcgaccccg agtacggcag aaccgacgtg	180
gccgagaagt tcaagaagaa ggccaccctg accgccgact cctccagctc caccgcctac	240
atctacctgt ccggcctgac ctccgaggac accgccacct acttttgctc ccggaccaag	300
tacaacagcg gctacggctt cccctactgg ggacagggct ctctcgtgac agtgtcctca	360
gcctccacca agggccctc cgtgttcctt ctggccctt gctcccggtc cacctccgag	420
tctaccgccg ctctgggctg cctgggtgaa gactacttcc ccgagcctgt gaccgtgagc	480
tggaaactctg gcgcctgac ctccggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc	540
ggcctgtact cctgtctctc cgtgggtgaca gtgccctcct ccagcctggg caccaagacc	600
tacacctgta acgtggacca caagccctcc aacaccaagg tggacaagcg ggtggaatct	660
aagtacggcc ctccctgccc cccctgccct gccctgaat ttctgggcgg accttccgtg	720
tttctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatct cccggacccc cgaagtgacc	780
tgcgtgggtg tggacgtgtc ccaggaagat ccagagggtc agttcaattg gtacgtggac	840
ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cccagagagg aacagttcaa ctccacctac	900
cgggtgggtg ccgtgctgac cgtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agagtacaag	960
tgcaagggtg ccaacaaggg cctgccctcc agcatcgaaa agaccatctc caaggccaag	1020
ggccagcccc gcgagcccca ggtgtacacc ctgcccccta gccaggaaga gatgaccaag	1080
aaccagggtg ccctgacctg tctgggtgaaa ggcttctacc cctccgacat tgccgtggaa	1140
tgggagtcca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggactcc	1200
gacggctcct tcttctctgta ctctcggctg acagtggata agtcccgggtg gcaggaaggc	1260
aacgtgttct cctgcagcgt gatgcacgag gccctgcaca accactatac ccagaagtcc	1320
ctgtccctga gcctgggcaa g	1341

<210> 93

<211> 642

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polynucleotit của R10A2 VK

<400> 93

gacatcgtga tgacccagag ccccacctcc atctccatca gcgtggggcga gcgcgtgacc	60
atgaactgca aggcctccca gaacgtggac agcgacgtgg actggtatca gcagaaaacc	120
ggccagtgccc ccaagctgct gatctacaag gccagcaaca gatacaccgg cgtgcccgac	180

```

aggttcaccg gctctggctc tggaaccgac ttcaccttca ccatcagcaa catgcaggcc 240
gaggatctgg ccgtgtacta ctgtatgcag tccaacaccc acccccggac cttcggcgga 300
ggcaccaaac tggaactgaa gcggaccgtg gccgctccca gcgtgttcat cttccccccc 360
agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtct gcctgctgaa caacttctac 420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtctgg caacagccag 480
gaaagcgtca ccgagcagga cagcaaggat agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtcac ccaccagggc 600
ctgtctagcc ccgtcaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

```

<210> 94

<211> 642

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polynucleotit của VK được sử dụng để tạo ra kháng thể 10.21 và kháng thể 10.43

<400> 94

```

gacatccaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgctt ccgtgggcga cagagtgacc 60
atcacatgca aggcctccca gaacgtggac tccgacgtgg actggatatca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ccaagctgct gatctacaag gcctccaacg actacaccgg cgtgccctcc 180
agattctccg gctccggctc tggaaccgac ttcaccttca ccatctccag cctgcagccc 240
gaggatatcg ccacctacta ctgcatgcag agcaacaccc acccccggac cttcggcgga 300
ggcaccaaag tggaatatca gcggaccgtg gccgctccct ccgtgttcat cttcccaccc 360
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac 420
ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg caactcccaa 480
gagtcctgta ccgagcagga ctccaaggac agcacctact ccctgtcctc caccctgacc 540
ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgc ccaccagggc 600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gtccttcaac cggggcgagt gc 642

```

<210> 95

<211> 1341

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polynucleotit của 10.152 được định dạng dưới dạng IgG4 kết hợp với S228P

<400> 95

```

gaagtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ccggcgctac cgtgaagatc 60
tcctgcaagg tgtccggcta caccttcacc gactccgtga tgaactgggt gcagcagcat 120
cccggcaagg gcctggaatg gatgggctgg atcgaccccg agtacggcag aaccgacgtg 180

```

gccgagaagt	tccagggcag	agtgaccatc	accgccgaca	cctccaccga	caccgcctac	240
atggaactgt	cctccctgcg	gagcgaggac	accgccgtgt	actactgcgc	ccggaccaag	300
tacaactccg	gctacggctt	cccctactgg	ggccaggggca	ccaccgtgac	cgtgtcctct	360
gcctccacca	agggcccctc	cgtgttcctt	ctggccccctt	gctcccggtc	cacctccgag	420
tctaccgccg	ctctggggctg	cctgggtcaag	gactacttcc	ccgagcctgt	gacagtgtcc	480
tggaaactctg	gcgccctgac	ctccggcgctg	cacaccttcc	ctgccgtgct	gcagtccctc	540
ggcctgtact	ccctgtcctc	cgtcgtgacc	gtgccttcca	gctccctggg	caccaagacc	600
tacacctgta	acgtggacca	caagccctcc	aacaccaagg	tggacaagcg	ggtggaatct	660
aagtacggcc	ctccctgccc	cccctgccct	gcccctgaat	ttctggggcg	accttccgtg	720
ttcctgttcc	ccccaaagcc	caaggacacc	ctgatgatct	cccggacccc	cgaagtgacc	780
tgcgtggtgg	tggacgtgtc	ccaagaggac	cccgaggtgc	agttcaattg	gtacgtggac	840
ggcgtggaag	tgcacaacgc	caagaccaag	cccagagagg	aacagttcaa	ctccacctac	900
cgggtggtgt	ccgtgctgac	cgtgctgcac	caggactggc	tgaacggcaa	agaatacaag	960
tgcaaagtct	ccaacaaggg	cctgccctcc	agcatcgaaa	agaccatctc	caaggccaag	1020
ggacagcccc	gcgagcccca	ggtgtacacc	ctgcccccta	gccaaagagga	aatgaccaag	1080
aaccaggtgt	ccctgacctg	cctcgtgaag	ggcttctacc	cctccgatat	cgccgtggaa	1140
tgggagtcca	acggccagcc	cgagaacaac	tacaagacca	ccccccctgt	gctggactcc	1200
gacggctcct	tcttcctgta	ctctcggctg	accgtggaca	agtcccggtg	gcaagagggc	1260
aacgtgttct	cctgctccgt	gatgcacgag	gccctgcaca	accactacac	ccagaagtcc	1320
ctgtccctga	gcctggggcaa	g				1341

<210> 96

<211> 214

<212> PRT

<213> Nhân tao

 $\langle 220 \rangle$

<223> Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ 10.152

<400> 96

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 97

<211> 642

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polynucleotit của chuỗi nhẹ 10.152

<400> 97

gacatccaga tgactcagag cccgtcctcg ctttcggctt ccgtcggcga ccgcgtgacc	60
atcacttgtc aggcgtcgca gaacgtcgat tccgacgtgg actggtacca acagaagccg	120
gggaaagcgc ccaagctgct gatctacaag gcctccaatg attacactgg agtgcctagc	180

cggttcagcg gatcagggtc gggaacggac ttcactttta ccatctcaag cctccaacca	240
gaagatattg ccacctatta ctgcgacaaa tcaaacaccc acccgagaac cttcggcgga	300
ggaaccaagg tggagatcaa acgtacgggtg gcggcgccca gcgtgttcat cttcccaccc	360
agcgacgagc agctgaagtc cggcacagcc agcgtgggtg gcctgctgaa caacttctac	420
ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag	480
gaaagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc	540
ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc	600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc	642

<210> 98

<211> 666

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polynucleotit của chuỗi nhẹ 2.12

<400> 98

caggccgtgc tgaccagcc tgcctccctg tctgcctctc ctggcgagtc cgccagactg	60
acctgcaccc tgccctccga catcaacgtg cgggtactaca acatctactg gtatcagcag	120
aagcccggca gcccccccag atacctgctg tactactact ccgactccca caagggccag	180
ggctccggcg tgccctccag attctccggc tccaaggacg tgtccaccaa ctccggcatc	240
ctgctgatct ccggcctgca gtccgaggac attgccacct actactgcat gacttggagc	300
agcaacggca gcggcgtggt cggcggaggc acccagctga ccgtcctagg tcagcccaag	360
gccgctccca gcgtgaccct gttcccccca agcagcgagg aactgcaggc caacaaggcc	420
accctgggtg gcctgatcag cgacttctac cctgggggccg tgaccgtggc ctggaaggcc	480
gatagcagcc ctgtgaaggc cggcgtggaa accaccaccc cctccaagca gagcaacaac	540
aaatacgccg ccagcagcta cctgtccctg acccccagagc agtggaagtc ccaccggtcc	600
tacagctgcc aggtgacaca cgagggcagc accgtggaaa agaccgtggc cccaccgag	660
tgcagc	666

<210> 99

<211> 642

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polynucleotit của chuỗi nhẹ kháng kappa CD138

<400> 99

gacatccaga tgaccagag cacatcctct ctgagcgctt ccctgggcga tcgcgtgact	60
atcagttgca gcgcttccca agggattaac aattacctca actggtacca gcagaagccc	120
gacggaaccg tcgagctgct catctattac acatctacgc tgcaaagcgg cgtgccttcc	180
aggttctcag ggagcggttc cggaactgat tactctctga ccattagcaa tctcgaacca	240

gaagacatcg	gcacatatta	ctgtcagcag	tactccaagc	tgccccggac	ttttggggga	300
ggcaccaaac	tggagatcaa	gcgtacggtg	gcggcgccca	gcgtgttcat	cttcccaccc	360
agcgacgagc	agctgaagtc	cggcacagcc	agcgtggtgt	gcctgctgaa	caacttctac	420
ccccgcgagg	ccaaggtgca	gtggaagggtg	gacaacgccc	tgcagagcgg	caacagccag	480
gaaagcgtga	ccgagcagga	cagcaaggac	tccacctaca	gcctgagcag	caccctgacc	540
ctgagcaagg	ccgactacga	gaagcacaag	gtgtacgcct	gcgaagtgac	ccaccagggc	600
ctgtccagcc	ccgtgaccaa	gagcttcaac	cggggcgaggt	gc		642

<210> 100

<211> 1347

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polynucleotit của IgG4 kháng CD138 (S228P)

<400> 100

cagggtgcagc	tccaacagag	cggctccgaa	ctgatgatgc	ctggggcctc	tgtcaagatt	60
tcttgcaaag	ctaccggcta	cacattcagc	aactattgga	ttgagtgggt	gaagcagcgc	120
ccagggcacg	gtctggagtg	gatcggagag	atcctgccag	gcaccgggag	gactatttac	180
aatgaaaagt	ttaaaggaaa	ggccacattc	accgcagaca	tctctagcaa	cactgttcaa	240
atgcagctct	cctctctgac	ctccgaggat	agcgccgtgt	attactgtgc	tcggagagac	300
tactatggca	atttttacta	tgctatggat	tactggggac	agggcacatc	tgtgaccgtc	360
agctccgcta	gcaccaaggg	ccccagcgtg	ttccccctgg	ccccttgtag	cagaagcacc	420
agcgagagca	cagccgccct	gggctgcctg	gtgaaagact	acttccccga	gcccgtcacc	480
gtgtcctgga	acagcggagc	cctgaccagc	ggcgtgcaca	cctttccagc	cgtgctgcag	540
agcagcggcc	tgtacagcct	gagcagcgtg	gtgacagtgc	cctccagcag	cctgggcacc	600
aagacctaca	cctgtaacgt	ggaccacaag	cccagcaaca	ccaaggtgga	caagcgggtg	660
gaatctaagt	acggcccacc	ctgccccccc	tgccctgccc	ctgaatttct	gggcggaccc	720
tccgtgttcc	tgttcccccc	aaagcccaag	gacaccctga	tgatcagccg	gacccccgaa	780
gtgacctgcy	tgggtggtgga	cgtgtcccag	gaagatcccg	aggtccagtt	caattggtac	840
gtggacggcg	tggaaagtga	caacgccaa	accaagccca	gagaggaaca	gttcaacagc	900
acctaccggg	tgggtgtccgt	gctgaccgtg	ctgcaccagg	actggctgaa	cggcaaagag	960
tacaagtga	aagtctccaa	caagggcctg	cccagctcca	tcgagaaaac	catcagcaag	1020
gccaagggcc	agccccgcga	gcctcaggtg	tacacactgc	ccccagcca	ggaagagatg	1080
accaagaacc	aggtgtccct	gacctgtctg	gtgaaaggct	tctaccccag	cgatatcgcc	1140
gtggaatggg	agagcaacgg	ccagcccag	aacaactaca	agaccacccc	ccctgtgctg	1200
gacagcgacg	gcagcttctt	cctgtactcc	cggctgaccg	tggacaagag	ccgggtggcag	1260
gaaggcaacg	tcttcagctg	cagcgtgatg	cacgaggccc	tgcaacaaca	ctacaccag	1320
aagtccctga	gcctgagcct	gggcaag				1347

<210> 101

<211> 1341

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polynucleotit của IgG4 kháng HLA (S228P)

<400> 101

caggtccaac	tcaagcagtc	cgggtccgggg	ctgggtccagc	catctcaatc	actgtctctt	60
acttgcaccg	tgtccggatt	cagcctgacc	tcatacggag	tgcattgggt	gcggcagcct	120
cccgggaaag	gactggagtg	gctcggagtc	atttgggtccg	gtggatcaac	tgactacaat	180
gccgctttca	tcagcaggct	gagcattcgg	aaggacaact	ctaagagcca	agtgttcttc	240
aagatgaact	cactccaggc	cgatgacacc	gccatctact	attgtgccag	aaccttcacc	300
accagcacct	ctgcatgggt	tgcatactgg	ggccagggca	ctcttgtgac	cgtgtcagct	360
gctagcacca	agggccccag	cgtgttcccc	ctggccccctt	gtagcagaag	caccagcgag	420
agcacagccg	cctggggctg	cctgggtgaaa	gactacttcc	ccgagcccgt	caccgtgtcc	480
tggaaacagcg	gagccctgac	cagcggcggtg	cacacctttc	cagccgtgct	gcagagcagc	540
ggcctgtaca	gcctgagcag	cgtgggtgaca	gtgccctcca	gcagcctggg	caccaagacc	600
tacacctgta	acgtggacca	caagcccagc	aacaccaagg	tggacaagcg	ggtggaatct	660
aagtacggcc	cacctgccc	cccctgccct	gcccctgaat	ttctgggctg	accctccgtg	720
ttcctgttcc	ccccaaagcc	caaggacacc	ctgatgatca	gccggacccc	cgaagtgacc	780
tgcgtgggtg	tggacgtgtc	ccaggaagat	cccagaggtcc	agttcaattg	gtacgtggac	840
ggcgtggaag	tgcacaacgc	caagaccaag	cccagagagg	aacagttcaa	cagcacctac	900
cgggtgggtg	ccgtgctgac	cgtgctgcac	caggactggc	tgaacggcaa	agagtacaag	960
tgcaaagtct	ccaacaagg	cctgcccagc	tccatcgaga	aaaccatcag	caaggccaag	1020
ggccagcccc	gcgagcctca	ggtgtacaca	ctgcccccca	gccaggaaga	gatgaccaag	1080
aaccaggtgt	ccctgacctg	tctgggtgaaa	ggcttctacc	ccagcgatat	cgccgtggaa	1140
tgggagagca	acggccagcc	cgagaacaac	tacaagacca	ccccccctgt	gctggacagc	1200
gacggcagct	tcttctctgta	ctcccggctg	accgtggaca	agagccgggtg	gcaggaaggc	1260
aacgtcttca	gctgcagcgt	gatgcacgag	gccctgcaca	accactacac	ccagaagtcc	1320
ctgagcctga	gcctggggcaa	g				1341

<210> 102

<211> 645

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polynucleotit của VK kháng HLA

<400> 102

tctatcgtca	tgaccagac	cccgaagttc	ctcctgggtgt	cagctgggtga	tcgggtgacc	60
atcacttgta	aggcctctca	gtctgtctca	aacgacgtcg	catggtagca	acaaaagcct	120
gggcagtcac	ctaagcttct	gatctactat	gcttccaatc	gctacaccgg	cgtgccccgac	180

aggttcaccg gatcagggta cggaaccgac ttcaccttta ctatttccac cgtgcaggcc	240
gaggacctcg ccgtgtatth ctgccagcaa gattacagca gccaccctg gactttcggg	300
ggaggaacta aactggaaat tagacgtacg gtggcgggcg ccagcgtgtt catcttccca	360
cccagcgacg agcagctgaa gtccggcaca gccagcgtgg tgtgcctgct gaacaacttc	420
tacccccgcg aggccaaggt gcagtggaa gtggacaacg ccctgcagag cggcaacagc	480
caggaaagcg tgaccgagca ggacagcaag gactccacct acagcctgag cagcaccctg	540
accctgagca aggccgacta cgagaagcac aagggtgtacg cctgcgaagt gaccaccag	600
ggcctgtcca gccccgtgac caagagcttc aaccggggcg agtgc	645

<210> 103

<211> 1203

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polynucleotit của OPG-Fc

<400> 103

gaaacctttc cgccgaaata tctgcattat gatgaagaaa ccagccatca gctgctgtgc	60
gataaatgcc cgccgggcac ctatctgaaa cagcattgca ccgcgaaatg gaaaaccgtg	120
tgcgcgccgt gcccgatca ttattatacc gatagctggc ataccagcga tgaatgcctg	180
tattgcagcc cgggtgtgcaa agaactgcag tatgtgaaac aggaatgcaa ccgcacccat	240
aaccgcgtgt gcgaatgcaa agaaggccgc tatctggaag gcgaattttg cctgaaacat	300
cgagctgcc cgccgggctt tggcgtggtg caggcgggca ccccggaacg caacaccgtg	360
tgcaaacgct gcccgatgg ctttttttagc aacgaaacca gcagcaaagc gccgtgccgc	420
aaacatacca actgcagcgt gtttggcctg ctgctgaccc agaaaggcaa cgcgacccat	480
gataacatth gcagcggcaa cagcgaaagc acccagaaag aacgcaaag ctgctggaa	540
tgcccgccgt gcccggcgc gccgggtggcg ggcccgagcg tgtttctgtt tccgccgaaa	600
ccgaaagata ccctgatgat tagccgcacc ccggaagtga cctgcgtggt ggtggatgtg	660
agccatgaag atccggaagt gcagtttaac tggatatgtg atggcgtgga agtgcataac	720
gcgaaaacca aaccgcgcga agaacagtht aacagcacct ttcgcgtggt gagcgtgctg	780
accgtggtgc atcaggattg gctgaacggc aaagaatata aatgcaaagt gagcaacaaa	840
ggcctgccgg cgccgattga aaaaaccatt agcaaaaacca aaggccagcc gcgcgaaccg	900
caggtgtata ccctgccgc gagccgcgaa gaaatgacca aaaaccaggt gagcctgacc	960
tgctggtga aaggcttht tccgagcgat attgcgtgg aatgggaaag caacggccag	1020
ccggaaaaca actataaac caccgcccg atgctggata gcgatggcag cttttttctg	1080
tatagcaaac tgaccgtgga taaaagccgc tggcagcagg gcaacgtgt tagctgcagc	1140
gtgatgcatg aagcgtgca taaccattat acccagaaaa gcctgagcct gagcccgggc	1200
aaa	1203

<210> 104

<211> 1350

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polynucleotit của 10.21 được định dạng dưới dạng IgG1

<400> 104

gaagtgcagc	tggtgcagtc	tggtgcagtc	gtgaagaaac	ctggcgccac	cgtgaagatc	60
agctgcaagg	tgtccggcta	caccttcacc	gacagcgtga	tgaactgggt	gcagcaggcc	120
cctggcaagg	gcctggaatg	gatgggatgg	atcgaccccg	agtacggcag	aaccgacgtg	180
gccgagaagt	tccagggcag	agtgaccatc	accgccgaca	ccagcaccga	caccgcctac	240
atggaactga	gcagcctgcg	gagcgaggac	accgccgtgt	actactgtgc	ccggaccaag	300
tacaacagcg	gctacggctt	cccctactgg	ggccagggca	caaccgtgac	agtgtcctca	360
gctagcacca	agggacccag	cgtgttccct	ctggccccta	gcagcaagag	cacatctggc	420
ggaacagccg	ccctgggctg	cctcgtgaag	gactactttc	ccgagcctgt	caccgtgtct	480
tggaactctg	gcgccctgac	aagcggcggtg	cacacctttc	cagccgtgct	gcagagcagc	540
ggcctgtact	ctctgagcag	cgtcgtgaca	gtgccagct	ctagcctggg	caccagacc	600
tacatctgca	acgtgaacca	caagcccagc	aacaccaagg	tggacaagaa	ggtggaaccc	660
aagagctgcg	acaagaccca	cacctgtccc	ccttgtcctg	ccccgaact	gctgggaggg	720
ccttcctgtg	tctgttccc	cccaaagccc	aaggacaccc	tgatgatcag	ccggaccccc	780
gaagtgcact	gcgtgggtgg	ggatgtgtcc	cacgaggacc	ctgaagtgaa	gttcaattgg	840
tacgtggacg	gcgtggaagt	gcacaacgcc	aagaccaagc	ccagagagga	acagtacaac	900
agcacctacc	gggtgggtgc	cgtgctgaca	gtgctgcacc	aggactggct	gaacggcaaa	960
gagtacaagt	gcaaggtgtc	caacaaggcc	ctgcctgccc	ccatcgagaa	aaccatcagc	1020
aaggccaagg	gccagccccg	cgaaccccag	gtgtacacac	tgcccccaag	cagggacgag	1080
ctgaccaaga	accaggtgtc	cctgacctgt	ctcgtgaaag	gcttctaccc	ctccgatatc	1140
gccgtggaat	gggagagcaa	cggccagccc	gagaacaact	acaagaccac	ccccctgtg	1200
ctggacagcg	acggctcatt	cttcctgtac	agcaagctga	ccgtggacaa	gtcccgggtg	1260
cagcagggca	acgtgttcag	ctgcagcgtg	atgcacgagg	ccctgcacaa	ccactacacc	1320
cagaagtccc	tgagcctgag	ccccggcaag				1350

<210> 105

<211> 1338

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polynucleotit của IgG2 10.21

<400> 105

gaagtgcagc	tggtgcagtc	tggtgcagtc	gtgaagaaac	ctggcgccac	cgtgaagatc	60
agctgcaagg	tgtccggcta	caccttcacc	gacagcgtga	tgaactgggt	gcagcaggcc	120
cctggcaagg	gcctggaatg	gatgggatgg	atcgaccccg	agtacggcag	aaccgacgtg	180
gccgagaagt	tccagggcag	agtgaccatc	accgccgaca	ccagcaccga	caccgcctac	240

atggaactga	gcagcctgcg	gagcgaggac	accgccgtgt	actactgtgc	ccggaccaag	300
tacaacagcg	gctacggctt	cccctactgg	ggccagggca	caaccgtgac	agtgtcctca	360
gccagcacca	agggccccag	cgtgttcccc	ctggccccct	gcagcagaag	caccagcgag	420
agcacagccg	ccctgggctg	cctgggtgaag	gactacttcc	ccgagcccgt	gacagtgagc	480
tggaacagcg	gagccctgac	ctccggtgta	cacaccttcc	ccgccgtgct	gcagagcagc	540
ggcctgtact	ccctgagcag	cgtgggtgacc	gtgcccagca	gcaacttcgg	caccagacc	600
tacacctgca	acgtggacca	caagcccagc	aacaccaagg	tggacaagac	cgtggagagg	660
aagtgtgcg	tggagtggcc	cccctgccc	gcccccccag	tggccggacc	ctccgtgttt	720
ctgttcccc	ccaagcccaa	ggacaccctg	atgatcagca	ggacccccga	ggtgacctgc	780
gtggtggtgg	acgtgagcca	cgaggatccg	gaggtgcagt	tcaactggta	cgtggacggc	840
gtggaggtgc	acaacgccaa	gaccaagccc	agagaggagc	agtttaacag	caccttcagg	900
gtggtgtccg	tgtgtaccgt	ggtgcaccag	gactggctga	acggcaagga	atacaagtgc	960
aaggtctcca	acaagggcct	gccagcccc	atcgagaaaa	ccatcagcaa	gaccaagggc	1020
cagccacggg	agccccaa	gtataccctg	ccccccagcc	gggaggagat	gaccaagaac	1080
caggtgtccc	tgacctgtct	ggtgaagggc	ttctacccca	gcgacatcgc	cgtggagtgg	1140
gagagcaacg	gccagcccga	gaacaactac	aagaccaccc	cccccatgct	ggacagcgac	1200
ggcagcttct	tcctgtactc	caagctgaca	gtggacaagt	ccaggtggca	gcagggcaac	1260
gtgttcagct	gcagcgtgat	gcacgaggcc	ctgcacaacc	actacacca	gaagagcctg	1320
agcctgtccc	ccggcaag					1338

<210> 106

<211> 1491

<212> DNA

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự polynucleotit của IgG3 10.21

<400> 106

gaagtgcagc	tgggtgcagtc	tggcgccgaa	gtgaagaaac	ctggcgccac	cgtgaagatc	60
agctgcaagg	tgtccggcta	caccttcacc	gacagcgtga	tgaactgggt	gcagcaggcc	120
cctggcaagg	gcctggaatg	gatgggatgg	atcgacccc	agtacggcag	aaccgacgtg	180
gccgagaagt	tccagggcag	agtgaccatc	accgccgaca	ccagcaccga	caccgcctac	240
atggaactga	gcagcctgcg	gagcgaggac	accgccgtgt	actactgtgc	ccggaccaag	300
tacaacagcg	gctacggctt	cccctactgg	ggccagggca	caaccgtgac	agtgtcctca	360
gcgagcacca	aaggcccag	cgtgtttccg	ctggcgccgt	gcagccgcag	caccagcggc	420
ggcaccgcgg	cgctgggctg	cctgggtgaa	gattattttc	cggaaccggg	gaccgtgagc	480
tggaacagcg	gcgcgctgac	cagcggcgtg	catacctttc	cggcgggtgct	gcagagcagc	540
ggcctgtata	gcctgagcag	cgtgggtgacc	gtgccgagca	gcagcctggg	caccagacc	600
tatacctgca	acgtgaacca	taaaccgagc	aacaccaaag	tggataaacg	cgtggaactg	660
aaaaccccgc	tgggcgatac	caccataacc	tgcccgcgct	gcccggaacc	gaaaagctgc	720
gataccccgc	cgccgtgccc	gcgctgccc	gaaccgaaaa	gctgcgatac	cccgcgcggc	780

```

tgcccgcgct gcccggaacc gaaaagctgc gataccccgc cgccgtgccc gcgctgcccg      840
gcgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg tttctgtttc cgccgaaacc gaaagatacc      900
ctgatgatta gccgcacccc ggaagtgacc tgcgtggtgg tggatgtgag ccatgaagat      960
ccggaagtgc agtttaaatg gtatgtggat ggctggaag tgcataacgc gaaaaccaa      1020
ccgcgcgaag aacagtttaa cagcaccttt cgctggtga gcgtgctgac cgtgctgcat      1080
caggattggc tgaacggcaa agaataataa tgcaaagtga gcaacaaagc gctgccggcg      1140
ccgattgaaa aaaccattag caaaaccaa ggccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc      1200
ctgccgccga gccgcgaaga aatgaccaa aaccaggtga gcctgacctg cctggtgaaa      1260
ggctttttatc cgagcgatat tgcggtggaa tgggaaagca gcggccagcc ggaaaacaac      1320
tataacacca ccccgccgat gctggatagc gatggcagct tttttctgta tagcaaactg      1380
accgtggata aaagccgctg gcagcagggc aacattttta gctgcagcgt gatgcatgaa      1440
gcgctgcata accgctttac ccagaaaagc ctgagcctga gcccgggcaa a      1491

```

<210> 107

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được glycosyl hóa (T106T) của người chứa sự đột biến làm suy yếu A145X trong đó X có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ D, E, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, Y

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (145)..(145)

<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ D, E, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, Y

<400> 107

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1

5

10

15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20

25

30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35

40

45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50

55

60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Xaa Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 108

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được glycosyl hóa (T106T) của người chứa sự đột biến làm suy yếu R144X trong đó X có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ A, D, E, G, H, I, K, L, N, Q, S, T, V, Y

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (144)..(144)

<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ A, D, E, G, H, I, K, L, N, Q, S, T, V, Y

<400> 108

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20	25	30
Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln		
35	40	45
Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe		
50	55	60
Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu		
65	70	75
Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu		
85	90	95
Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys		
100	105	110
Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu		
115	120	125
Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Xaa		
130	135	140
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser		
145	150	155
Leu Arg Ser Lys Glu		
165		

<210> 109

<211> 165

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b được glycosyl hóa (T106T) của người chứa sự đột biến làm suy yếu R33X, trong đó X có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ K, A, Q

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (33)..(33)

<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ K, A, Q

<400> 109

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Xaa His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 110

<211> 164

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Interferon alpha-2-b của người chứa sự xóa bỏ axit amin ở vị trí 106 và chứa sự đột biến làm suy yếu A144X, trong đó X có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ D, E, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, Y

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (144)..(144)

<223> Xaa có thể là axit amin bất kỳ được chọn từ D, E, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, Y

<400> 110

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu
100 105 110

Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
115 120 125

Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Xaa
130 135 140

Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
145 150 155 160

Arg Ser Lys Glu

<210> 111

<211> 450

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VH 10.21 được định dạng dưới dạng IgG1 kết hợp với các sự
thế M255Y, S257T, T259E

<400> 111

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

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

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

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

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

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

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

Gly Lys
 450

<210> 112

<211> 446

<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VH 10.21 được định dạng lên khung IgG2 kết hợp với các sự
 thể A330S và P331S

<400> 112

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr

65					70						75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85					90					95		
Ala	Arg	Thr	Lys	Tyr	Asn	Ser	Gly	Tyr	Gly	Phe	Pro	Tyr	Trp	Gly	Gln	
			100					105					110			
Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	
		115					120					125				
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	
	130					135					140					
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	
145					150					155					160	
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	
			165					170					175			
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	
			180					185					190			
Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	
		195					200					205				
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	
		210				215					220					
Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	
225				230						235				240		
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	
				245					250					255		
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	
			260					265					270			
Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	
		275					280					285				

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445