(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) **1-0035102**

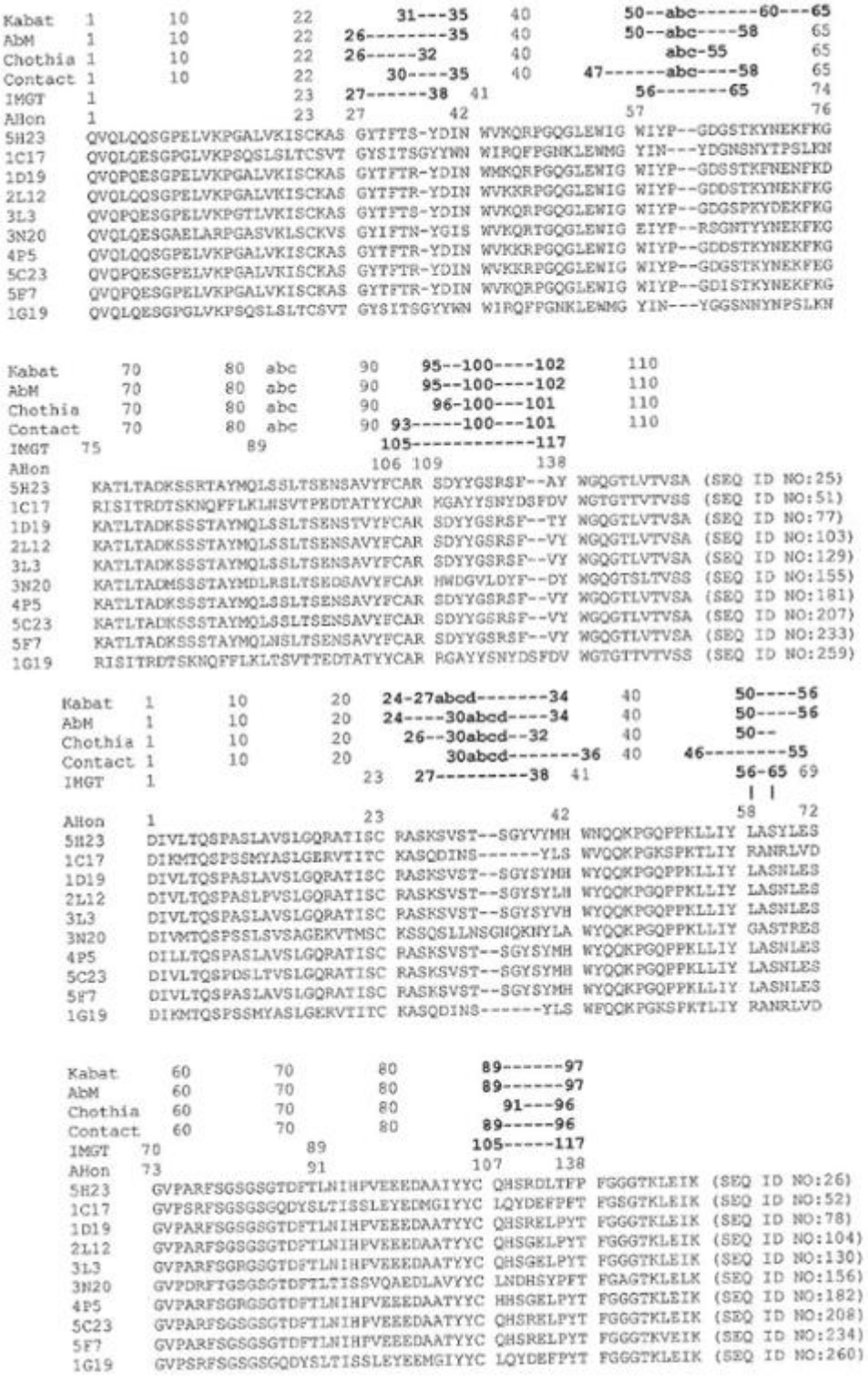
(51)[7] **G01N 33/53**; A61K 39/395; C12N 5/07; A61K 39/00; C07K 1/00

(13) **B**

(21) 1-2016-03062
(22) 23/01/2015
(86) PCT/US2015/012731 23/01/2015
(87) WO 2015/112886 30/07/2015
(30) 61/931,531 24/01/2014 US
(45) 27/03/2023 420
(43) 26/06/2017 351A
(73) NGM BIOPHARMACEUTICALS, INC. (US)
333 Oyster Point Boulevard, South San Francisco, CA 94080, United States of America
(72) MONDAL, Kalyani (US); LI, Betty, Chan (US); CHEN, Yu (US); ARORA, Taruna (US); MATERN, Hugo (US); SHEN, Wenyan (US).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) KHÁNG THỂ GẮN KẾT VỚI MIỀN BETA KLOTHO 2 (KLB2) VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chất gắn kết beta klotho, như kháng thể và mảnh kháng thể. Sáng chế cũng đề cập đến các chế phẩm chứa chất gắn kết beta klotho bao gồm động vật chuyển gen, tế bào lai, vectơ chứa polynucleotit mã hóa kháng thể beta klotho, và dược phẩm. Dược phẩm này có thể được sử dụng để điều trị bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh gây ra do hoặc liên quan đến beta klotho. Sáng chế còn đề cập đến các phương pháp in vitro tạo ra tín hiệu giống như FGF19 và/hoặc FGF21, hoạt hóa phức hợp beta klotho/thụ thể FGF; và phát hiện sự có mặt của beta klotho trong mẫu.


Kabat 1 10 22 31---35 40 50--abc------60---65
AbM 1 10 22 26--------35 40 50--abc----58 65
Chothia 1 10 22 26-----32 40 abc-55 65
Contact 1 10 22 30----35 40 47------abc----58 65
IMGT 1 23 27------38 41 56-------65 74
AHon 1 23 27 42 57 76
5H23 QVQLQQSGPELVKPGALVKISCKAS GYTFTS-YDIN WVKQRPGQGLEWIG WIYP--GDGSTKYNEKFKG
1C17 QVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVT GYSITSGYYWN WIRQFPGNKLEWMG YIN---YDGNSNYTPSLKN
1D19 QVQPQESGPELVKPGALVKISCKAS GYTFTR-YDIN WMKQRPGQGLEWIG WIYP--GDSSTKFNENFKD
2L12 QVQLQQSGPELVKPGALVKISCKAS GYTFTR-YDIN WVKKRPGQGLEWIG WIYP--GDDSTKYNEKFKG
3L3 QVQPQESGPELVKPGTLVKISCKAS GYTFTS-YDIN WVKQRPGQGLEWIG WIYP--GDGSPKYDEKFKG
3N20 QVQLQESGAELARPGASVKLSCKVS GYIFTN-YGIS WVKQRTGQGLEWIG EIYP--RSGNTYYNEKFKG
4P5 QVQLQQSGPELVKPGALVKISCKAS GYTFTR-YDIN WVKKRPGQGLEWIG WIYP--GDDSTKYNEKFKG
5C23 QVQPQESGPELVKPGALVKISCKAS GYTFTR-YDIN WVKKRPGQGLEWIG WIYP--GDGSTKYNEKFEG
5F7 QVQPQESGPELVKPGALVKISCKAS GYTFTR-YDIN WVKQRPGQGLEWIG WIYP--GDISTKYNEKFKG
1G19 QVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVT GYSITSGYYWN WIRQFPGNKLEWMG YIN---YGGSNNYNPSLKN
Kabat 70 80 abc 90 95--100----102 110
AbM 70 80 abc 90 95--100----102 110
Chothia 70 80 abc 90 96-100---101 110
Contact 70 80 abc 90 93-----100---101 110
IMGT 75 89 105-----117
AHon 106 109 138
5H23 KATLTADKSSRTAYMQLSSLTSENSAVYFCAR SDYYGSRSF--AY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:25)
1C17 RISITRDTSKNQFFLKLNSVTPEDTATYYCAR KGAYYSNYDSFDV WGTGTTVTVSS (SEQ ID NO:51)
1D19 KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSTVYFCAR SDYYGSRSF--TY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:77)
2L12 KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSAVYFCAR SDYYGSRSF--VY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:103)
3L3 KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSAVYFCAR SDYYGSRSF--VY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:129)
3N20 KATLTADMSSSTAYMDLRSLTSEDSAVYFCAR HWDGVLDYF--DY WGQGTSLTVSS (SEQ ID NO:155)
4P5 KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSAVYFCAR SDYYGSRSF--VY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:181)
5C23 KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSAVYFCAR SDYYGSRSF--VY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:207)
5F7 KATLTADKSSSTAYMQLNSLTSENSAVYFCAR SDYYGSRSF--VY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:233)
1G19 RISITRDTSKNQFFLKLTSVTTEDTATYYCAR PGAYYSNYDSFDV WGTGTTVTVSS (SEQ ID NO:259)
Kabat 1 10 20 24-27abcd-------34 40 50----56
AbM 1 10 20 24----30abcd----34 40 50----56
Chothia 1 10 20 26--30abcd--32 40 50--
Contact 1 10 20 30abcd-------36 40 46--------55
IMGT 1 23 27---------38 41 56-65 69
AHon 1 23 42 58 72
5H23 DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC RASKSVST--SGYVYMH WNQQKPGQPPKLLIY LASYLES
1C17 DIKMTQSPSSMYASLGERVTITC KASQDINS------YLS WVQQKPGKSPKTLIY RANRLVD
1D19 DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC RASKSVST--SGYSYMH WYQQKPGQPPKLLIY LASNLES
2L12 DIVLTQSPASLPVSLGQRATISC RASKSVST--SGYSYLH WYQQKPGQPPKLLIY LASNLES
3L3 DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC RASKSVST--SGYSYVH WYQQKPGQPPKLLIY LASNLES
3N20 DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMSC KSSQSLLNSGNQKNYLA WYQQKPGQPPKLLIY GASTRES
4P5 DILLTQSPASLAVSLGQRATISC RASKSVST--SGYSYMH WYQQKPGQPPKLLIY LASNLES
5C23 DIVLTQSPDSLTVSLGQRATISC RASKSVST--SGYSYMH WYQQKPGQPPKLLIY LASNLES
5F7 DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC RASKSVST--SGYSYMH WYQQKPGQPPKLLIY LASNLES
1G19 DIKMTQSPSSMYASLGERVTITC KASQDINS------YLS WFQQKPGKSPKTLIY RANRLVD
Kabat 60 70 80 89------97
AbM 60 70 80 89------97
Chothia 60 70 80 91---96
Contact 60 70 80 89-----96
IMGT 70 89 105-----117
AHon 73 91 107 138
5H23 GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAAIYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:26)
1C17 GVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLEYEDMGIYYC LQYDEFPFT FGSGTKLEIK (SEQ ID NO:52)
1D19 GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC QHSRELPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:78)
2L12 GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC QHSGELPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:104)
3L3 GVPARFSGRGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC QHSGELPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:130)
3N20 GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYC LNDHSYPFT FGAGTKLELK (SEQ ID NO:156)
4P5 GVPARFSGRGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC HHSGELPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:182)
5C23 GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC QHSRELPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:208)
5F7 GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC QHSRELPYT FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:234)
1G19 GVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLEYEEMGIYYC LQYDEFPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:260)

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Nói chung, sáng chế đề cập đến protein gắn kết, như kháng thể, mà gắn kết với beta klotho, bao gồm beta klotho của người, và phương pháp sử dụng chúng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Beta klotho, thuộc họ Klotho, là protein xuyên màng đơn loại I. Beta klotho có miền ngoại bào bao gồm hai phần lặp lại bên trong có chung tính tương đồng với các thành phần của họ 1 glycosidaza nhưng thiếu hoạt tính xúc tác glucosidaza. Biểu hiện beta klotho chủ yếu được phát hiện ở gan, tụy và mô mỡ. Ito và các đồng nghiệp đã có thông báo rằng chuột nhắt thiếu hụt beta klotho (KLB-/-) có mức ARN thông tin của CYP7A1 và CY8B1 tăng cao và gia tăng sự tổng hợp và tiết axit mật (Ito *et al.*, 2005, J Clin Invest 115: 2202–2208). Beta klotho tạo phức với thụ thể yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi (fibroblast growth factor - FGF) và đóng vai trò đồng thụ thể đối với FGF, bao gồm FGF19 và FGF21.

Hai mươi hai thành phần thuộc họ FGF được nhận diện và bốn thụ thể tyrosin kinaza gắn kết với FGF (FGFR1-FGFR4) được nhận diện. Sự tương tác giữa FGF và thụ thể của nó dẫn đến việc dime hóa FGFR, mà cho phép transphosphoryl hóa các miền tế bào chất của thụ thể và trở nên hoạt hóa, nói cách khác, dẫn đến việc phosphoryl hóa và hoạt hóa phân tử tín hiệu xuôi dòng.

Thụ thể ái lực cao đối với FGF19 là FGFR4 và việc gắn kết FGF19 với FGFR4 được tạo thuận lợi nhờ beta klotho. Đã được thông báo rằng chuột nhắt chuyển gen FGF19 có tình trạng béo phì giảm, tốc độ chuyển hóa tăng, triglyxerit trong gan giảm, quá trình oxy hóa axit béo tăng, mức glucoza giảm và độ nhạy insulin tăng (Tomlinson *et al.*, 2002, Endocrinology 143: 1741-1747). Ngoài ra, chuột chuyển gen được thông báo không bị béo phì hoặc bệnh đái tháo đường dù chế độ ăn nhiều chất béo (Tomlinson *et al.*, 2002, Endocrinology 143: 1741-1747). Cũng đã được thông báo rằng việc điều trị FGF19 ngăn ngừa hoặc làm đảo ngược bệnh đái tháo đường ở chuột nhắt bị béo phì do cắt bỏ mỡ nâu di truyền hoặc thiếu hụt leptin di truyền (Fu *et al.*, 2004, Endocrinology 145: 2594-2603).

FGF21 hoạt động thông qua sự tương tác của FGFR và beta klotho. FGFR1 là thụ thể dồi dào trong mô mỡ trắng và rất có thể là thụ thể chức năng chính đối với FGF21 trong mô mỡ trắng. Biểu hiện FGF21 được phát hiện ở gan, ức, mô mỡ, và tế bào tiểu đảo beta (islet beta-cells) ở tụy. Đã được thông báo rằng sự tương tác giữa FGF21 và phức hợp beta klotho-FGFR kích thích hấp thu glucoza, làm giảm tiết glucagon, cải thiện độ nhạy insulin và độ thanh thải glucoza, thúc đẩy mô mỡ trắng phản ứng lại việc nhịn ăn, tăng cường tạo keton ở gan phản ứng lại việc nhịn ăn, làm giảm các mức triglyxerit huyết tương, và làm tăng năng lượng tiêu hao (Iglesias *et al.*, 2012, European Journal of Endocrinology 167: 301-309).

Vì FGF19 và FGF21 đều yêu cầu cả FGFR và beta klotho đối với tín hiệu tế bào, nên các chất bắt chước FGF19 và/hoặc FGF21 có thể được mong muốn về tác dụng của chúng hoặc việc chuyển hóa glucoza hoặc chuyển hóa lipit. Tuy nhiên, không rõ các đặc điểm nào là cần cho chất tạo ra hoạt tính tạo tín hiệu tế bào giống FGF19 hoặc giống FGF21.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất protein mà gắn kết với beta klotho, bao gồm protein gắn kết như kháng thể gắn kết với beta klotho. Protein gắn kết này, bao gồm kháng thể, có thể gắn kết với polypeptit beta klotho, mảnh beta klotho và/hoặc epitop beta klotho. Protein gắn kết này, bao gồm kháng thể, có thể là chất chủ vận (*ví dụ*, tạo ra tín hiệu giống FGF19 hoặc FGF21 của thụ thể FGF hoặc hoạt hóa phức hợp beta klotho/thụ thể FGF).

Sáng chế cũng đề xuất protein gắn kết, bao gồm kháng thể hoặc mảnh kháng thể, mà (i) gắn kết với beta klotho của người, (ii) tạo ra tín hiệu giống FGF19 và/hoặc tín hiệu giống FGF21, và (iii) không cạnh tranh với FGF19 và/hoặc FGF21 để tương tác với beta klotho.

Theo một số phương án, kháng thể kháng beta klotho là kháng thể được nhân hóa gắn kết với polypeptit beta klotho, mảnh beta klotho, hoặc epitop beta klotho. Theo một số phương án nhất định, kháng thể kháng beta klotho chứa VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, và/hoặc VL CDR3 của kháng thể đơn dòng được ký hiệu 5H23, 1C17, 1D19, 2L12, 3L3, 3N20, 4P5, 5C23, 5F7 hoặc 1G19 như được

mô tả trong bản mô tả này, hoặc biến thể được nhân hóa của chúng. Theo một số phương án nhất định, kháng thể kháng beta klotho còn có thể chứa VH FR1, VH FR2, VH FR3, VH FR4, VL FR1, VL FR2, VL FR3, và/hoặc VL FR4 của trình tự axit amin globulin miễn dịch của người hoặc biến thể của nó.

Theo một số phương án, protein gắn kết (*ví dụ,* kháng thể kháng beta klotho) chứa sáu CDR hoặc ít hơn sáu CDR. Theo một số phương án, protein gắn kết (ví dụ, kháng thể kháng beta klotho) chứa một, hai, ba, bốn, năm, hoặc sáu CDR được chọn từ VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, và/hoặc VL CDR3. Theo một số phương án, protein gắn kết (ví dụ, kháng thể kháng beta klotho) chứa một, hai, ba, bốn, năm, hoặc sáu CDR được chọn từ VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, và/hoặc VL CDR3 của kháng thể đơn dòng được ký hiệu là 5H23, 1C17, 1D19, 2L12, 3L3, 3N20, 4P5, 5C23, 5F7 hoặc 1G19 như được mô tả trong bản mô tả này, hoặc biến thể được nhân hóa của chúng. Theo một số phương án, protein gắn kết (ví dụ, kháng thể kháng beta klotho) còn bao gồm vùng khung hoặc vùng sườn, chứa VH FR1, VH FR2, VH FR3, VH FR4, VL FR1, VL FR2, VL FR3, và/hoặc VL FR4 của trình tự axit amin globulin miễn dịch của người hoặc biến thể của nó.

Theo một số phương án, kháng thể là kháng thể được nhân hóa, kháng thể đơn dòng, kháng thể tái tổ hợp, mảnh gắn kết kháng nguyên hoặc tổ hợp bất kỳ của chúng. Theo một số phương án, kháng thể là kháng thể đơn dòng được nhân hóa, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, gắn kết với polypeptit beta klotho (ví dụ, beta klotho hòa tan hoặc được biểu hiện trên bề mặt tế bào), mảnh beta klotho, hoặc epitop beta klotho.

Sáng chế cũng đề xuất protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho (i) phong bế cạnh tranh (ví dụ, theo cách phụ thuộc liều) kháng thể kháng beta klotho nêu trong bản mô tả này khỏi việc gắn kết với polypeptit beta klotho (ví dụ, beta klotho hòa tan hoặc được biểu hiện trên bề mặt tế bào), mảnh beta klotho, hoặc epitop beta klotho và/hoặc (ii) gắn kết với epitop beta klotho mà được liên kết bởi kháng thể kháng beta klotho được nêu trong bản mô tả này. Theo các phương án khác, protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho phong bế cạnh tranh (ví dụ, theo cách phụ thuộc liều) kháng thể đơn dòng 5H23 hoặc 1G19 được mô tả trong bản mô tả này hoặc biến thể được nhân hóa của chúng khỏi việc gắn kết với polypeptit beta klotho (ví dụ, beta

klotho hòa tan hoặc được biểu hiện trên bề mặt tế bào), mảnh beta klotho, hoặc epitop beta klotho. Theo các phương án khác, protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho gắn kết với epitop beta klotho được liên kết (ví dụ, được nhận diện) bởi kháng thể đơn dòng 5H23, hoặc 1G19 được mô tả trong bản mô tả này hoặc biến thể được nhân hóa của chúng.

Sáng chế cũng đề xuất protein gắn kết, bao gồm kháng thể hoặc mảnh kháng thể, mà (i) gắn kết với epitop của beta klotho của người và beta klotho của khỉ cynomolgus (sau đây gọi là khỉ cyno) được nhận diện bởi kháng thể chứa vùng biến đổi (của) chuỗi nặng có trình tự axit amin của SEQ ID NO:25 và vùng biến đổi (của) chuỗi nhẹ có trình tự axit amin của SEQ ID NO:26; hoặc (ii) cạnh tranh để gắn kết beta klotho của người với kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin của SEQ ID NO:25 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin của SEQ ID NO:26. Theo một số phương án, protein gắn kết, bao gồm kháng thể hoặc mảnh kháng thể, được đề xuất trong bản mô tả này gắn kết với vùng, bao gồm epitop, của beta klotho của người hoặc beta klotho của khỉ cyno. Theo một số phương án, protein gắn kết, bao gồm kháng thể hoặc mảnh kháng thể, gắn kết với vùng beta klotho của người hoặc beta klotho của khỉ cyno bao gồm, ví dụ, kháng thể hoặc mảnh kháng thể gắn kết với: (i) miền KLB2 của beta klotho của người chứa các gốc axit amin từ 509 đến 1044 của SEQ ID NO:297; (ii) vùng glycosyl hydrolaza 1 của miền KLB2 của beta klotho của người chứa các gốc axit amin từ 517 đến 967 của SEQ ID NO:297; (iii) vùng beta klotho của người chứa các gốc axit amin từ 657 đến 703 của SEQ ID NO:297; hoặc (iv) vùng beta klotho của khỉ cyno chứa các gốc axit amin từ 657 đến 703 của SEQ ID NO:299.

Theo một số phương án, protein gắn kết, bao gồm kháng thể hoặc mảnh kháng thể, được đề xuất trong bản mô tả này gắn kết với epitop đặc hiệu của beta klotho của người, bao gồm, ví dụ, kháng thể hoặc mảnh kháng thể gắn kết với: (i) epitop của beta klotho của người chứa ít nhất một trong số các gốc axit amin 657, 701 và/hoặc 703 của beta klotho của người (SEQ ID NO: 297); (ii) epitop của beta klotho của người chứa ít nhất gốc axit amin 657 của SEQ ID NO: 297; (iii) epitop của beta klotho của người chứa ít nhất gốc axit amin 701 của SEQ ID NO: 297; (iv) epitop của beta klotho của người chứa ít nhất gốc axit amin 703 của SEQ ID NO: 297; (v) epitop của beta

klotho của người chứa ít nhất các gốc axit amin 657 và 701 của SEQ ID NO: 297; (vi) epitop của beta klotho của người chứa ít nhất các gốc axit amin 657 và 703 của SEQ ID NO: 297; (vii) epitop của beta klotho của người chứa ít nhất các gốc axit amin 701 và 703 của SEQ ID NO: 297; hoặc (viii) epitop của beta klotho của người chứa ít nhất các gốc axit amin 657, 701 và 703 của SEQ ID NO: 297. Các kháng thể nêu trên có thể, theo một số phương án, tạo ra tín hiệu giống FGF19 và/hoặc tín hiệu giống FGF21 hoặc hoạt hóa phức hợp beta klotho/thụ thể FGF trong tế bào biểu hiện beta klotho của người và thụ thể FGF. Ngoài ra, theo một số phương án, kháng thể là kháng thể đơn dòng, ví dụ, kháng thể được nhân hóa, kháng thể người hoặc kháng thể khảm.

Theo một số phương án, protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho nêu trong bản mô tả này được liên hợp hoặc liên kết tái tổ hợp với chất chẩn đoán, chất phát hiện hoặc chất điều trị. Theo một số khía cạnh, chất điều trị là dược chất, bao gồm một hoặc nhiều dược chất như biguanit và sulphonylure (ví dụ, metformin tolbutamit, clopropamit, axetohexamit, tolazamit, glibenclamit, glyburit, và glipizit), thiazolidindion (ví dụ, rosiglitazon, pioglitazon), chất tương tự GLP-1, chất chủ vận PPAR gama (ví dụ, pioglitazon và rosiglitazon), chất ức chế dipeptidyl peptidaza-4 (DPP-4), (ví dụ, JANUVIN®, ONGLYZA®), chế phẩm bromocriptin và tác nhân chelat hóa axit mật (ví dụ, colesevelam), và insulin (ví dụ, các chất tương tự insulin tác dụng nhanh và tác dụng kéo dài), chất ức chế alpha glucosidaza (ví dụ, acarbose, roglibose), metformin (ví dụ, metformin hydroclorua) có hoặc không có thiazolidindion (TZD), chất ức chế SGLT-2, ức chế thèm ăn hoặc thuốc giảm cân (ví dụ, Meridia®/sibutramin, Xenical®/ortistat). Theo một số khía cạnh, chất phát hiện là đồng vị phóng xạ, enzym, hợp chất huỳnh quang, hợp chất phát quang sinh học hoặc hợp chất phát quang hóa học.

Theo một số phương án nhất định, chế phẩm được đề xuất bao gồm protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho được mô tả trong bản mô tả này. Sáng chế còn đề xuất dược phẩm chứa protein gắn kết như kháng thể beta klotho như được mô tả trong bản mô tả này.

Sáng chế cũng đề xuất phân tử axit nucleic được phân lập mã hóa chuỗi nặng globulin miễn dịch, chuỗi nhẹ globulin miễn dịch, vùng VH, vùng VL, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, và/hoặc VL CDR3 của protein gắn kết (ví

dụ, kháng thể kháng beta klotho) gắn kết với polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, hoặc epitop beta klotho. Theo một số phương án, phân tử axit nucleic mã hóa vùng VH, vùng VL, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, và/hoặc VL CDR3 của kháng thể đơn dòng được ký hiệu là 5H23, 1C17, 1D19, 2L12, 3L3, 3N20, 4P5, 5C23, 5F7 hoặc 1G19 như được mô tả trong bản mô tả này, hoặc biến thể được nhân hóa của chúng. Theo một số phương án, phân tử axit nucleic còn mã hóa vùng giá đỡ hoặc vùng khung, bao gồm VH FR1, VH FR2, VH FR3, VH FR4, VL FR1, VL FR2, VL FR3, và/hoặc VL FR4 của trình tự axit amin globulin miễn dịch của người hoặc biến thể của nó. Sáng chế cũng đề xuất vectơ và tế bào chủ chứa phân tử axit nucleic mã hóa protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho, cũng như phương pháp sản xuất protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho bằng cách nuôi cây tế bào chủ đã nêu trong bản mô tả này trong điều kiện thúc đẩy quá trình sản xuất protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều trị, ngăn ngừa hoặc làm giảm bớt bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh (ví dụ, một hoặc nhiều triệu chứng) bao gồm dùng lượng có hiệu quả điều trị của protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho nêu trong bản mô tả này cho đối tượng, bao gồm đối tượng cần điều trị, nhờ đó điều trị, ngăn ngừa hoặc làm giảm bớt bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh. Theo một số phương án, bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh gây ra bởi hoặc mặt khác kết hợp với beta klotho, như bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh liên quan đến tín hiệu giống FGF19 và/hoặc FGF21 ở đối tượng. Theo một số phương án nhất định, bệnh có thể được điều trị bằng cách hạ thấp lượng glucoza trong máu, insulin hoặc lipit huyết thanh (ví dụ, bệnh đái tháo đường typ 2, bệnh béo phì, rối loạn mỡ máu, NASH, bệnh tim mạch, hội chứng chuyển hóa).

Theo một số phương án, bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh liên quan đến sự chuyển hóa glucoza hoặc sự chuyển hóa lipit. Theo một số phương án, bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh được chọn từ nhóm bao gồm tình trạng tăng đường huyết (ví dụ, bệnh đái tháo đường, như bệnh đái tháo đường typ 1, bệnh đái tháo đường typ 2, bệnh đái tháo đường thai kỳ, kháng insulin, tăng insulin huyết, không dung nạp glucoza, hội chứng chuyển hóa, hoặc bệnh béo phì).

Theo một số phương án, các phương pháp điều trị, ngăn ngừa hoặc làm giảm bớt bao gồm các phương pháp cải thiện sự chuyển hóa glucoza và/hoặc phương pháp cải thiện sự chuyển hóa lipit. Theo một số phương án, các phương pháp điều trị, ngăn ngừa hoặc làm giảm bớt làm cho lượng glucoza giảm đi (ví dụ, glucoza trong máu giảm), tăng độ nhạy insulin, giảm độ kháng insulin, giảm glycogen, cải thiện sự dung nạp glucoza, cải thiện sự dung nạp glucoza, cải thiện sự chuyển hóa glucoza, cải thiện nội cân bằng, cải thiện chức năng tụy, giảm triglyxerit, giảm cholesterol, giảm IDL, giảm LDL, giảm VLDL, hạ huyết áp, giảm độ dày nội mạc mạch máu và/hoặc giảm khối lượng cơ thể hoặc tăng cân.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh kết hợp với FGF19 của người và/hoặc FGF21 của người, bao gồm bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh bất kỳ khởi phát ở đối tượng (ví dụ, bệnh nhân) gây ra bởi, ít nhất một phần, việc đưa vào tín hiệu giống FGF19 và/hoặc FGF21, được bắt đầu *in vivo* bằng sự hình thành phức hợp chứa FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c hoặc FGFR4 và beta klotho và FGF19 hoặc FGF21. Mức độ nghiêm trọng của bệnh cũng có thể giảm đi bằng cách đưa vào tín hiệu giống FGF19 và/hoặc FGF21. Ví dụ về bệnh hoặc tình trạng bệnh có thể được điều trị bằng protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho bao gồm bệnh đái tháo đường typ 2, bệnh béo phì, rối loạn mỡ máu, NASH, bệnh tim mạch, và hội chứng chuyển hóa.

Như vậy, protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho được mô tả trong bản mô tả này có thể được sử dụng để điều trị bệnh đái tháo đường typ 2, bệnh béo phì, rối loạn mỡ máu (ví dụ, tăng triglyxerit huyết), NASH, bệnh tim mạch, và/hoặc hội chứng chuyển hóa, cũng như bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh bất kỳ trong đó mong muốn bắt chước hoặc tăng thêm hiệu quả *in vivo* của FGF19 và/hoặc FGF21, hoặc có thể được dùng ở dạng điều trị dự phòng, ví dụ, dùng hằng ngày, hằng tuần, hai tuần một lần, hằng tháng, hai tháng một lần, hai năm một lần, v.v., để ngăn ngừa hoặc làm giảm tần suất và/hoặc mức độ nghiêm trọng của triệu chứng (ví dụ, tăng mức glucoza huyết tương, tăng mức triglyxerit và cholesterol), bao gồm, ví dụ, nhờ đó tạo ra profin yếu tố nguy cơ tim mạch và/hoặc glyxemic được cải thiện. Sáng chế đề xuất phương pháp cải thiện các tham số chuyển hóa bằng cách cho đối tượng dùng protein gắn kết, bao gồm kháng thể hoặc mảnh kháng thể như được mô tả trong bản mô tả này

hoặc dược phẩm được mô tả trong bản mô tả này, bao gồm, ví dụ, trong đó việc cải thiện bao gồm làm giảm thể trọng, chỉ số khối lượng cơ thể, chu vi bụng, độ dày nếp gấp da, glucoza, insulin và/hoặc triglyxerit.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp tạo ra tín hiệu giống FGF19 hoặc giống FGF21 của tế bào có sự biểu hiện bề mặt tế bào của beta klotho và một hoặc nhiều thụ thể FGF, như FGFR1, FGFR2, FGFR3, hoặc FGFR4 bao gồm cho tế bào tiếp xúc với lượng có hiệu quả của protein gắn kết (ví dụ, kháng thể) mà gắn kết với beta klotho như được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, tế bào là tế bào tạo mỡ hoặc tế bào gan. Theo các phương án khác, tế bào là tế bào chuyển gen mã hóa beta klotho và tùy ý gen mã hóa thụ thể FGF. Các phương pháp bổ sung được đề xuất bao gồm sử dụng kháng thể kháng beta klotho như được mô tả trong bản mô tả này, có hoạt tính làm trung gian cho tác dụng phát tín hiệu giống FGF19 và/hoặc FGF21.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều biến tín hiệu giống FGF19 và/hoặc FGF21 ở đối tượng bao gồm dùng lượng hiệu quả của protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho như được mô tả trong bản mô tả này cho đối tượng, bao gồm đối tượng cần điều trị. Theo một số phương án, việc điều biến bao gồm sự hoạt hóa giống FGF19. Theo một số phương án, việc điều biến bao gồm sự hoạt hóa giống FGF21. Theo một số phương án, việc điều biến bao gồm làm tăng sự chuyển hóa glucoza (ví dụ, làm giảm lượng glucoza như lượng glucoza máu).

Sáng chế còn đề xuất phương pháp phát hiện beta klotho trong mẫu bao gồm cho mẫu này tiếp xúc với protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho như được mô tả trong bản mô tả này, mà chứa chất có thể phát hiện ra. Theo một số phương án nhất định, mẫu này bao gồm tế bào biểu hiện beta klotho trên bề mặt của nó.

Sáng chế cũng đề xuất kit chứa protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho gắn kết với polypeptit beta klotho, mảnh beta klotho hoặc epitop beta klotho như được mô tả trong bản mô tả này.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1A-1B thể hiện sự sắp hàng trình tự của vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể kháng beta klotho có ký hiệu 5H23, 1C17, 1D19,

2L12, 3L3, 3N20, 4P5, 5C23, 5F7 và 1G19. Ranh giới của các CDR được chỉ ra bằng cách đánh số Kabat, AbM, Chothia, Contact và IMGT.

Fig. 2A-1 và 2A-2 thể hiện sự sắp hàng trình tự của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể kháng beta klotho tạo ra trình tự liên ứng CDR. Sự tạo nhóm trên đầu bao gồm các kháng thể có ký hiệu 5H23, 1D19, 2L12, 3L3, 4P5, 5C23 và 5F7. Sự tạo nhóm phía dưới bao gồm các kháng thể có ký hiệu 1C17 và 1G19. Sự tạo nhóm dưới đáy chỉ bao gồm kháng thể có ký hiệu 3N20. Các gốc biến đổi được thể hiện là "X". Ranh giới của các CDR được chỉ ra bằng cách đánh số Kabat, AbM, Chothia, Contact và IMGT.

Fig. 2B-1 và 2B-2 thể hiện sự sắp hàng trình tự của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể kháng beta klotho tạo ra trình tự liên ứng CDR. Sự tạo nhóm trên đầu bao gồm các kháng thể có ký hiệu 5H23, 1D19, 2L12, 3L3, 4P5, 5C23 và 5F7. Sự tạo nhóm phía dưới bao gồm các kháng thể có ký hiệu 1C17 và 1G19. Sự tạo nhóm dưới đáy chỉ bao gồm kháng thể có ký hiệu 3N20. Các gốc biến đổi được thể hiện là "X". Ranh giới của các CDR được chỉ ra bằng cách đánh số Kabat, AbM, Chothia, Contact và IMGT.

Fig. 3A-1 và 3A-2 thể hiện sự sắp hàng trình tự của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể kháng beta klotho có ký hiệu 5H23 với trình tự được nhân hóa (vH1-vH9). Các gốc được in đậm biểu thị các gốc mẫu được biến đổi từ kháng thể gốc. Các gốc được in đậm và được gạch dưới biểu thị các gốc thay đổi trở lại thành gốc của chuột nhắt.

Fig. 3B thể hiện sự sắp hàng trình tự của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể kháng beta klotho có ký hiệu 5H23 với trình tự được nhân hóa (vL1-vL5). Các gốc được in đậm biểu thị các gốc mẫu được biến đổi. Các gốc được in đậm và được gạch dưới biểu thị các gốc thay đổi trở lại thành gốc của chuột nhắt.

Fig. 3C-1 và 3C-2 thể hiện sự sắp hàng trình tự của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể kháng beta klotho có ký hiệu 5H23 với trình tự được nhân hóa (v1-39a- v1-39p). Các gốc được in đậm biểu thị các gốc mẫu được biến đổi.

Fig. 3D-1 và 3D-2 thể hiện sự sắp hàng trình tự của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể kháng beta klotho có ký hiệu 5H23 với các trình tự khác nhau được nhân hóa (v3-20a- v3-20j). Các gốc được in đậm biểu thị các gốc mẫu được biến đổi.

Fig. 4A-4C thể hiện sự sắp hàng trình tự giữa các polypeptit beta klotho của người, chuột nhắt và dạng khảm. Polypeptit khảm chMoHu biểu thị KLB(M1-F506) của chuột nhắt-KLB(S509-S1044) của người. Polypeptit khảm chHuMo biểu thị KLB (M1-F508) của người-KLB (P507-S1043) của chuột nhắt. Các gốc tương ứng với các gốc của chuột nhắt được in đậm và in nghiêng.

Fig. 5A-5F thể hiện sự sắp hàng trình tự giữa các polypeptit beta klotho từ các loại khác nhau được mô tả trong bản mô tả này.

Fig. 6 thể hiện mô hình ba chiều của ba gốc gắn kết được nhận diện (hình cầu có màu tối) ở các vị trí tương đương trên beta-glucosidaza phần bào tan của người. Cấu trúc thể hiện sự tương đương của các gốc Klotho-beta 521-963.

Mô tả chi tiết sáng chế

Protein gắn kết, như kháng thể mà gắn kết beta klotho, bao gồm beta klotho của người và/hoặc của khỉ cyno, được đề xuất trong bản mô tả này. Đặc điểm duy nhất của protein gắn kết như vậy, bao gồm kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả này, là bản chất chủ vận của chúng, bao gồm khả năng bắt chước tác dụng *in vivo* của FGF19 và/hoặc FGF21 và tạo ra tín hiệu giống FGF19 và/hoặc tín hiệu giống FGF21. Đáng chú ý và cụ thể hơn là, một số protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho bộc lộ trong bản mô tả này (i) gắn kết với beta klotho của người và của khỉ cyno, (ii) không cạnh tranh để gắn kết với FGF19 và/hoặc FGF21, và (iii) tạo ra tín hiệu giống FGF19 và/hoặc tín hiệu giống FGF21, bao gồm, ví dụ, trong nhiều thử nghiệm *in vitro* dựa trên tế bào khác nhau. Các thử nghiệm này có thể bao gồm (1) thử nghiệm chỉ báo ELK-luciferaza (xem, ví dụ 4); (2) thử nghiệm tế bào qua trung gian chỉ báo FGF19 tái tổ hợp để ERK-phosphoryl hóa (xem, ví dụ 4); và (3) thử nghiệm tế bào tạo mỡ ở người để ERK-phosphoryl hóa (xem, ví dụ 5). Protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho, như được mô tả trong bản mô tả này, do đó, được mong đợi là bộc lộ hoạt tính *in vivo* phù hợp với chức năng sinh học tự nhiên của FGF19 và/hoặc FGF21. Đặc điểm này khiến cho protein gắn kết đã được bộc lộ, bao gồm kháng thể kháng beta

klotho, trở thành các liệu pháp khả thi để điều trị bệnh chuyển hóa (ví dụ, bệnh đái tháo đường typ 2, bệnh béo phì, rối loạn mỡ máu, NASH, bệnh tim mạch, hội chứng chuyển hóa) và bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh chung bất kỳ trong đó mong muốn bắt chước hoặc tăng thêm hiệu quả *in vivo* của FGF19 và/hoặc FGF21.

Protein gắn kết, như kháng thể gắn kết beta klotho, được đề xuất trong bản mô tả này có đặc điểm chung trong việc cạnh tranh với nhau để gắn kết beta klotho (xem, ví dụ 3 mô tả kháng thể trong thùng epitop 5H23). Sự ức chế cạnh tranh này chỉ ra rằng mỗi kháng thể gắn kết với cùng một vùng của beta klotho (ví dụ, cùng một epitop), nhờ đó xác nhận hiệu quả giống nhau. Kháng thể kháng beta klotho nêu trong bản mô tả này bao gồm kháng thể kháng beta klotho được nhân hóa, bao gồm kháng thể kháng beta klotho được nhân hóa có nguồn gốc từ hoặc dựa trên 5H23, 1C17, 1D19, 2L12, 3L3, 3N20, 4P5, 5C23, 5F7 và/hoặc 1G19 có trình tự CDR như được mô tả trong các bảng 1-10 hoặc trên các Fig. 1-3, như kháng thể kháng beta klotho, bao gồm kháng thể kháng beta klotho được nhân hóa, gắn kết với miền đặc hiệu của beta klotho của người (ví dụ, KL2 (các gốc S509-S1044); xem ví dụ 9). Hơn nữa, việc gắn kết này có thể được chỉ định trên diện rộng cho các gốc axit amin cụ thể trong vùng KL2 (ví dụ, H657, Y701 và R703), bao gồm epitop được nhận diện bởi kháng thể kháng beta klotho được mô tả trong bản mô tả này. Đồng thời, kết quả được mô tả trong bản mô tả này chứng minh rằng tác dụng quan sát thấy đối với kháng thể kháng beta klotho mà có nguồn gốc từ hoặc dựa trên 5H23 hoặc kháng thể trong thùng eptitop 5H23, bao gồm kháng thể có một hoặc nhiều CDR được mô tả trong các bảng 1-10 hoặc trên các Fig. 1-3, có thể được ngoại suy cho kháng thể kháng beta klotho khác được mô tả trong bản mô tả này có cùng hoặc giống độ đặc hiệu epitop (ví dụ, có cùng CDR hoặc CDR giống nhau). Ví dụ, hoạt tính *in vitro* của kháng thể như được thể hiện trong các ví dụ 4-7 và 9, cũng như tác dụng *in vivo* được chứng minh trong ví dụ 8 đối với kháng thể kháng beta klotho được nhân hóa làm ví dụ, là điển hình cho các hoạt tính và tác dụng của kháng thể kháng beta klotho được mô tả trong bản mô tả này.

Theo một số phương án của sáng chế, protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho có thể bao gồm các vùng biến đổi globulin miễn dịch gồm một hoặc nhiều vùng xác định tính bổ trợ (complementary determining region - CDR) như được mô tả trong các bảng 1-10. Trong protein gắn kết này (ví dụ, kháng thể kháng beta klotho), CDR

có thể được liên kết với một hoặc nhiều vùng giá đỡ hoặc vùng khung, định hướng (các) CDR sao cho đạt được các đặc điểm gắn kết kháng nguyên thích hợp của (các) CDR. Protein gắn kết này, bao gồm kháng thể kháng beta klotho như được mô tả trong bản mô tả này, có thể tạo điều kiện thuận lợi hoặc làm gia tăng sự tương tác giữa FGFR1c và beta klotho, và có thể gây ra tín hiệu giống FGF19 và/hoặc FGF21.

Kỹ thuật chung

Các kỹ thuật và quy trình được mô tả hoặc tham khảo trong bản mô tả này bao gồm các kỹ thuật hoặc quy trình nói chung đã biết rõ và/hoặc thường được dùng bằng cách sử dụng phương pháp luận thông thường bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, như, ví dụ, phương pháp luận đã dùng rộng rãi được mô tả trong tài liệu của Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3rd. edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel, *et al.* eds., (2003)); Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic, Z. An, ed, Wiley, Hoboken N.J. (2009); Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols, M. Albitar, ed., Humana Press, Totawa, N.J. (2010); và Antibody Engineering, 2nd Ed., Vols 1 and 2, Kontermann and Dubel, eds., Springer-Verlag, Heidelberg, 2010.

Thuật ngữ

Trừ khi có quy định khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học sử dụng trong bản mô tả này có cùng nghĩa như được hiểu theo cách thông thường bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Đối với mục đích giải thích sáng chế này, phần mô tả các thuật ngữ sau sẽ áp dụng và bất cứ khi nào thích hợp, thuật ngữ được sử dụng ở dạng số ít cũng sẽ được hiểu là bao hàm cả số nhiều và ngược lại. Tất cả bằng sáng chế, đơn sáng chế, đơn đã công bố và các tài liệu công bố khác được kết hợp trong bản mô tả này để tham khảo. Trong trường hợp việc mô tả thuật ngữ bất kỳ nêu trên mâu thuẫn với tài liệu bất kỳ được kết hợp trong bản mô tả này để tham khảo, thì việc mô tả thuật ngữ nêu dưới đây sẽ quyết định.

Thuật ngữ "beta klotho" hoặc "polypeptit beta klotho" và các thuật ngữ tương tự đề cập đến polypeptit ("polypeptit," và "protein" được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả này) hoặc beta klotho tự nhiên bất kỳ từ nguồn động vật có xương

sống, bao gồm động vật có vú như động vật linh trưởng (ví dụ, người, khỉ cynomolgus (cyno)), chó, và loài gặm nhấm (ví dụ, chuột nhắt và chuột cống), trừ khi có quy định khác, và, theo một số phương án nhất định, bao gồm các polypeptit beta klotho có liên quan, bao gồm các biến thể SNP của chúng. Beta klotho bao gồm hai miền, beta klotho 1 (KLB1) và beta klotho 2 (KLB2). Mỗi miền beta klotho chứa một vùng glycosyl hydrolaza 1. Ví dụ, miền KLB1 của beta klotho của người bao gồm các gốc axit amin 1-508 có vùng glycosyl hydrolaza 1 chứa các gốc axit amin 77-508, và miền KLB2 của beta klotho của người chứa các gốc axit amin 509-1044 có vùng glycosyl hydrolaza 1 chứa các gốc axit amin 517-967. Trình tự axit amin của beta klotho của người được nêu dưới đây:

```
   1 MKPGCAAGSP GNEWIFFSTD EITTRYRNTM SNGGLQRSVI LSALILLRAV
  51 TGFSGDGRAI WSKNPNFTPV NESQLFLYDT FPKNFFWGIG TGALQVEGSW

 101 KKDGKGPSIW DHFIHTHLKN VSSTNGSSDS YIFLEKDLSA LDFIGVSFYQ
 151 FSISWPRLFP DGIVTVANAK GLQYYSTLLD ALVLRNIEPI VTLYHWDLPL
 201 ALQEKYGGWK NDTIIDIFND YATYCFQMFG DRVKYWITIH NPYLVAWHGY
 251 GTGMHAPGEK GNLAAVYTVG HNLIKAHSKV WHNYNTHFRP HQKGWLSITL
 301 GSHWIEPNRS ENTMDIFKCQ QSMVSVLGWF ANPIHGDGDY PEGMRKKLFS
 351 VLPIFSEAEK HEMRGTADFF AFSFGPNNFK PLNTMAKMGQ NVSLNLREAL
 401 NWIKLEYNNP RILIAENGWF TDSRVKTEDT TAIYMMKNFL SQVLQAIRLD
 451 EIRVFGYTAW SLLDGFEWQD AYTIRRGLFY VDFNSKQKER KPKSSAHYYK
 501 QIIRENGFSL KESTPDVQGQ FPCDFSWGVT ESVLKPESVA SSPQFSDPHL
 551 YVWNATGNRL LHRVEGVRLK TRPAQCTDFV NIKKQLEMLA RMKVTHYRFA
 601 LDWASVLPTG NLSAVNRQAL RYYRCVVSEG LKLGISAMVT LYYPTHAHLG
 651 LPEPLLHADG WLNPSTAEAF QAYAGLCFQE LGDLVKLWIT INEPNRLSDI
 701 YNRSGNDTYG AAHNLLVAHA LAWRLYDRQF RPSQRGAVSL SLHADWAEPA
 751 NPYADSHWRA AERFLQFEIA WFAEPLFKTG DYPAAMREYI ASKHRRGLSS
 801 SALPRLTEAE RRLLKGTVDF CALNHFTTRF VMHEQLAGSR YDSDRDIQFL
 851 QDITRLSSPT RLAVIPWGVR KLLRWVRRNY GDMDIYITAS GIDDQALEDD
 901 RLRKYYLGKY LQEVLKAYLI DKVRIKGYYA FKLAEEKSKP RFGFFTSDFK
 951 AKSSIQFYNK VISSRGFPFE NSSSRCSQTQ ENTECTVCLF LVQKKPLIFL
1001 GCCFFSTLVL LLSIAIFQRQ KRRKFWKAKN LQHIPLKKGK RVVS
```

(SEQ ID NO: 297)

Trình tự axit nucleic mã hóa của beta klotho của người được nêu dưới đây:

atgaagccaggctgtgcggcaggatctccagggaatgaatggattttcttcagcactgatga
aataaccacacgctataggaatacaatgtccaacgggggattgcaaagatctgtcatcctgt
cagcacttattctgctacgagctgttactggattctctggagatggaagagctatatggtct
aaaaatcctaattttactccggtaaatgaaagtcagctgtttctctatgacactttccctaa
aaacttttctggggtattgggactggagcattgcaagtggaagggagttggaagaaggatg
gaaaaggaccttctatatgggatcatttcatccacacacaccttaaaaatgtcagcagcacg
aatggttccagtgacagttatatttttctggaaaaagacttatcagccctggattttatagg
agtttctttttatcaattttcaatttcctggccaaggcttttccccgatggaatagtaacag
ttgccaacgcaaaaggtctgcagtactacagtactcttctggacgctctagtgcttagaaac
attgaacctatagttactttataccactgggatttgcctttggcactacaagaaaaatatgg
ggggtggaaaaatgataccataatagatatcttcaatgactatgccacatactgtttccaga

tgtttggggaccgtgtcaaatattggattacaattcacaacccatatctagtggcttggcat
gggtatgggacaggtatgcatgcccctggagagaagggaaatttagcagctgtctacactgt
gggacacaacttgatcaaggctcactcgaaagtttggcataactacaacacatttccgcc
cacatcagaagggttggttatcgatcacgttgggatctcattggatcgagccaaaccggtcg
gaaaacacgatggatatattcaaatgtcaacaatccatggtttctgtgcttggatggtttgc
caaccctatccatggggatggcgactatccagaggggatgagaaagaagttgttctccgttc
tacccatttctctgaagcagagaagcatgagatgagaggcacagctgatttctttgccttt
tcttttggacccaacaacttcaagcccctaaacaccatggctaaaatgggacaaaatgtttc
acttaatttaagagaagcgctgaactggattaaactggaatacaacaaccctcgaatcttga
ttgctgagaatggctggttcacagacagtcgtgtgaaaacagaagacaccacggccatctac
atgatgaagaatttcctcagccaggtgcttcaagcaataaggttagatgaaatacgagtgtt
tggttatactgcctggtctctcctggatggctttgaatggcaggatgcttacaccatccgcc
gaggattattttatgtggattttaacagtaaacagaaagagcggaaacctaagtcttcagca
cactactacaaacagatcatacgagaaaatggtttttctttaaaagagtccacgccagatgt
gcagggccagtttccctgtgacttctcctggggtgtcactgaatctgttcttaagcccgagt
ctgtggcttcgtccccacagttcagcgatcctcatctgtacgtgtggaacgccactggcaac
agactgttgcaccgagtggaaggggtgaggctgaaaacacgacccgctcaatgcacagattt
tgtaaacatcaaaaaacaacttgagatgttggcaagaatgaaagtcacccactaccggtttg
ctctggattgggcctcggtccttcccactggcaacctgtccgcggtgaaccgacaggccctg
aggtactacaggtgcgtggtcagtgaggggctgaagcttggcatctccgcgatggtcaccct
gtattatccgacccacgcccacctaggcctccccgagcctctgttgcatgccgacgggtggc
tgaacccatcgacggccgaggccttccaggcctacgctgggctgtgcttccaggagctgggg
gacctggtgaagctctggatcaccatcaacgagcctaaccggctaagtgacatctacaaccg
ctctggcaacgacacctacggggcggcgcacaacctgctggtggcccacgccctggcctggc
gcctctacgaccggcagttcaggccctcacagcgcggggccgtgtcgctgtcgctgcacgcg
gactgggcggaacccgccaaccccctatgctgactcgcactggagggcggccgagcgcttcct
gcagttcgagatcgcctggttcgccgagccgctcttcaagaccggggactaccccgcggcca
tgagggaatacattgcctccaagcaccgacgggggctttccagctcggccctgccgcgcctc
accgaggccgaaaggaggctgctcaagggcacggtcgacttctgcgcgctcaaccacttcac
cactaggttcgtgatgcacgagcagctggccggcagccgctacgactcggacagggacatcc
agtttctgcaggacatcacccgcctgagctccccacgcgcctggctgtgattccctggggg
gtgcgcaagctgctgcggtgggtccggaggaactacggcgacatggacatttacatcaccgc
cagtggcatcgacgaccaggctctggaggatgaccggctccggaagtactacctagggaagt
accttcaggaggtgctgaaagcatacctgattgataaagtcagaatcaaaggctattatgca

ttcaaactggctgaagagaaatctaaacccagatttggattcttcacatctgattttaaagc
taaatcctcaatacaattttacaacaaagtgatcagcagcaggggcttccctttgagaaca
gtagttctagatgcagtcagacccaagaaaatacagagtgcactgtctgcttattccttgtg
cagaagaaaccactgatattcctgggttgttgcttcttctccaccctggttctactcttatc
aattgccatttttcaaaggcagaagagaagaaagttttggaaagcaaaaaacttacaacaca
taccattaaagaaaggcaagagagttgttagc

(SEQ ID NO: 298)

Trình tự axit amin của beta klotho từ khỉ cynomolgus (cyno), tên khoa học Macaca fascicularis, được nêu dưới đây:

```
   1 MKPGCAAGSP GNEWIFFSTD EITIRYRNTM SNGGLQRSVI LSALTLLRAV
  51 TGFSGDGRAV WSKNPNFTPV NESQLFLYDT FPKNFFWGVG TGALQVEGSW
 101 KKDGKGPSIW DHFVHTHLKN VSSTNGSSDS YIFLEKDLSA LDFIGVSFYQ
 151 FSISWPRLFP DGIVTVANAK GLQYYNTLLD SLVLRNIEPI VTLYHWDLPL
 201 ALQEKYGGWK NDTIIDIFND YATYCFQTFG DRVKYWITIH NPYLVAWHGY
 251 GTGMHAPGEK GNLAAVYTVG HNLIKAHSKV WHNYNTHFRP HQKGWLSITL
 301 GSHWIEPNRS ENTMDILKCQ QSMVSVLGWF ANPIHGDGDY PEGMKKKLLS
 351 ILPLFSEAEK NEVRGTADFF AFSFGPNNFK PLNTMAKMGQ NVSLNLREAL
 401 NWIKLEYNNP RILIAENGWF TDSHVKTEDT TAIYMMKNFL SQVLQAIRLD
 451 EIRVFGYTAW SLLDGFEWQD AYTIRRGLFY VDFNSKQKER KPKSSAHYYK
 501 QIIRENGFSL KEATPDVQGQ FPCDFSWGVT ESVLKPESVA SSPQFSDPYL
 551 YVWNATGNRL LHRVEGVRLK TRPAQCTDFV NIKKQLEMLA RMKVTHYRFA
 601 LDWASVLPTG NLSAVNRQAL RYYRCVVSEG LKLGISAMVT LYYPTHAHLG
 651 LPEPLLHAGG WLNPSTVEAF QAYAGLCFQE LGDLVKLWIT INEPNRLSDI
 701 YNRSGNDTYG AAHNLLVAHA LAWRLYDRQF RPSQRGAVSL SLHADWAEPA
 751 NPYADSHWRA AERFLQFEIA WFAEPLFKTG DYPAAMREYI ASKHRRGLSS
 801 SALPRLTEAE RRLLKGTVDF CALNHFTTRF VMHEQLAGSR YDSDRDIQFL
 851 QDITRLSSPT RLAVIPWGVR KLLRWVRRNY GDMDIYITAS GIDDQALEDD
 901 RLRKYYLEKY LQEVLKAYLI DKVRIKGYYA FKLAEEKSKP RFGFFTSDFK
 951 AKSSIQFYNK MISSSGFPSE NSSSRCSQTQ KNTECTVCLF LVQKKPLIFL
1001 GCCFFSTLVL LLSITIFHRQ KRRKFWKAKN LQHIPLKKGK RVLS
```

(SEQ ID NO: 299)

Trình tự axit nucleic mã hóa của beta klotho của khỉ cyno được nêu dưới đây:

atgaagcctggatgtgccgccggaagccccggcaacgagtggatcttcttcagcaccgacga
gatcaccatccggtacagaaacaccatgagcaacggcggcctgcagcggagcgtgatcctgt
ctgctctgaccctgctgagagccgtgaccggcttcagcggagatggcagagccgtgtggtcc
aagaaccccaacttcacccccgtgaacgagagccagctgttcctgtacgataccttccccaa
gaacttcttctggggcgtgggcacaggcgccctgcaggtggaaggatcctggaagaaggacg
gcaagggccccagcatctgggaccactttgtgcacacccacctgaagaacgtgtccagcacc
aacggcagcagcgacagctacatctttctggaaaaggacctgagcgccctggacttcatcgg
cgtgtccttctaccagttcagcatcagctggcccagactgttccccgacggcatcgtgacag
tggccaatgccaagggcctgcagtactacaacaccctgctggacagcctggtgctgcggaac
atcgagcccatcgtgaccctgtaccactgggacctgccactggctctgcaggagaaatacgg
cggctggaagaacgacaccatcatcgacatcttcaacgactacgccacctactgcttccaga
ccttcggcgacagagtgaagtactggatcacaatccacaacccctacctggtggcctggcac
ggctatggcaccggaatgcatgcccctggcgagaagggaaatctggccgccgtgtacaccgt
gggccacaacctgatcaaggcccacagcaaagtgtggcacaactacaatacccacttccggc
cccaccagaagggctggctgtctatcacactgggcagccactggatcgagcctaaccgcagc
gagaacaccatggacatcctgaagtgccagcagagcatggtgtccgtgctgggatggttcgc
caaccccattcacggcgacggcgattaccccgagggcatgaagaagaagctgctgagcatcc
tgcccctgttcagcgaggccgagaagaacgaagtgcggggcaccgccgatttcttcgccttt
agcttcggccccaacaacttcaagcccctgaataccatggccaagatgggccagaatgtgtc
cctgaacctgagagaggccctgaactggatcaagctggagtacaacaacccccggatcctga
tcgccgagaacggctggttcaccgacagccacgtgaaaaccgaggacaccaccgccatctat
atgatgaagaacttcctgagccaggtgctgcaggctatccggctggatgagatccgggtgtt
cggctacaccgcctggtcactgctggacggcttcgaatggcaggacgcctacaccatcagac
ggggcctgttctacgtggacttcaacagcaagcagaaagagcggaagcccaagagcagcgcc
cactactacaagcagatcatcagagagaatggcttcagcctgaaagaggccacccccgacgt
gcagggccagttcccttgtgatttctcttggggcgtgaccgagagcgtgctgaagcctgaaa
gcgtggccagcagcccccagttcagcgacccttacctgtacgtgtggaacgccaccggcaac
cggctgctgcatagagtggaaggcgtgcggctgaaaaccagacccgcccagtgcaccgactt
cgtgaacatcaagaaacagctggaaatgctggcccggatgaaagtgacccactacagattcg
ccctggactgggccagcgtgctgcctaccggaaatctgagcgccgtgaacagacaggccctg
cggtactacagatgcgtggtgtccgagggcctgaagctgggcatcagcgccatggtcaccct
gtactaccctacccacgcccacctgggactgcctgaacctctgctgcatgctggcggctggc
tgaaccctagcaccgtggaagcctttcaggcctacgccgggctgtgcttccaggaactgggc

gacctcgtgaagctgtggatcaccatcaacgagcccaacagactgagcgacatctacaacag
aagcggcaacgacacctacggcgctgcccacaatctgctggtggctcatgccctggcttggc
ggctgtacgacagacagttccggccttctcagcggggagccgtgtctctgtctctgcatgcc
gattgggccgagcccgccaacccttacgccgactctcattggagagccgccgagcggttcct
gcagttcgagatcgcttggtttgccgagcccctgttcaagaccggcgattaccctgccgcca
tgagagagtatatcgccagcaagcacagacggggcctgagcagctctgccctgcctagactg
accgaggccgagcggagactgctgaagggaaccgtggatttctgcgccctgaaccacttcac
caccagattcgtgatgcacgagcagctggccggcagcagatacgacagcgaccgggacatcc
agtttctgcaggacatcacccggctgagcagccctacaagactggccgtgatcccttgggga
gtgcggaagctgctgagatgggtgcgcagaaactacggcgacatggatatctacatcaccgc
cagcggcatcgacgaccaggccctggaagatgaccggctgcggaagtactacctggaaaagt
acctgcaggaagtgctgaaggcctacctgatcgacaaagtgcggatcaagggctactacgcc
ttcaagctggccgaggaaaagagcaagcccagattcggcttcttcaccagcgacttcaaggc
caagagcagcatccagttctacaacaagatgatcagcagcagcggcttccccagcgagaaca
gcagctccagatgcagccagacccagaaaaacaccgagtgtaccgtgtgcctgttcctggtg
cagaagaagcccctgatcttcctgggctgctgcttctttagcaccctggtgctgctgctgtc
catcaccatcttccaccggcagaagcggagaaagttctggaaggccaaaaacctgcagcaca
tccccctgaagaaaggcaagcgggtgctgagctga

(SEQ ID NO: 300)

Trình tự axit amin của beta klotho tương đồng từ chuột nhắt, tên khoa học Mus musculus, được nêu dưới đây:

```
  1 MKTGCAAGSP GNEWIFFSSD ERNTRSRKTM SNRALQRSAV LSAFVLLRAV
 51 TGFSGDGKAI WDKKQYVSPV NPSQLFLYDT FPKNFSWGVG TGAFQVEGSW
101 KTDGRGPSIW DRYVYSHLRG VNGTDRSTDS YIFLEKDLLA LDFLGVSFYQ
151 FSISWPRLFP NGTVAAVNAQ GLRYYRALLD SLVLRNIEPI VTLYHWDLPL
201 TLQEEYGGWK NATMIDLFND YATYCFQTFG DRVKYWITIH NPYLVAWHGF
251 GTGMHAPGEK GNLTAVYTVG HNLIKAHSKV WHNYDKNFRP HQKGWLSITL
301 GSHWIEPNRT DNMEDVINCQ HSMSSVLGWF ANPIHGDGDY PEFMKTGAMI
351 PEFSEAEKEE VRGTADFFAF SFGPNNFRPS NTVVKMGQNV SLNLRQVLNW
401 IKLEYDDPQI LISENGWFTD SYIKTEDTTA IYMMKNFLNQ VLQAIKFDEI
451 RVFGYTAWTL LDGFEWQDAY TTRRGLFYVD FNSEQKERKP KSSAHYYKQI
501 IQDNGFPLKE STPDMKGRFP CDFSWGVTES VLKPEFTVSS PQFTDPHLYV
```

551 WNVTGNRLLY RVEGVRLKTR PSQCTDYVSI KKRVEMLAKM KVTHYQFALD
601 WTSILPTGNL SKVNRQVLRY YRCVVSEGLK LGVFPMVTLY HPTHSHLGLP
651 LPLLSSGGWL NMNTAKAFQD YAELCFRELG DLVKLWITIN EPNRLSDMYN
701 RTSNDTYRAA HNLMIAHAQV WHLYDRQYRP VQHGAVSLSL HCDWAEPANP
751 FVDSHWKAAE RFLQFEIAWF ADPLFKTGDY PSVMKEYIAS KNQRGLSSSV
801 LPRFTAKESR LVKGTVDFYA LNHFTTRFVI HKQLNTNRSV ADRDVQFLQD
851 ITRLSSPSRL AVTPWGVRKL LAWIRRNYRD RDIYITANGI DDLALEDDQI
901 RKYYLEKYVQ EALKAYLIDK VKIKGYYAFK LTEEKSKPRF GFFTSDFRAK
951 SSVQFYSKLI SSSGLPAENR SPACGQPAED TDCTICSFLV EKKPLIFFGC
1001 CFISTLAVLL SITVFHHQKR RKFQKARNLQ NIPLKKGHSR VFS

(SEQ ID NO: 301)

Trình tự axit nucleic mã hóa của beta klotho của chuột nhắt được nêu dưới đây:

atgaagacaggctgtgcagcagggtctccggggaatgaatggattttcttcagctctgatga
aagaaacacacgctctaggaaaacaatgtccaacagggcactgcaaagatctgccgtgctgt
ctgcgtttgttctgctgcgagctgttaccggcttctccggagacgggaaagcaatatgggat
aaaaaacagtacgtgagtccggtaaacccaagtcagctgttcctctatgacactttccctaa
aaacttttcctggggcgttgggaccggagcatttcaagtggaagggagttggaagacagatg
gaagaggaccctcgatctgggatcggtacgtctactcacacctgagaggtgtcaacggcaca
gacagatccactgacagttacatctttctggaaaaagacttgttggctctggatttttagg
agtttctttttatcagttctcaatctcctggccacggttgtttcccaatggaacagtagcag
cagtgaatgcgcaaggtctccggtactaccgtgcacttctggactcgctggtacttaggaat
atcgagcccattgttaccttgtaccattgggatttgcctctgacgctccaggaagaatatgg
gggctggaaaaatgcaactatgatagatctcttcaacgactatgccacatactgcttccaga
cctttggagaccgtgtcaaatattggattacaattcacaacccttaccttgttgcttggcat
gggtttggcacaggtatgcatgcaccaggagagaagggaaatttaacagctgtctacactgt
gggacacaacctgatcaaggcacattcgaaagtgtggcataactacgacaaaaacttccgcc
ctcatcagaagggttggctctccatcaccttggggtcccattggatagagccaaacagaaca
gacaacatggaggacgtgatcaactgccagcactccatgtcctctgtgcttggatggttcgc
caaccccatccacggggacggcgactaccctgagttcatgaagacgggcgccatgatccccg
agttctctgaggcagagaaggaggaggtgaggggcacggctgatttctttgccttttccttc
gggcccaacaacttcaggccctcaaacaccgtggtgaaaatgggacaaaatgtatcactcaa

cttaaggcaggtgctgaactggattaaactggaatacgatgaccctcaaatcttgatttcgg
agaacggctggttcacagatagctatataaagacagaggacaccacggccatctacatgatg
aagaatttcctaaaccaggttcttcaagcaataaaatttgatgaaatccgcgtgtttggtta
tacggcctggactctcctggatggctttgagtggcaggatgcctatacgacccgacgagggc
tgttttatgtggactttaacagtgagcagaaagagaggaaacccaagtcctcggctcattac
tacaagcagatcatacaagacaacggcttccctttgaaagagtccacgccagacatgaaggg
tcggttcccctgtgatttctcttggggagtcactgagtctgttcttaagcccgagtttacgg
tctcctccccgcagtttaccgatcctcacctgtatgtgtggaatgtcactggcaacagattg
ctctaccgagtggaaggggtaaggctgaaaacaagaccatcccagtgcacagattatgtgag
catcaaaaaacgagttgaaatgttggcaaaaatgaaagtcacccactaccagtttgctctgg
actggacctctatccttcccactggcaatctgtccaaagttaacagacaagtgttaaggtac
tataggtgtgtggtgagcgaaggactgaagctgggcgtcttccccatggtgacgttgtacca
cccaacccactcccatctcggcctcccccctgccacttctgagcagtgggggtggctaaaca
tgaacacagccaaggccttccaggactacgctgagctgtgcttccgggagttgggggacttg
gtgaagctctggatcaccatcaatgagcctaacaggctgagtgacatgtacaaccgcacgag
taatgacacctaccgtgcagcccacaacctgatgatcgcccatgcccaggtctggcacctct
atgataggcagtataggccggtccagcatggggctgtgtcgctgtccttacattgcgactgg
gcagaacctgccaacccctttgtggattcacactggaaggcagccgagcgcttcctccagtt
tgagatcgcctggtttgcagatccgctcttcaagactggcgactatccatcggttatgaagg
aatacatcgcctccaagaaccagcgagggctgtctagctcagtcctgccgcgcttcaccgcg
aaggagagcaggctggtgaagggtaccgtcgacttctacgcactgaaccacttcactacgag
gttcgtgatacacaagcagctgaacaccaaccgctcagttgcagacagggacgtccagttcc
tgcaggacatcacccgcctaagctcgcccagccgcctggctgtaacaccctggggagtgcgc
aagctccttgcgtggatccggaggaactacagagacagggatatctacatcacagccaatgg
catcgatgacctggctctagaggatgatcagatccgaaagtactacttggagaagtatgtcc
aggaggctctgaaagcatatctcattgacaaggtcaaaatcaaaggctactatgcattcaaa
ctgactgaagagaaatctaagcctagatttggatttttcacctctgacttcagagctaagtc
ctctgtccagttttacagcaagctgatcagcagcagtggcctccccgctgagaacagaagtc
ctgcgtgtggtcagcctgcggaagacacagactgcaccatttgctcatttctcgtggagaag
aaaccactcatcttcttcggttgctgcttcatctccactctggctgtactgctatccatcac
cgtttttcatcatcaaaagagaagaaaattccagaaagcaaggaacttacaaaatataccat
tgaagaaaggccacagcagagttttcagc

(SEQ ID NO: 302)

Trình tự axit amin của beta klotho của chuột cống, tên khoa học Rattus norvegicus, được nêu dưới đây:

MKTGCAAGSPGNEWVFFSSDERSTRSRKTMSNGALQRSAVLSALVLLRAVTGFSG
DGKAIWDKKQYVSPVNPGQLFLYDTFPKNFSWGVGTGAFQVEGSWKADGRGPSI
WDRYVDSHLRGVNSTDRSTDSYVFLEKDLLALDFLGVSFYQFSISWPRLFPNGTVA
AVNAKGLQYYRALLDSLVLRNIEPIVTLYHWDLPLTLQEEYGGWKNATMIDLFNDYA
TYCFQTFGDRVKYWITIHNPYLVAWHGFGTGMHAPGEKGNLTAVYTVGHNLIKAHS
KVWHNYDKNFRPHQKGWLSITLGSHWIEPNRTENMEDVINCQHSMSSVLGWFAN
PIHGDGDYPEFMKTSSVIPEFSEAEKEEVRGTADFFAFSFGPNNFRPSNTVVKMGQ
NVSLNLRQVLNWIKLEYDNPRILISENGWFTDSYIKTEDTTAIYMMKNFLNQVLQAIK
FDEIQVFGYTAWTLLDGFEWQDAYTTRRGLFYVDFNSEQKERKPKSSAHYYKQIIQ
DNGFPLQESTPDMKGQFPCDFSWGVTESVLKPEFTVSSPQFTDPHLYVWNVTGN
RLLYRVEGVRLKTRPSQCTDYVSIKKRVEMLAKMKVTHYQFALDWTSILPTGNLSKI
NRQVLRYYRCVVSEGLKLGISPMVTLYHPTHSHLGLPMPLLSSGGWLNTNTAKAFQ
DYAGLCFKELGDLVKLWITINEPNRLSDMYNRTSNDTYRAAHNLMIAHAQVWHLYD
RQYRPVQHGAVSLSLHSDWAEPANPYVESHWKAAERFLQFEIAWFADPLFKTGDY
PLAMKEYIASKKQRGLSSSVLPRFTLKESRLVKGTIDFYALNHFTTRFVIHKQLNTNC
SVADRDVQFLQDITRLSSPSRLAVTPWGMRKLLGWIRRNYRDMDIYVTANGIDDLA
LEDDQIRKYYLEKYVQEALKAYLIDKVKIKGYYAFKLTEEKSKPRFGFFTSDFKAKSS
VQFYSKLISSSGFSSENRSPACGQPPEDTECAICSFLTQKKPLIFFGCCFISTLAALL
SITIFHHRKRRKFQKARNLQNIPLKKGHSRVFS (SEQ ID NO:356)

Trình tự axit nucleic mã hóa của beta klotho của chuột cống được nêu dưới đây:

ATGAAGACAGGCTGTGCAGCAGGGTCTCCAGGGAATGAATGGGTTTTCTTCAG
CTCTGATGAAAGAAGCACACGCTCTAGGAAAACAATGTCCAACGGAGCACTGC
AAAGATCTGCCGTGCTGTCTGCATTGGTTCTGCTGCGAGCTGTTACCGGCTTCT
CTGGAGACGGAAAAGCAATATGGGATAAAAAACAATACGTGAGTCCGGTAAACC
CAGGTCAGCTGTTCCTCTATGACACTTTCCCTAAAAACTTTTCCTGGGGCGTTG
GGACCGGAGCATTTCAAGTGGAAGGGAGTTGGAAGGCAGATGGAAGAGGACC
CTCGATCTGGGACCGTTATGTCGACTCACACCTGAGAGGTGTCAACAGCACAG
ACAGATCCACTGACAGTTATGTCTTTCTGGAAAAGGACTTGCTGGCTCTGGATT
TTTTAGGAGTTTCTTTTTATCAGTTCTCAATCTCCTGGCCGCGGTTGTTCCCCAA
CGGAACAGTAGCAGCTGTGAATGCAAAAGGTCTCCAGTACTACAGAGCACTTCT

GGACTCGCTGGTACTTAGGAATATCGAACCCATTGTTACCTTATACCATTGGGA
TTTGCCTTTGACGCTACAGGAAGAATATGGGGGCTGGAAAAATGCAACTATGAT
AGATCTCTTCAATGACTATGCCACATACTGCTTCCAGACCTTTGGAGACCGTGT
CAAATATTGGATTACAATTCACAACCCTTACCTCGTTGCTTGGCATGGGTTTGGC
ACAGGTATGCATGCGCCAGGAGAGAAGGGAAATTTAACAGCTGTCTACACTGT
GGGACACAACCTGATCAAGGCGCATTCGAAAGTGTGGCATAACTACGACAAAA
ACTTCCGCCCTCATCAGAAGGGTTGGCTCTCCATCACCTTGGGGTCCCATTGG
ATAGAACCAAACAGAACAGAAAACATGGAGGACGTGATCAACTGCCAGCACTC
CATGTCTTCTGTGCTCGGATGGTTTGCCAACCCCATCCACGGAGACGGCGACT
ACCCCGAGTTCATGAAGACGAGCTCCGTAATCCCTGAGTTCTCTGAGGCAGAG
AAGGAGGAGGTGCGGGGCACTGCTGACTTCTTTGCCTTTTCCTTCGGGCCCAA
CAATTTCAGGCCCTCGAACACCGTGGTAAAAATGGGACAAAATGTATCACTCAA
CTTAAGACAGGTGCTGAACTGGATTAAACTAGAATATGACAACCCTCGAATCTT
GATTTCGGAGAACGGCTGGTTCACAGATAGTTATATAAAGACGGAAGATACCAC
GGCCATCTACATGATGAAGAATTTCCTCAACCAGGTTCTTCAAGCAATAAAGTTT
GATGAAATACAAGTGTTTGGTTATACGGCTTGGACTCTCCTGGATGGCTTTGAG
TGGCAGGATGCCTACACGACCCGACGAGGGCTGTTTTATGTGGACTTTAATAGT
GAGCAGAAAGAGAGGAAACCCAAGTCCTCCGCTCATTACTACAAACAGATTATA
CAAGACAACGGTTTCCCTTTGCAAGAATCCACACCAGACATGAAGGGTCAGTTT
CCCTGTGACTTCTCCTGGGGAGTCACTGAGTCTGTTCTTAAGCCGGAGTTTACG
GTGTCCTCCCCACAGTTTACTGATCCTCACCTGTATGTGTGGAATGTCACTGGC
AACAGATTGCTATACCGAGTGGAAGGAGTCAGGCTAAAAACAAGACCGTCCCA
ATGCACAGATTATGTGAGCATCAAAAAACGAGTTGAAATGTTGGCCAAAATGAA
AGTCACCCACTACCAGTTTGCTCTGGACTGGACCTCTATCCTCCCTACCGGAAA
TCTGTCTAAAATTAATAGACAAGTGTTGAGGTACTATAGGTGTGTGGTGAGCGA
AGGACTGAAGCTGGGCATCTCCCCTATGGTGACGTTGTACCACCCGACCCACT
CCCATCTAGGCCTCCCCATGCCACTTCTGAGCAGTGGGGGATGGCTAAACACC
AACACAGCCAAGGCCTTCCAGGACTACGCAGGCCTGTGCTTCAAGGAGCTGGG
GGACTTGGTAAAGCTCTGGATCACCATCAATGAACCCAATAGGCTGAGTGACAT
GTACAACCGCACGAGTAACGACACCTACCGTGCGGCCCACAACCTGATGATCG
CCCATGCCCAGGTCTGGCACCTCTATGATAGGCAGTATAGGCCGGTCCAGCAC
GGGGCTGTGTCGCTGTCCTTACATTCCGACTGGGCAGAACCTGCCAACCCCTA
TGTGGAGTCTCACTGGAAGGCAGCCGAGCGCTTCCTCCAGTTTGAGATCGCCT
GGTTTGCGGATCCACTCTTCAAGACTGGTGACTACCCGCTGGCCATGAAGGAA

TACATCGCCTCCAAGAAGCAGCGAGGGCTGTCTAGCTCAGTCCTGCCGCGCTT
TACCTTGAAGGAGAGCAGGCTGGTGAAGGGGACCATCGACTTTTACGCACTGA
ACCACTTCACTACTAGATTCGTGATACACAAGCAGTTGAATACCAACTGCTCAGT
GGCAGACAGGGACGTCCAGTTCCTGCAGGACATCACCCGCCTGAGCTCGCCC
AGTCGCCTAGCCGTAACGCCCTGGGGAATGCGCAAGCTCCTTGGGTGGATCC
GGAGGAACTACAGAGACATGGATATCTACGTCACAGCCAATGGCATTGATGATC
TTGCTCTAGAGGACGATCAGATTAGAAAGTACTACTTGGAGAAGTACGTCCAGG
AGGCTCTGAAAGCATATCTGATTGACAAGGTCAAAATCAAAGGCTACTATGCAT
TCAAACTGACTGAAGAGAAATCTAAGCCTAGATTTGGATTTTTCACATCTGACTT
CAAAGCTAAATCTTCTGTACAGTTTTATAGCAAGCTGATCAGCAGCAGCGGCTT
CTCCTCTGAGAACAGAAGTCCTGCCTGTGGTCAGCCTCCAGAAGACACAGAAT
GCGCCATTTGCTCCTTCCTTACACAGAAGAAACCACTCATCTTCTTTGGTTGTTG
CTTCATCTCCACTCTGGCTGCACTGCTATCAATCACTATTTTTCATCATCGGAAG
AGAAGAAAATTCCAGAAAGCAAGGAACTTACAAAATATACCATTGAAGAAAGGG
CACAGCAGAGTTTTTAGCTAA (SEQ ID NO:357)

Trình tự axit amin của beta klotho của chuột túi má, tên khoa học Cricetulus griseus, được nêu dưới đây:

MKAGCAAGSPGNEWIFLSSYERNTRSKKTMSNRALQRSVVLSAFVLLRAVTGLSG
DGKAIWDKKQYVSPVNASQLFLYDTFPKNFFWGVGTGAFQVEGNWQADGRGPSI
WDRFIYTHLRDVSITEKSADSYIFLEKDLLALDFLGVSFYQFSISWPRLFPNGTVASV
NAKGLQYYNKLLDSLILRNIEPVVTLYHWDLPLALQEDYGGWKNATMIDLFNDYATY
CFQTFGDRVKYWITIHNPYLVAWHGFATGMHAPGETGNLTAVYIVGHNLIKAHSKV
WHNYDKNFRPHQKGLLSITLGSHWIEPNKTENMADTISCQHSMAFVLGWFANPIHA
DGDYPEFMKTLSTMPVFSEAEKEEVRGTADFFAFSFGPNNFRPSNTVVKMGQNVS
LNLRQVLNWIKLEYDNPRILISENGWFTDSDIKTEDTTAIYMMKHFLNQVLQAIQFDEI
RVFGYTAWSLLDGFEWQYAYTSRRGLFYVDFNSEQKERKPKTSAHYYKQIIQENG
FPLKESTPDMQGQFPCDFSWGVTESVLKPEFMVSSPQFTDPHLYVWNATGNRLL
QRVEGVRLKTKPSHCTDYVSIKKRVEMLAKMKVTHYQFALDWATILPTGNLSEVNR
QVLRYYRCVVSEGLKLGVSPMVTLYHPTHSHLGLPEPLLNSGGWLNTYTAKAFQD
YAGLCFQELGDLVKLWITINEPNRLSDMYNRTSNDTYRAAHNLMIAHAQVWRLYDR
QYRPVQHGAVSLSLHSDWVEPANPYVDSHWKAAERFLLFEIAWFADPLFKTGDYP
LAMKEYIASKNQQGLSRSVLPRFTPEESRLVKGTIDFYALNHFTTRFVIHKQLNSSR

SMADRDVQFLQDITRLSSPSRLAVMPWGARKLLGWIQRNYGDMDIYITANGIDDLA
LENDGIRKYYLEKYIQEALKAYLIDKVKIKGYYAFKLTEEKSKPRFGFFTSDFKAKSS
VEFYSKLISRSGFPSETSNPACGQPPEDTDCTICSFFTQKKSLIFFGCCFISTLAVLLS
ITIFHHRKRRFHKSKNLENIPLKEGHSRVLS (SEQ ID NO: 408

Trình tự axit nucleic mã hóa của beta klotho của chuột túi má được nêu dưới đây:

atgtccaacagggcactgcaaagatctgtcgtgctgtcagcgtttgttctgctgcgagctgttaccggattgtctggagac
gggaaagcgatatgggataaaaaacagtacgtgagtccggtgaatgcaagtcagctgtttctctatgacactttcccta
aaaacttttctggggtgttggaactggagcatttcaagtggaagggaattggcaggcagacggaagaggaccctcg
atttgggatcgtttcatctacacacacctgagagatgtcagcatcacagagaaatccgccgacagttacatttttctgga
aaaagatttgttggctctggatttttaggagtttctttttatcagttctcaatctcctggccacggttgttccccaatggaaca
gtagcatccgtgaatgcaaaaggtctccaatactacaacaaacttctggactcgctgatacttaggaatattgagcccg
ttgttaccttataccattgggatttgcctttggcgctacaggaagactatgggggttggaaaaatgcaactatgatagatc
tcttcaatgactatgccacatactgcttccagacctttggagaccgtgtcaagtattggattacaattcacaacccttacct
ggttgcttggcatgggtttgccacaggtatgcatgcgccaggagagacgggaaatttaacagctgtctacattgtggga
cacaacctgatcaaggctcattcgaaagtgtggcataactacgacaaaaacttccgcccccatcagaagggtttgct
gtccattaccttggggtcccactggatagaaccaaacaaaacagaaaacatggccgatacaatcagctgccagca
ctctatggcttttgtgcttgggtggtttgccaaccccatccatgcagacggcgactaccctgagttcatgaaaacattgtc
caccatgccagtgttctctgaggcagagaaggaggaggtgaggggcacagctgacttctttgccttttccttgggccc
aacaatttcaggccctcgaacactgtagtgaaaatgggacaaaatgtatcactcaacttaagacaggtgctgaactg
gattaaattagaatatgacaaccctcgaatcttgatttcggagaatggctggttcacagatagtgacataaagacaga
ggacaccacagccatctacatgatgaagcatttcctcaaccaggttcttcaagcaatacagtttgatgaaatacgagtg
tttggttacacggcctggtctctcctggatggctttgaatggcagtatgcctacacgtctcgccgaggactgttttatgtgga
ctttaatagtgaacagaaagaaaggaaacccaagacctcggcacattactacaaacagatcatacaagaaaatgg
tttcccttgaaagagtccacgccagacatgcagggtcagtttccctgtgacttctcctgggggtcaccgagtctgttctt
aagccggagtttatggtttcctccccacagtttaccgaccctcacctgtatgtgtggaatgccactggcaacagattgct
acagcgagtagaaggagtaaggctaaaaacaaaaccatcccactgcacagactatgttagcatcaaaaaacgag
ttgagatgttggccaaaatgaaagtcacccactaccagtttgctctggactgggccaccatccttcccactggcaatctg
tctgaagttaatagacaagtactaaggtactataggtgtgtggtgagcgaaggactgaagctgggcgtctctcccatg
gtgacgttgtaccaccccacccactcccatctaggcctccctgagccgcttcttaacagtgggggatggctaaacactt
acaccgccaaggccttccaggactacgcaggactgtgcttccaggaactaggggacttggtgaagctctggatcac
catcaatgagcctaataggctgagtgacatgtacaaccgcacgagtaatgacacctaccgtgcagcccataacctg

atgattgcccatgcccaggtctggcgtctctacgacaggcagtataggccagtccagcatggagctgtgtcgctgtccc
tacattctgactgggtggaacctgccaacccctatgtggactcacactggaaggcagcggagcgcttcctcctgtttga
gatcgcctggttcgctgatccgctcttcaagactggcgactatccactggccatgaaggagtacatcgcctccaagaa
ccagcaagggctgtcccgctcagtcctgccgcgcttcaccccagaggagagcaggctggtgaagggcaccatcga
cttctacgcactgaaccacttcactactaggttcgtgatacacaaacagctcaacagcagccgctctatggcagacag
ggacgtccagttcctgcaggacatcacccgcctgagctcgcccagccgcctggctgttatgccctggggagcacgca
agctgcttgggtggatccagaggaactatggggacatggacatctacatcacagccaatggcatcgatgatctggct
ctggagaatgatgggatccgaaagtactacttggagaagtacatccaggaggctctgaaagcatacctcattgacaa
agtcaaaatcaaaggctattatgcattcaaactgactgaagagaaatctaagcctagatttggatttttcacatctgactt
caaagctaagtcatctgtagagttttatagcaagttgatcagcagaagtggcttcccctctgagactagcaatcccgcat
gtggtcagcctccagaagacacagactgcaccatctgctcatttttcactcagaagaaatctctgatcttctttggttgttg
cttcatctccactctggctgtactgctgtcaatcaccatttttcatcatcgaaagagaagatttcataaatcaaagaactta
gaaaatataccattgaaggaaggccacagtagagttcttagctaa (SEQ ID NO: 409)

Trình tự axit amin của beta klotho của thỏ, tên khoa học Oryctolagus cuniculus, được nêu dưới đây:

MKPGCAAGSPGNEWVSFCTDERNRRCRETMSSGRLRRSVMLSAFILLRAVTGFP
GDGRAVWSQNPNLSPVNESQLFLYDTFPKNFFWGVGTGAFQVEGSWKKDGKGL
SVWDHFIATHLNVSSRDGSSDSYIFLEKDLSALDFLGVSFYQFSISWPRLFPDGTVA
VANAKGLQYYNRLLDSLLLRNIEPVVTLYHWDLPWALQEKYGGWKNETLIDLFNDY
ATYCFQTFGDRVKYWITIHNPYLVAWHGYGTGLHAPGEKGNVAAVYTVGHNLLKA
HSKVWHNYNRNFRPHQKGWLSITLGSHWIEPNRAESIVDILKCQQSMVSVLGWFA
NPIHGDGDYPEVMTKKLLSVLPAFSEAEKNEVRGTADFFAFSFGPNNFKPLNTMAK
MGQNVSLNLRQVLNWIKLEYGNPRILIAENGWFTDSYVQTEDTTAIYMMKNFLNQV
LQAIRLDGVRVFGYTAWSLLDGFEWQDAYNTRRGLFYVDFNSEQRERRPKSSAHY
YKQVIGENGFTLREATPDLQGQFPCDFSWGVTESVLKPESVASSPQFSDPHLYVW
NATGNRMLHRVEGVRLKTRPAQCTDFITIKKQLEMLARMKVTHFRFALDWASVLPT
GNLSEVNRQALRYYRCVVTEGLKLNISPMVTLYYPTHAHLGLPAPLLHSGGWLDPS
TAKAFRDYAGLCFRELGDLVKLWITINEPNRLSDVYNRTSNDTYQAAHNLLIAHALV
WHLYDRQYRPSQRGALSLSLHSDWAEPANPYVASHWQAAERFLQFEIAWFAEPLF
KTGDYPVAMREYIASKTRRGLSSSVLPRFSDAERRLVKGAADFYALNHFTTRFVMH
EQQNGSRYDSDRDVQFLQDITRLASPSRLAVMPWGEGKLLRWMRNNYGDLDVYI
TANGIDDQALQNDQLRQYYLEKYVQEALKAYLIDKIKIKGYYAFKLTEEKSKPRFGFF

TSDFKAKSSIQFYNKLITSNGFPSENGGPRCNQTQGNPECTVCLLLLQKKPLIFFSC
CFFCTLVLLSSITIFHRRKRRKFWKAKDLQHIPLKKGHKRVLS (SEQ ID NO: 410)

Trình tự axit nucleic mã hóa của beta klotho của thỏ được nêu dưới đây:

tgaagccgtgataagacggtcccgcagttcgtggcaaatgaagccaggctgtgcggcaggatctccagggaatga
atgggtttccttctgcaccgatgaaagaaacagacgctgtagggaaacgatgtccagcggacgcctgcggagatct
gtcatgctgtcagccttcatcctgctgcgagccgtgactgggttccccggagacggaagagctgtatggtcgcaaaat
cctaatttgagtccggtaaacgaaagtcagctgtttctctatgacactttcccaaaaaactttttctggggtgtggggactg
gagccttccaagtggaagggagttggaagaaggatgggaaaggactctctgtatgggatcatttcatcgctacacac
ctgaacgtcagcagccgcgatggctccagtgacagctacatttttttggagaaagacttatcggcgctggatttttagg
agtctcttttatcagttttcaatttcctggccaagactgttcccggatggcacagtagcagtcgccaatgcaaaaggtctc
cagtactataatcggctcctggactctctgctacttagaaacattgaacctgtagtcactttataccattgggatctgccttg
ggcgctacaagaaaaatacgggggtggaaaaacgagacgttgattgatttattcaatgactatgccacctactgtttc
cagacgtttggggaccgtgtcaaatactggatcaccattcacaatccctatctggtggcttggcatggctacgggacag
gtctgcatgctccgggagagaaggggaatgtggcagctgtctacactgtgggacacaacctgcttaaggctcattca
aaagtctggcacaactacaacaggaatttccgcccgcatcagaaaggctggctgtcgatcacgctgggatcccact
ggattgagccaaacagagcggaaagcatcgtggacatactcaagtgccagcagtccatggtctcggtgctgggctg
gtttgccaacccgatccacggggacggggactacccagaggtgatgacaaagaagctgctctccgtcctgcccgctt
tctcagaagcagagaagaacgaggtacgaggcaccgcagacttctttgcctttcgtttggacccaacaacttcaagc
ccttaaacaccatggctaaaatggggcagaatgtgtcactcaatctaagacaggtgctgaactggattaaactggaat
atggcaaccctcgaatcctgatcgctgagaacggctggttcacagacagttacgtgcaaacagaagacaccacag
ccatctacatgatgaagaatttcctcaaccaggttcttcaagcaataaggttggatggagtccgagtgtttggctacact
gcctggtctctcctggatggcttcgaatggcaggacgcttacaacacccgccgtggactgttttatgtggacttcaacag
cgaacagagagaaagaaggcccaagtcctcggcgcattactataaacaggtcataggagaaaacggcttcacgc
tcagagaggccaccccggatctgcaggggcagtttccctgtgacttctcctggggcgtcaccgagtctgttcttaagcc
cgagtcggtggcttcctcgccacagttcagcgaccctcacctctacgtgtggaacgccactggcaaccgaatgcttca
ccgggtggaaggggtgaggctgaaaacacggcccgctcagtgcacagatttcatcaccatcaagaaacaactcga
gatgttggcaagaatgaaagtcacccacttccggtttgctctggactgggcctcggtccttcccacgggcaacctgtcc
gaggtgaaccgacaagccctgaggtactacaggtgtgtggtcaccgaggggctgaagctcaacatctcgcccatgg
tcaccttgtactacccgacccatgcccacctgggcctgcccgcgccgctgctgcacagcgggggtggctggaccc
atccacggccaaggccttccgcgactacgcagggctgtgcttccgggagctgggggacctggtgaagctctggatc
accatcaacgagcccaaccggctgagcgacgtctacaaccgcaccagcaacgacacctaccaggccgcccaca
acctgctgatcgcgcacgcgctcgtgtggcacctgtacgaccgccagtaccggccgtcgcagcgcggggcgctgtc

gctgtccctgcactcggactgggccgagcccgccaacccctacgtggcctcgcactggcaggcggccgagcgcttc
ctgcagttcgagattgcgtggttcgccgagcccctgttcaagaccggggactacccggtggccatgagggagtacat
cgcctccaagacccggcgcgggctctccagctccgtgctgccccgcttcagcgacgccgagcggcggctggtcaa
gggcgccgccgacttctacgccctcaaccacttcaccaccaggttcgtgatgcacgagcagcagaacggcagccg
ctacgactcggacagggacgtgcagttcctgcaggacatcacccgcctggcctcacccagccgcctggccgtgatg
ccctggggcgagggcaagctgctgcggtggatgcggaacaactacggagacctggacgtctacatcacggccaat
ggcatcgacgaccaggccctgcagaacgaccagcttcgccagtactacctggagaagtacgtccaggaggctctg
aaagcatatctgatagataaaataaaaatcaaaggctattatgcattcaaactgactgaagaaaaatctaaacccag
gtttggattcttcacctctgatttcaaagccaagtcttcaatacagttttacaacaaactaattaccagcaacggcttcccg
tctgagaacggcggtcctagatgcaatcagactcaaggaaatcccgagtgcaccgtctgcttactcctcctgcagaa
gaagccgctgatattctttagctgctgcttcttctgcaccctggttctactctcatcaattaccatctttcacagacggaaga
gaagaaaatttggaaagcaaaggacttacaacacataccattaaagaaaggccacaagagagtccttagctaaa
gtgaacttatttctctctgaagagtttagaaattcactccagttccatatgctggtaacacaaaagacatacccgtattgta
cacagagtatttgagatactgtgctaaccaaggcgatgacaatcaaaacctctgccatgtggttgaatgcattttccctt
aagcggtgacaatcagcgaactcagttcttggttctaaaggaggcttcgcactgccactaggctatgagtattacctga
cgcattgctttgtcaagtttgatgagctgtttcgcatcattctctagctttctttagataccaatagctactatggtaaaagttgt
ttttaaaagtcaaactctgtaaggcttcacagcagatttaaaactattctttacactggatctgtgattttgtcactcgtagca
aggtgctttccccttttggtcctagtggctctcaaatagaaagcaaacacatcttagggtaatctacttatctatagccaat
cacagcactgacccacaactacacaaatccgttagctcttctccataaaacacctaattttgtgatcttttaagtaatctg
aaatgtaaaagtatgacttccgtaacccatctcatggaaagatcgactaaggagagccatacccagctgtgaggac
aatttagtcactaatctcaccgtactgcaacttcctcctttagagcaggcattccttaccatttttgtaagatgacatgattta
gcatctagaacccctatctgcagtttctttctatggcttacctacatttcaagaatattgaacggaaaatttcagaaagattt
ccaagttttaaattgtgtactagcattagtgcatgatgaaatctcattttctttgctccatcctgcacaggatgtgaaacatc
cctctgtccagcaagtccaagctacctatattactcacttgatagtcaccatggttatccagctgttattacttgctcatacc
caggtaacccttttttattttaatatagctccaaagtataagactagtgatgaaaaggaggtaagtcatcaaatatggaa
ggacagattaactctggcactaagtgggaatgctgcaggttttacaggaaaacaaaattcagtcagtggtttaaagca
tcctctgaggtacctggggcacaatctccacagataaggggaaagagcactgacaaagactaaacatcctaaaaa
gacgcaatgttctacttactggccatcagaataatggccaaaggaccctatacttgcttgctctctagccaagtttcgctg
cacataggtgtagaatgcagcgactgaccctggatgcgattcagaatgctgatctgagtgaactagttttttatacagca
ctttttaaagcctagaattcttccatctgaacttgggagttttgacttttttgaaattaattgtgcttaagatttattcagtgattct
aaacactggaggtagaaaactgtatacccattatgcctattaatttttcttgattagccaacatttaaataaccacaaagt
ggccagtcgttgtctttccctttcaggaatttaagtcaaaggatgctgctgcctgcgatgctggcacttcataggggtgac
agtttgtgtccctgcggttccacttcctatccagctccctgctaatggcttgggagagccctgcacccacatgggagacc
caaaagcagatcctgctgctttcagcctgctgcggccacttggagtatgaaccagtggatggaagatcaatgtctctcc

caacaattctttgaataaatttttttcaaaagtcaaaataaaattctccagctcaaaaagctttagtagaaaacgatcctac
attaaggcggttgtgattgtatcccaagtgcatctacgttacaaaccaaattgagtatgcaattcagtatgctactagact
ataaggagaaaacagccaattcaaacaaaataccaaagtcacgtgcagttaatttgctttctggttggccaaatgttttt
ttctcttcttgccaccactgttttacatgtactttagaagaaattttgacttttgcttcctttgagaaatcactattatcaaaggc
aattcataattacaagtggtccattgtcttaagagctcaagattatagcccttcaaacttgccaaactcctcaaatagtga
agctcctaacgaagggtttacaacatcctgttccttaggggttatatttttaagtgactgtaatttacctaacaaatttaatct
ggctatctattggtaatacatgtaatattcaggtttatcataaacccacttaaaaactaaaggttaagtggaagttgctgct
tttcaaagtaacaggcttctcaggggaaaatatcaccttagcgtccacctggtactacatctcgtgtattcactgtaaccc
atctttccgaacatgtctgatatatatggaaacaacactagtgcttagcctctggaaatgaggccaggattttgtgattaa
atgtctaatttattccaaataaactgatttacgccaata (SEQ ID NO: 411)

Trình tự axit amin của beta klotho của chó, tên khoa học Canis lupus familiaris, được nêu dưới đây:

MKPGCAAGSPGNEWIFLSTDESNTHYRKTMCNHGLQRSVILSAFILLGAVPGFSGD
GRAIWSKNPHFSPVNESQLFLYDTFPKNFFWGVGTGAFQVEGNWKTDGKGPSIW
DHFIHTHLKNVNSMNSSSDSYIFLEKDLSALDFIGVSFYQFSISWPRLFPDGIAAVAN
AKGLQYYNSLLDALVLRNIEPIVTLYHWDLPLALQEKYGGWKNETITDIFNDYATYCF
QTFGDRVKYWITIHNPYLVAWHGYGTGMHAPGEKGNLAAVYTVGHNLIKAHSKVW
HNYNTNFRPYQKGLLSITLGSHWIEPNRSENMMDILKCQQSMVSVLGWFANPIHGN
GDYPEVMKKKLLSTLPLFSEAEKNEVRGTADFFAFSFGPNNFKPQNTMAKMGQNV
SLNLREVLNWIKLEYGNPRILIAENGWFTDSHVKTEDTTAIYMMKNFLNQVLQAIRFD
EIQVFGYTAWSLLDGFEWQDAYSTRRGLFYVDFNSKQKERKPKSSAYYYKQIIQEN
GFTFKESTPDVQGQFPCDFSWGVTESVLKPKVVASSPQFSDPHLYVWNVTGNRLL
HRVEGVRLKTRPAQCTDFVSIKRQLEMLARMNVTHYRFALDWPSILPTGNLSTVNR
QALRYYRCVVSESLKLSISPMVTLYYPTHAHLGLPSPLLHSGGWLNASTARAFQDY
AGLCFQELGDLVKLWITINEPNRLSDVYSHTSSDTYRAAHNLLIAHALVWHLYDRRY
RPAQRGAVSLSLHSDWAEPANPYADSHWKAAERFLQFEIAWFAEPLFKTGDYPPA
MREYIASKNRQGLSRSTLPRFTDEERRLVKGAADFYALNHFTTRFVMHARQNGSR
YDADRDVQFLQDITCLSSPSRLAVLPWGERKVLRWIQKNYGDVDVYITASGIDDQS
LENDELRKYYLEKYIQEALKAHLIDKVKVKGYYAFKLTEEKSKPRFGFFTSEFKAKSS
VQLYNKLISNSGFPSENRSPRCSETQRNTECMVCLFLVQKKPLIFFSCCFFSTLVLL
SSITILHKRKRRKIWKAKNLQHIPLKKSKNSLQS (SEQ ID NO: 412)

Trình tự axit nucleic mã hóa của beta klotho của chó được nêu dưới đây:

acaatcacaagcttttactgaagcgttgataagacaggcgagcagttagtggcaaatgaagccaggctgtgcggctg
gatctccagggaatgaatggattttcctcagcaccgatgaaagcaacacacactataggaaaacaatgtgcaacca
cgggctacagagatctgtcatcctgtcagcatttattctcctaggagctgttcctggattctctggagacggaagagctat
atggtctaaaaatcctcattttagtccggtaaatgaaagtcagctgtttctctatgacacttttcctaaaaacttttttggggc
gttgggactggagcatttcaagtggaagggaattggaagacagatggaaaaggaccctctatatgggatcatttcatc
cacacacaccttaaaaatgtcaacagcatgaatagttccagtgacagttacatttttctggaaaaagacctatcagccc
tggattttatcggagtttctttttatcaattttcaatttcctggccaaggcttttccccgatggaatagcagcagttgccaacgc
aaaaggtctccagtactacaattctcttctcgatgctctagtacttaggaacattgaacctatagttactttataccattggg
atttgcctttggcactacaagaaaaatatgggggtggaaaaatgaaaccataacggatatcttcaatgactatgcca
cctactgtttccagacgttcggggatcgtgtcaaatactggattacaattcacaatccatatctagttgcttggcatgggta
tgggacaggtatgcacgcgcctggagagaagggaaacttagcagctgtctacactgtgggacacaacctaatcaa
ggctcattcgaaagtttggcataactacaacacaaatttccgcccatatcagaagggtttgttatcaatcacgttgggat
cccattggattgaaccaaacagatcagaaaacatgatggatatactcaaatgtcaacaatccatggtttcagtgctcg
ggtggtttgccaaccccatccatgggaatggagactatccagaagtgatgaaaaagaagttgctctccactctacccc
ttttctctgaagcagagaagaatgaagtgaggggcacagctgacttctttgccttttcctttggacccaacaatttcaagc
cccagaacaccatggctaaaatgggacaaaatgtgtcactcaatttaagagaagtgctgaattggattaaactggaa
tatggcaacccccgaatcttgattgctgagaatggctggttcacagacagtcatgtgaaaacagaagataccacagc
catttacatgatgaagaatttcctcaaccaggttcttcaagcaataaggtttgacgaaatacaagtgtttggctacactgc
ttggtctctcctggatggctttgaatggcaggatgcttactccactcgccgaggattattttatgtggattttaatagtaaaca
aaaagaaagaaagcccaagtcttcggcatattactataaacagatcatacaagaaaatggttttactttcaaagagtc
caccccagatgtgcagggtcagtttccctgtgacttctcatggggtgtcaccgaatctgtccttaagcccaaagtcgtgg
cttcctccccacagttcagcgaccctcacctgtacgtgtggaatgtgacaggcaacagactgttgcaccgagtggaag
gggtgaggctgaagacacggccggctcaatgcacagattttgtcagcatcaaaagacaacttgagatgttggcgag
gatgaacgtcactcactacaggtttgctctggactggccctccatccttcccaccggcaacctgtccacggttaaccga
caagccctgaggtactacaggtgtgtggtcagcgagtcgctgaagctcagcatctccccgatggtcacgctgtactac
ccgacccacgcccacctgggcctcccctcgccgctgctgcacagcgggggctggctgaacgcgtccaccgcccgc
gccttccaggactatgccgggctgtgcttccaggagctgggggacctggtgaagctctggatcaccatcaatgagcc
caaccggctgagtgacgtctacagccacaccagcagcgacacctaccgggcagcgcacaacctgctgatcgccc
acgccctggtgtggcacctgtacgaccggcggtaccggccggcgcagcgcggggccgtgtcgctgtccctgcactc
ggactgggcggagcccgccaacccctacgccgactcgcactggaaggcggccgagcgcttcctgcagttcgaaat
cgcctggttcgccgagccgctcttcaagaccggggactacccgccggccatgagggagtacatcgcctccaagaa
caggcaggggctctcgcgctccaccctgccccgcttcaccgacgaggagaggaggctggtcaagggcgccgccg
acttctacgcgctgaaccacttcaccaccaggttcgtgatgcacgcgcgccagaacggcagccgctacgacgcgg
accgcgacgtccagttcctgcaggacatcacctgcctgagctccccagccgcctggccgtcctgccctgggggga

gcgcaaggtgctcaggtggatccagaagaactacggagacgtggacgtgtacatcacggccagtggcatcgatga
ccagtctctggaaaatgatgagctcagaaaatactacttggagaaatacatccaggaggctctgaaagcacaccta
attgataaagtcaaagtcaaaggctattatgcattcaaactgactgaagaaaaatctaaacccagatttggattcttcac
gtctgaattcaaagctaaatcctcagttcagctttacaacaaactgatcagcaacagtggcttcccttctgagaacagg
agtcctagatgcagtgagactcaaagaaacacagagtgcatggtctgcttatttcttgtgcaaaagaaaccactgatat
tctttagttgttgcttcttctctaccctggttctactttcatcgattaccattcttcataagcgaaagagaagaaaaatttggaa
agcaaagaacttacaacatataccattaaagtgaggccacagaaagttcttagtgaaactgatcctatttctgtctgcat
gatagaaagtctaaaaattcactccagtcccaaatactggtaacatagaagacaatttgaaacactagtagtaacca
aggtgatgacaatcaaggtctctgctgtgtggtccaaatgaattttccattaggtgttgacatcactgaatacagttttag
atctgaagactaagatctagagagtaagctaggattatctgatacaatgcttcattaagtttaataagctgttatccatcat
tcttctctggcttccttctagaaataccaatagctaattatagcaacttagaaaaaagtgcaacttttgctagactccatag
cagaaatctaaaactcttaacactggatattcagtgattattctatcacttctaacaaggtgcttttccccctttagaagatat
acaatagggtaaatagtgctcctttatcatccattccagcacttttttttccagcatagactcttaaacacattgatcctagtt
tttctcaatagaaataaaaaatcatttagaaaacatggaattttgtgaggtctctccttgcattagatctgagttttttttaaaa
aaaagacttaacttccataacccatctcatgggaagatcacaggactaagattaaggagagttagacccatcaactg
cctgaggagacagcactcaacctcacagtacagcaaattccttgggacaaactgacagcaatcttccgcacttggat
tgttgaggcagcacacaagatcttaacatacttaggaaagttaaatattctaaaaagatgtaaagttttatttttattatcaa
gtcttcaaaggaccatattattccataagacttgctctctcctgagttccactcttctgacactatgtgtatatggggacact
caaactgcaccttgacattgcaactttggatacaattcagaatgtaaatgtttgaaggacttaaaactttctccactgcac
cttttgaagctgggattaagtaaatacgaactgggagtttgacttttttgaactctgtgcttgatttattcactgtattctaaattt
taaggaaaacctgaatgtaaacccattcatacccttttctttgggttagtaaacatttaaccacccatttca (SEQ ID
NO: 413).

Trình tự axit amin của protein khảm beta klotho của người/chuột nhắt (KLB (M1-F508) của người-KLB (P507-S1043) của chuột nhắt) được nêu dưới đây:

MKPGCAAGSPGNEWIFFSTDEITTRYRNTMSNGGLQRSVILSALILLRAVTGFSGDG
RAIWSKNPNFTPVNESQLFLYDTFPKNFFWGIGTGALQVEGSWKKDGKGPSIWDH
FIHTHLKNVSSTNGSSDSYIFLEKDLSALDFIGVSFYQFSISWPRLFPDGIVTVANAK
GLQYYSTLLDALVLRNIEPIVTLYHWDLPLALQEKYGGWKNDTIIDIFNDYATYCFQM
FGDRVKYWITIHNPYLVAWHGYGTGMHAPGEKGNLAAVYTVGHNLIKAHSKVWHN
YNTHFRPHQKGWLSITLGSHWIEPNRSENTMDIFKCQQSMVSVLGWFANPIHGDG
DYPEGMRKKLFSVLPIFSEAEKHEMRGTADFFAFSFGPNNFKPLNTMAKMGQNVS
LNLREALNWIKLEYNNPRILIAENGWFTDSRVKTEDTTAIYMMKNFLSQVLQAIRLDE

IRVFGYTAWSLLDGFEWQDAYTIRRGLFYVDFNSKQKERKPKSSAHYYKQIIRENG
FPLKESTPDMKGRFPCDFSWGVTESVLKPEFTVSSPQFTDPHLYVWNVTGNRLLY
RVEGVRLKTRPSQCTDYVSIKKRVEMLAKMKVTHYQFALDWTSILPTGNLSKVNRQ
VLRYYRCVVSEGLKLGVFPMVTLYHPTHSHLGLPLPLLSSGGWLNMNTAKAFQDY
AELCFRELGDLVKLWITINEPNRLSDMYNRTSNDTYRAAHNLMIAHAQVWHLYDRQ
YRPVQHGAVSLSLHCDWAEPANPFVDSHWKAAERFLQFEIAWFADPLFKTGDYPS
VMKEYIASKNQRGLSSSVLPRFTAKESRLVKGTVDFYALNHFTTRFVIHKQLNTNRS
VADRDVQFLQDITRLSSPSRLAVTPWGVRKLLAWIRRNYRDRDIYITANGIDDLALE
DDQIRKYYLEKYVQEALKAYLIDKVKIKGYYAFKLTEEKSKPRFGFFTSDFRAKSSV
QFYSKLISSSGLPAENRSPACGQPAEDTDCTICSFLVEKKPLIFFGCCFISTLAVLLSI
TVFHHQKRRKFQKARNLQNIPLKKGHSRVFS (SEQ ID NO:374).

Trình tự axit nucleic mã hóa của protein khảm beta klotho của người/chuột nhắt được nêu dưới đây:

ATGAAGCCAGGCTGTGCGGCAGGATCTCCAGGGAATGAATGGATTTTCTTCAG
CACTGATGAAATAACCACACGCTATAGGAATACAATGTCCAACGGGGGATTGCA
AAGATCTGTCATCCTGTCAGCACTTATTCTGCTACGAGCTGTTACTGGATTCTCT
GGAGATGGAAGAGCTATATGGTCTAAAAATCCTAATTTTACTCCGGTAAATGAAA
GTCAGCTGTTTCTCTATGACACTTTCCCTAAAAACTTTTTCTGGGGTATTGGGAC
TGGAGCATTGCAAGTGGAAGGGAGTTGGAAGAAGGATGGAAAAGGACCTTCTA
TATGGGATCATTTCATCCACACACACCTTAAAAATGTCAGCAGCACGAATGGTT
CCAGTGACAGTTATATTTTTCTGGAAAAAGACTTATCAGCCCTGGATTTTATAGG
AGTTTCTTTTTATCAATTTTCAATTTCCTGGCCAAGGCTTTTCCCCGATGGAATA
GTAACAGTTGCCAACGCAAAAGGTCTGCAGTACTACAGTACTCTTCTGGACGCT
CTAGTGCTTAGAAACATTGAACCTATAGTTACTTTATACCACTGGGATTTGCCTT
TGGCACTACAAGAAAAATATGGGGGGTGGAAAAATGATACCATAATAGATATCT
TCAATGACTATGCCACATACTGTTTCCAGATGTTTGGGGACCGTGTCAAATATTG
GATTACAATTCACAACCCATATCTAGTGGCTTGGCATGGGTATGGGACAGGTAT
GCATGCCCCTGGAGAGAAGGGAAATTTAGCAGCTGTCTACACTGTGGGACACA
ACTTGATCAAGGCTCACTCGAAAGTTTGGCATAACTACAACACACATTTCCGCC
CACATCAGAAGGGTTGGTTATCGATCACGTTGGGATCTCATTGGATCGAGCCAA
ACCGGTCGGAAAACACGATGGATATATTCAAATGTCAACAATCCATGGTTTCTG
TGCTTGGATGGTTTGCCAACCCTATCCATGGGGATGGCGACTATCCAGAGGGG

ATGAGAAAGAAGTTGTTCTCCGTTCTACCCATTTTCTCTGAAGCAGAGAAGCAT
GAGATGAGAGGCACAGCTGATTTCTTTGCCTTTTCTTTTGGACCCAACAACTTCA
AGCCCCTAAACACCATGGCTAAAATGGGACAAAATGTTTCACTTAATTTAAGAGA
AGCGCTGAACTGGATTAAACTGGAATACAACAACCCTCGAATCTTGATTGCTGA
GAATGGCTGGTTCACAGACAGTCGTGTGAAAACAGAAGACACCACGGCCATCT
ACATGATGAAGAATTTCCTCAGCCAGGTGCTTCAAGCAATAAGGTTAGATGAAA
TACGAGTGTTTGGTTATACTGCCTGGTCTCTCCTGGATGGCTTTGAATGGCAGG
ATGCTTACACCATCCGCCGAGGATTATTTTATGTGGATTTTAACAGTAAACAGAA
AGAGCGGAAACCTAAGTCTTCAGCACACTACTACAAACAGATCATACGAGAAAA
TGGTTTTCCTTTGAAAGAGTCCACGCCAGACATGAAGGGTCGGTTCCCCTGTGA
TTTCTCTTGGGGAGTCACTGAGTCTGTTCTTAAGCCCGAGTTTACGGTCTCCTC
CCCGCAGTTTACCGATCCTCACCTGTATGTGTGGAATGTCACTGGCAACAGATT
GCTCTACCGAGTGGAAGGGGTAAGGCTGAAAACAAGACCATCCCAGTGCACAG
ATTATGTGAGCATCAAAAAACGAGTTGAAATGTTGGCAAAAATGAAAGTCACCC
ACTACCAGTTTGCTCTGGACTGGACCTCTATCCTTCCCACTGGCAATCTGTCCA
AAGTTAACAGACAAGTGTTAAGGTACTATAGGTGTGTGGTGAGCGAAGGACTGA
AGCTGGGCGTCTTCCCCATGGTGACGTTGTACCACCCAACCCACTCCCATCTC
GGCCTCCCCCTGCCACTTCTGAGCAGTGGGGGGTGGCTAAACATGAACACAGC
CAAGGCCTTCCAGGACTACGCTGAGCTGTGCTTCCGGGAGTTGGGGGACTTGG
TGAAGCTCTGGATCACCATCAATGAGCCTAACAGGCTGAGTGACATGTACAACC
GCACGAGTAATGACACCTACCGTGCAGCCCACAACCTGATGATCGCCCATGCC
CAGGTCTGGCACCTCTATGATAGGCAGTATAGGCCGGTCCAGCATGGGGCTGT
GTCGCTGTCCTTACATTGCGACTGGGCAGAACCTGCCAACCCCTTTGTGGATTC
ACACTGGAAGGCAGCCGAGCGCTTCCTCCAGTTTGAGATCGCCTGGTTTGCAG
ATCCGCTCTTCAAGACTGGCGACTATCCATCGGTTATGAAGGAATACATCGCCT
CCAAGAACCAGCGAGGGCTGTCTAGCTCAGTCCTGCCGCGCTTCACCGCGAAG
GAGAGCAGGCTGGTGAAGGGTACCGTCGACTTCTACGCACTGAACCACTTCAC
TACGAGGTTCGTGATACACAAGCAGCTGAACACCAACCGCTCAGTTGCAGACA
GGGACGTCCAGTTCCTGCAGGACATCACCCGCCTAAGCTCGCCCAGCCGCCT
GGCTGTAACACCCTGGGGAGTGCGCAAGCTCCTTGCGTGGATCCGGAGGAAC
TACAGAGACAGGGATATCTACATCACAGCCAATGGCATCGATGACCTGGCTCTA
GAGGATGATCAGATCCGAAAGTACTACTTGGAGAAGTATGTCCAGGAGGCTCT
GAAAGCATATCTCATTGACAAGGTCAAAATCAAAGGCTACTATGCATTCAAACTG
ACTGAAGAGAAATCTAAGCCTAGATTTGGATTTTTCACCTCTGACTTCAGAGCTA

AGTCCTCTGTCCAGTTTTACAGCAAGCTGATCAGCAGCAGTGGCCTCCCCGCT
GAGAACAGAAGTCCTGCGTGTGGTCAGCCTGCGGAAGACACAGACTGCACCAT
TTGCTCATTTCTCGTGGAGAAGAAACCACTCATCTTCTTCGGTTGCTGCTTCATC
TCCACTCTGGCTGTACTGCTATCCATCACCGTTTTTCATCATCAAAAGAGAAGAA
AATTCCAGAAAGCAAGGAACTTACAAAATATACCATTGAAGAAAGGCCACAGCA
GAGTTTTCAGCTGA (SEQ ID NO:375)

Trình tự axit amin của protein khảm beta klotho của chuột nhắt/người (KLB (M1-F506) của chuột nhắt - KLB(S509-S1044) của người) được nêu dưới đây:

MKTGCAAGSPGNEWIFFSSDERNTRSRKTMSNRALQRSAVLSAFVLLRAVTGFSG
DGKAIWDKKQYVSPVNPSQLFLYDTFPKNFSWGVGTGAFQVEGSWKTDGRGPSI
WDRYVYSHLRGVNGTDRSTDSYIFLEKDLLALDFLGVSFYQFSISWPRLFPNGTVA
AVNAQGLRYYRALLDSLVLRNIEPIVTLYHWDLPLTLQEEYGGWKNATMIDLFNDYA
TYCFQTFGDRVKYWITIHNPYLVAWHGFGTGMHAPGEKGNLTAVYTVGHNLIKAHS
KVWHNYDKNFRPHQKGWLSITLGSHWIEPNRTDNMEDVINCQHSMSSVLGWFAN
PIHGDGDYPEFMKTGAMIPEFSEAEKEEVRGTADFFAFSFGPNNFRPSNTVVKMG
QNVSLNLRQVLNWIKLEYDDPQILISENGWFTDSYIKTEDTTAIYMMKNFLNQVLQAI
KFDEIRVFGYTAWTLLDGFEWQDAYTTRRGLFYVDFNSEQKERKPKSSAHYYKQII
QDNGFSLKESTPDVQGQFPCDFSWGVTESVLKPESVASSPQFSDPHLYVWNATG
NRLLHRVEGVRLKTRPAQCTDFVNIKKQLEMLARMKVTHYRFALDWASVLPTGNLS
AVNRQALRYYRCVVSEGLKLGISAMVTLYYPTHAHLGLPEPLLHADGWLNPSTAEA
FQAYAGLCFQELGDLVKLWITINEPNRLSDIYNRSGNDTYGAAHNLLVAHALAWRLY
DRQFRPSQRGAVSLSLHADWAEPANPYADSHWRAAERFLQFEIAWFAEPLFKTGD
YPAAMREYIASKHRRGLSSSALPRLTEAERRLLKGTVDFCALNHFTTRFVMHEQLA
GSRYDSDRDIQFLQDITRLSSPTRLAVIPWGVRKLLRWVRRNYGDMDIYITASGIDD
QALEDDRLRKYYLGKYLQEVLKAYLIDKVRIKGYYAFKLAEEKSKPRFGFFTSDFKA
KSSIQFYNKVISSRGFPFENSSSRCSQTQENTECTVCLFLVQKKPLIFLGCCFFSTLV
LLLSIAIFQRQKRRKFWKAKNLQHIPLKKGKRVVS (SEQ ID NO:376)

Trình tự axit nucleic mã hóa của protein khảm beta klotho của chuột nhắt/người được nêu dưới đây:

ATGAAGACAGGCTGTGCAGCAGGGTCTCCGGGGAATGAATGGATTTTCTTCAG
CTCTGATGAAAGAAACACACGCTCTAGGAAAACAATGTCCAACAGGGCACTGCA

AAGATCTGCCGTGCTGTCTGCGTTTGTTCTGCTGCGAGCTGTTACCGGCTTCTC
CGGAGACGGGAAAGCAATATGGGATAAAAAACAGTACGTGAGTCCGGTAAACC
CAAGTCAGCTGTTCCTCTATGACACTTTCCCTAAAAACTTTTCCTGGGGCGTTG
GGACCGGAGCATTTCAAGTGGAAGGGAGTTGGAAGACAGATGGAAGAGGACC
CTCGATCTGGGATCGGTACGTCTACTCACACCTGAGAGGTGTCAACGGCACAG
ACAGATCCACTGACAGTTACATCTTTCTGGAAAAAGACTTGTTGGCTCTGGATTT
TTTAGGAGTTTCTTTTTATCAGTTCTCAATCTCCTGGCCACGGTTGTTTCCCAAT
GGAACAGTAGCAGCAGTGAATGCGCAAGGTCTCCGGTACTACCGTGCACTTCT
GGACTCGCTGGTACTTAGGAATATCGAGCCCATTGTTACCTTGTACCATTGGGA
TTTGCCTCTGACGCTCCAGGAAGAATATGGGGGCTGGAAAAATGCAACTATGAT
AGATCTCTTCAACGACTATGCCACATACTGCTTCCAGACCTTTGGAGACCGTGT
CAAATATTGGATTACAATTCACAACCCTTACCTTGTTGCTTGGCATGGGTTTGGC
ACAGGTATGCATGCACCAGGAGAGAAGGGAAATTTAACAGCTGTCTACACTGTG
GGACACAACCTGATCAAGGCACATTCGAAAGTGTGGCATAACTACGACAAAAAC
TTCCGCCCTCATCAGAAGGGTTGGCTCTCCATCACCTTGGGGTCCCATTGGATA
GAGCCAAACAGAACAGACAACATGGAGGACGTGATCAACTGCCAGCACTCCAT
GTCCTCTGTGCTTGGATGGTTCGCCAACCCCATCCACGGGGACGGCGACTACC
CTGAGTTCATGAAGACGGGCGCCATGATCCCCGAGTTCTCTGAGGCAGAGAAG
GAGGAGGTGAGGGGCACGGCTGATTTCTTTGCCTTTTCCTTCGGGCCCAACAA
CTTCAGGCCCTCAAACACCGTGGTGAAAATGGGACAAAATGTATCACTCAACTT
AAGGCAGGTGCTGAACTGGATTAAACTGGAATACGATGACCCTCAAATCTTGAT
TTCGGAGAACGGCTGGTTCACAGATAGCTATATAAAGACAGAGGACACCACGG
CCATCTACATGATGAAGAATTTCCTAAACCAGGTTCTTCAAGCAATAAAATTTGA
TGAAATCCGCGTGTTTGGTTATACGGCCTGGACTCTCCTGGATGGCTTTGAGTG
GCAGGATGCCTATACGACCCGACGAGGGCTGTTTTATGTGGACTTTAACAGTGA
GCAGAAAGAGAGGAAACCCAAGTCCTCGGCTCATTACTACAAGCAGATCATACA
AGACAACGGCTTCTCTTTAAAAGAGTCCACGCCAGATGTGCAGGGCCAGTTTCC
CTGTGACTTCTCCTGGGGTGTCACTGAATCTGTTCTTAAGCCCGAGTCTGTGGC
TTCGTCCCCACAGTTCAGCGATCCTCATCTGTACGTGTGGAACGCCACTGGCAA
CAGACTGTTGCACCGAGTGGAAGGGGTGAGGCTGAAAACACGACCCGCTCAAT
GCACAGATTTTGTAAACATCAAAAAACAACTTGAGATGTTGGCAAGAATGAAAGT
CACCCACTACCGGTTTGCTCTGGATTGGGCCTCGGTCCTTCCCACTGGCAACC
TGTCCGCGGTGAACCGACAGGCCCTGAGGTACTACAGGTGCGTGGTCAGTGA
GGGGCTGAAGCTTGGCATCTCCGCGATGGTCACCCTGTATTATCCGACCCACG

CCCACCTAGGCCTCCCCGAGCCTCTGTTGCATGCCGACGGGTGGCTGAACCCA
TCGACGGCCGAGGCCTTCCAGGCCTACGCTGGGCTGTGCTTCCAGGAGCTGG
GGGACCTGGTGAAGCTCTGGATCACCATCAACGAGCCTAACCGGCTAAGTGAC
ATCTACAACCGCTCTGGCAACGACACCTACGGGGCGGCGCACAACCTGCTGGT
GGCCCACGCCCTGGCCTGGCGCCTCTACGACCGGCAGTTCAGGCCCTCACAG
CGCGGGGCCGTGTCGCTGTCGCTGCACGCGGACTGGGCGGAACCCGCCAAC
CCCTATGCTGACTCGCACTGGAGGGCGGCCGAGCGCTTCCTGCAGTTCGAGAT
CGCCTGGTTCGCCGAGCCGCTCTTCAAGACCGGGGACTACCCCGCGGCCATG
AGGGAATACATTGCCTCCAAGCACCGACGGGGGCTTTCCAGCTCGGCCCTGCC
GCGCCTCACCGAGGCCGAAAGGAGGCTGCTCAAGGGCACGGTCGACTTCTGC
GCGCTCAACCACTTCACCACTAGGTTCGTGATGCACGAGCAGCTGGCCGGCAG
CCGCTACGACTCGGACAGGGACATCCAGTTTCTGCAGGACATCACCCGCCTGA
GCTCCCCCACGCGCCTGGCTGTGATTCCCTGGGGGGTGCGCAAGCTGCTGCG
GTGGGTCCGGAGGAACTACGGCGACATGGACATTTACATCACCGCCAGTGGCA
TCGACGACCAGGCTCTGGAGGATGACCGGCTCCGGAAGTACTACCTAGGGAA
GTACCTTCAGGAGGTGCTGAAAGCATACCTGATTGATAAAGTCAGAATCAAAGG
CTATTATGCATTCAAACTGGCTGAAGAGAAATCTAAACCCAGATTTGGATTCTTC
ACATCTGATTTTAAAGCTAAATCCTCAATACAATTTTACAACAAAGTGATCAGCA
GCAGGGGCTTCCCTTTTGAGAACAGTAGTTCTAGATGCAGTCAGACCCAAGAAA
ATACAGAGTGCACTGTCTGCTTATTCCTTGTGCAGAAGAAACCACTGATATTCCT
GGGTTGTTGCTTCTTCTCCACCCTGGTTCTACTCTTATCAATTGCCATTTTTCAA
AGGCAGAAGAGAAGAAAGTTTTGGAAAGCAAAAAACTTACAACACATACCATTA
AAGAAAGGCAAGAGAGTTGTTAGCTAG (SEQ ID NO:377)

Các polypeptit beta klotho có liên quan bao gồm các biến thể alen (ví dụ, biến thể SNP); các biến thể nối; mảnh; dẫn xuất; biến thể thay thế, xóa (mất đoạn), và chèn (cài đoạn); polypeptit dung hợp; và chất đồng đẳng giữa các loài, tốt hơn là, giữ hoạt tính beta klotho và/hoặc đủ để tạo ra đáp ứng miễn dịch kháng beta klotho. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này đánh giá rằng, kháng thể kháng beta klotho đề xuất trong bản mô tả này có thể gắn kết với polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, kháng nguyên beta klotho, và/hoặc epitop beta klotho. Epitop có thể là một phần của kháng nguyên beta klotho lớn hơn, mà có thể là một phần của mảnh polypeptit beta klotho lớn hơn, nói cách khác, có thể là một phần của polypeptit beta klotho lớn hơn. Beta klotho có thể tồn tại ở dạng tự nhiên hoặc dạng bị biến tính. Polypeptit beta klotho được mô tả trong bản mô tả này có thể được tách từ các nguồn

khác nhau, như từ các loại mô của người hoặc từ các nguồn khác, hoặc được điều chế bằng phương pháp tái tổ hợp hoặc phương pháp tổng hợp. Polypeptit beta klotho có thể gồm polypeptit có cùng trình tự axit amin như polypeptit beta klotho tương ứng có nguồn gốc từ tự nhiên. Polypeptit beta klotho bao gồm các dạng cụt hoặc tiết của polypeptit beta klotho (ví dụ, trình tự miền ngoại bào), các dạng biến thể (ví dụ, dạng ghép nối thay thế) và các biến thể alen của polypeptit. Thể tương đồng cùng nguồn với polypeptit beta klotho cũng được biết rõ trong tình trạng kỹ thuật.

Thuật ngữ "beta klotho" bao gồm beta klotho chưa xử lý, có "chiều dài đầy đủ" cũng như dạng beta klotho bất kỳ nhờ việc xử lý trong tế bào. Thuật ngữ này còn bao gồm các biến thể có trong tự nhiên hoặc các đột biến của beta klotho (ví dụ, các biến thể ghép, biến thể alen, biến thể SNP và chất đồng đẳng). Polypeptit beta klotho được mô tả trong bản mô tả này có thể được tách từ các nguồn khác nhau, như từ các loại mô của người hoặc từ các nguồn khác, hoặc được điều chế bằng phương pháp tái tổ hợp hoặc phương pháp tổng hợp.

Các thuật ngữ "tín hiệu giống FGF19" và "gây ra tín hiệu giống FGF19," khi dùng cho protein gắn kết như kháng thể mà gắn kết với beta klotho theo sáng chế, nghĩa là protein gắn kết (ví dụ, kháng thể) bắt chước, hoặc điều biến, hiệu quả sinh học *in vivo* gây ra do sự gắn kết của (i) beta klotho; (ii) FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c, và FGFR4; hoặc (iii) phức hợp chứa beta klotho và một trong số FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c và FGFR4 và gây ra phản ứng sinh học mặt khác làm cho FGF19 gắn kết với (i) beta klotho; (ii) FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c hoặc FGFR4; hoặc (iii) phức hợp chứa beta klotho và một trong số FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c và FGFR4 *in vivo*. Để đánh giá tính gắn kết và tính đặc hiệu của kháng thể kháng beta klotho, ví dụ, kháng thể hoặc mảnh kháng thể, mà gắn kết với beta klotho (ví dụ, beta klotho của người), kháng thể hoặc mảnh kháng thể được cho rằng gây ra phản ứng sinh học khi phản ứng này bằng hoặc lớn hơn 5%, và tốt hơn là bằng hoặc lớn hơn 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% hoặc 95%, hoạt tính FGF19 kiểu dại chuẩn bao gồm dạng thuần thục của SEQ ID NO:304 (ví dụ, dạng thuần thục của FGF19 của người) và có các đặc điểm sau: bộc lộ mức độ hiệu quả bằng hoặc lớn hơn 5% FGF19 chuẩn, có giá trị EC50 bằng hoặc nhỏ hơn 100 nM, *ví dụ,* 90 nM, 80 nM, 70 nM, 60 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 20 nM hoặc 10 nM trong

(1) thử nghiệm tế bào mang gen thông báo luciferaza qua trung gian thụ thể FGF19 tái tổ hợp (xem ví dụ 4); (2) ERK-phosphoryl hóa trong thử nghiệm tế bào qua trung gian thụ thể FGF19 tái tổ hợp (xem ví dụ 4); hoặc (3) ERK-phosphoryl hóa trong tế bào tạo mỡ của người (xem ví dụ 5).

Thuật ngữ "FGF19R" có thể đề cập đến phức hợp thụ thể nhiều monome mà FGF19 là đã biết hoặc nghi ngờ tạo ra *in vivo*. Theo các phương án khác nhau, FGF19R chứa (i) FGFR, *ví dụ,* FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c hoặc FGFR4, và (ii) beta klotho.

Thuật ngữ "tín hiệu giống FGF21" và "gây ra tín hiệu giống FGF21," khi áp dụng cho protein gắn kết như kháng thể mà gắn kết với beta klotho của sáng chế, nghĩa là protein gắn kết (ví dụ, kháng thể) bắt chước, hoặc điều biến, hiệu quả sinh học *in vivo* gây ra do sự gắn kết của (i) beta klotho; (ii) FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c, và FGFR4; hoặc (iii) phức hợp chứa beta klotho và một trong số FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c và FGFR4 và gây ra phản ứng sinh học mặt khác làm cho FGF21 gắn kết với (i) beta klotho; (ii) FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c hoặc FGFR4; hoặc (iii) phức hợp bao gồm beta klotho và một trong số FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c và FGFR4 *in vivo*. Để đánh giá tính gắn kết và tính đặc hiệu của kháng thể kháng beta klotho, ví dụ, kháng thể hoặc mảnh kháng thể mà gắn kết với beta klotho (ví dụ, beta klotho của người), kháng thể hoặc mảnh kháng thể được cho là gây ra phản ứng sinh học khi phản ứng này bằng hoặc lớn hơn 5%, và tốt hơn là bằng hoặc lớn hơn 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% hoặc 95%, hoạt tính của FGF21 kiểu dại chuẩn bao gồm dạng thuần thục của SEQ ID NO:306 hoặc 429 (ví dụ, dạng thuần thục của trình tự FGF21 của người) và có các đặc điểm sau: bộc lộ mức độ hiệu quả bằng hoặc lớn hơn 5% FGF21 chuẩn, có giá trị EC50 bằng hoặc nhỏ hơn 100 nM, *ví dụ,* 90 nM, 80 nM, 70 nM, 60 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 20 nM hoặc 10 nM trong (1) thử nghiệm tế bào mang gen thông báo luciferaza qua trung gian thụ thể FGF21 tái tổ hợp (xem ví dụ 4); (2) ERK-phosphoryl hóa trong thử nghiệm tế bào qua trung gian thụ thể FGF21 tái tổ hợp (xem ví dụ 4); hoặc (3) ERK-phosphoryl hóa trong tế bào tạo mỡ của người (xem ví dụ 5).

Thuật ngữ "FGF21R" có thể đề cập đến phức hợp thụ thể nhiều monome mà FGF21 là đã biết hoặc nghi ngờ tạo ra *in vivo*. Theo các phương án khác nhau, FGF21R chứa (i) FGFR, *ví dụ,* FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c hoặc FGFR4, và (ii) beta klotho.

Thuật ngữ "protein gắn kết" đề cập đến protein chứa một phần (ví dụ, một hoặc nhiều vùng gắn kết như CDR) mà gắn kết với beta klotho, bao gồm beta klotho của người và/hoặc của khỉ cyno và, tùy ý, phần giá đỡ hoặc phần khung (ví dụ, một hoặc nhiều vùng giá đỡ hoặc vùng khung) cho phép phần gắn kết thông qua hình dạng ngoài mà thúc đẩy sự gắn kết protein gắn kết với polypeptit beta klotho, mảnh hoặc epitop của beta klotho. Ví dụ về protein gắn kết này bao gồm kháng thể, như kháng thể của người, kháng thể được nhân hóa; kháng thể khảm; kháng thể tái tổ hợp; kháng thể chuỗi đơn; kháng thể thể hai (diabody); kháng thể thể ba (triabody); kháng thể thể bốn (tetrabody); mảnh Fab; mảnh F(ab')2; kháng thể IgD; kháng thể IgE; kháng thể IgM; kháng thể IgG1; kháng thể IgG2; kháng thể IgG3; hoặc kháng thể IgG4, và các mảnh của chúng. Protein gắn kết có thể bao gồm, ví dụ, khung protein thay thế hoặc khung nhân tạo ghép với CDR hoặc dẫn xuất CDR. Các khung này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, khung có nguồn gốc kháng thể bao gồm các đột biến đưa vào, ví dụ, để làm ổn định cấu trúc ba chiều của protein gắn kết cũng như toàn bộ khung tổng hợp bao gồm, ví dụ, polyme tương hợp sinh học. Xem, ví dụ, Korndorfer et al., 2003, Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, 53(1):121-129 (2003); Roque *et al.*, Biotechnol. Prog. 20:639-654 (2004). Ngoài ra, chất bắt chước kháng thể peptit ("peptide antibody mimetic - PAM") có thể được sử dụng, cũng như giá đỡ dựa trên chất bắt chước kháng thể dùng các thành phần fibronectin làm khung. Trong phạm vi sáng chế này, protein gắn kết liên kết đặc hiệu hoặc liên kết chọn lọc với beta klotho, ví dụ, khi hằng số phân ly (K_D) là $\leq 10^{-8}$ M. Protein gắn kết (ví dụ, kháng thể) có thể gắn kết đặc hiệu với ái lực cao khi K_D là $\leq 10^{-9}$ M hoặc K_D là $\leq 10^{-10}$ M. Theo một số phương án, protein gắn kết (ví dụ, kháng thể) có thể gắn kết với beta klotho hoặc phức hợp chứa FGFR1c và beta klotho, bao gồm K_D nằm trong khoảng giữa 10^{-7} M và khoảng 10^{-12} M và theo các phương án khác, protein gắn kết (ví dụ, kháng thể) có thể gắn kết với K_D bằng 1-2 x 10^{-9} M.

Thuật ngữ "kháng thể" và "globulin miễn dịch" hoặc "Ig" được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả này, và được sử dụng theo nghĩa rộng nhất và bao phủ một cách cụ thể, ví dụ, kháng thể đơn dòng kháng beta klotho riêng lẻ (bao gồm chất chủ vận, chất đối kháng, kháng thể trung hòa, kháng thể đơn dòng có chiều dài đầy đủ hoặc nguyên vẹn), chế phẩm kháng thể kháng beta klotho có đặc hiệu đa epitop hoặc

epitop đơn, kháng thể đa dòng hoặc đơn trị, kháng thể đa trị, kháng thể đa đặc hiệu (ví dụ, kháng thể hai đặc hiệu với điều kiện chúng bộc lộ hoạt tính sinh học mong muốn), tạo ra từ ít nhất hai kháng thể nguyên vẹn, kháng thể kháng beta klotho chuỗi đơn, và mảnh của kháng thể kháng beta klotho, như được mô tả dưới đây. Kháng thể có thể là kháng thể của người, kháng thể được nhân hóa, kháng thể khảm và/hoặc kháng thể thuần thục ái lực cũng như kháng thể của các loài khác, ví dụ, chuột nhắt, thỏ v.v.. Thuật ngữ "kháng thể" bao gồm sản phẩm polypeptit của tế bào B trong nhóm globulin miễn dịch của polypeptit có khả năng gắn kết với kháng nguyên phân tử cụ thể và bao gồm hai cặp chuỗi polypeptit giống nhau, trong đó mỗi cặp có một chuỗi nặng (khoảng 50-70 kDa) và một chuỗi nhẹ (khoảng 25 kDa) và mỗi phần tận cùng amino của mỗi chuỗi bao gồm vùng biến đổi từ khoảng 100 đến khoảng 130 axit amin hoặc nhiều hơn và mỗi phần tận cùng carboxy của mỗi chuỗi bao gồm vùng ổn định (xem: Borrebaeck (ed.) (1995) Antibody Engineering, Second Ed., Oxford University Press.; Kuby (1997) Immunology, Third Ed., W.H. Freeman and Company, New York). Theo các phương án cụ thể, kháng nguyên phân tử cụ thể có thể được liên kết bởi kháng thể nêu trong bản mô tả này bao gồm polypeptit beta klotho, mảnh beta klotho hoặc epitop beta klotho. Các kháng thể còn bao gồm, nhưng không giới hạn ở, kháng thể tổng hợp, kháng thể đơn dòng, kháng thể được tạo ra bằng phương pháp tái tổ hợp, kháng thể đa đặc hiệu (bao gồm kháng thể hai đặc hiệu), kháng thể của người, kháng thể được nhân hóa, kháng thể được làm tương thích với lạc đà, kháng thể khảm, kháng thể biểu hiện trong tế bào (intrabodies), kháng thể kháng idiotyp (kháng-Id), và các mảnh chức năng (ví dụ, mảnh gắn kết kháng nguyên như mảnh gắn kết beta klotho) của bất kỳ trong số các kháng thể nêu trên, tức là một phần của polypeptit chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể mà giữ lại một phần hoặc toàn bộ hoạt tính gắn kết của kháng thể mà mảnh kháng thể bắt nguồn từ đó. Ví dụ không giới hạn về các mảnh chức năng (ví dụ, mảnh gắn kết kháng nguyên như mảnh gắn kết beta klotho) bao gồm Fv chuỗi đơn (scFv) (ví dụ, bao gồm một đặc hiệu, hai đặc hiệu, v.v..), mảnh Fab, mảnh F(ab'), mảnh F(ab)2, mảnh F(ab')2, các Fv liên kết bởi disulfua (sdFv), mảnh Fd, mảnh Fv, kháng thể thể hai, kháng thể thể ba, kháng thể thể bốn và kháng thể nhỏ (minibody). Đặc biệt, kháng thể nêu trong bản mô tả này bao gồm phân tử globulin miễn dịch và các phần có hoạt tính miễn dịch của phân tử globulin miễn dịch, ví dụ, miền gắn kết kháng nguyên hoặc phân tử chứa vị trí gắn kết kháng nguyên mà gắn kết với kháng nguyên

beta klotho (ví dụ, một hoặc nhiều vùng quyết định tính bổ trợ (complementarity determining region: CDR) của kháng thể kháng beta klotho). Mảnh kháng thể này có thể được tìm thấy và mô tả trong, ví dụ, tài liệu của Harlow và Lane, kháng thể: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York (1989); Myers (ed.), Molec. Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference, New York: VCH Publisher, Inc.; Huston et al., Cell Biophysics, 22:189-224 (1993); Plückthun and Skerra, Meth. Enzymol., 178:497-515 (1989) và trong tài liệu Day, E.D., Advanced Immunoche*mist*ry, Second Ed., Wiley-Liss, Inc., New York, NY (1990). Kháng thể nêu trong bản mô tả này có thể là thuộc lớp bất kỳ (ví dụ, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA và IgY), nhóm bất kỳ (ví dụ, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 và IgA2), hoặc nhóm phụ (phân nhóm) bất kỳ (ví dụ, IgG2a và IgG2b) của phân tử globulin miễn dịch. Kháng thể kháng beta klotho có thể là kháng thể chủ vận hoặc kháng thể đối kháng. Nêu trong bản mô tả này là các kháng thể chủ vận đối với beta klotho, bao gồm kháng thể mà tạo ra tín hiệu giống FGF19 và/hoặc tín hiệu giống FGF21. Kháng thể chủ vận được ưu tiên đối với beta klotho không cạnh tranh để gắn kết FGF19 và/hoặc FGF21 với thụ thể FGF bao gồm, ví dụ, FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c hoặc FGFR4c.

Thuật ngữ "yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi" đề cập đến họ các yếu tố tăng trưởng, bao gồm hai mươi hai thành phần trong họ FGF của người. Phân họ FGF19 của yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi bao gồm FGF21, FGF23 và FGF19 của người và FGF15 của chuột nhắt. Hiệu quả của các thành phần thuộc họ FGF là kết quả của việc gắn kết phụ thuộc heparin của chúng với một hoặc nhiều thành phần thuộc họ tyrosin kinaza thụ thể FGF (FGFR), bao gồm bốn thành phần mỗi thành phần có miền tyrosin kinaza, FGFR1, FGFR2, FGFR3 và FGFR4, cũng như hai biến thể ghép trong số FGFR1, FGFR2 và FGFR3. Các biến thể ghép này, xuất hiện trong exon 3 của FGFR1, FGFR2 và FGFR3, được ký hiệu là các biến thể "b" và "c" (ví dụ, FGFR1b, FGFR2b, FGFR3c, FGFR1c, FGFR2c và FGFR3c, còn được biết đến lần lượt là FGFR1(III)b, FGFR2(III)b, FGFR3(III)c, FGFR1(III)c, FGFR2(III)c và FGFR3(III)c). Ví dụ, FGF19 hướng đích và có tác dụng trên cả tế bào tạo mỡ và tế bào gan. Chuột nhắt được điều trị bằng FGF19 của người tái tổ hợp (rhFGF19), mặc dù đang ăn chế độ nhiều chất béo, thể hiện năng lượng tiêu hao tăng, quá trình oxy hóa lipit tăng, hệ số hô hấp hạ thấp và sụt cân. Hơn nữa, chuột nhắt này có mức leptin,

insulin, cholesterol và triglyxerit huyết thanh hạ thấp, và mức glucoza trong máu bình thường mặc dù đang ăn chế độ nhiều chất béo và không giảm sự ngon miệng. Ngoài ra, chuột nhắt bị béo phì thiếu leptin nhưng có gen chuyển FGF19 biểu hiện sụt cân, cholesterol và triglyxerit hạ thấp, và không phát triển bệnh đái tháo đường. Ngoài ra, chuột bị béo phì, đái tháo đường mà thiếu leptin, khi được tiêm rhFGF19, biểu hiện sự đảo chiều của các đặc điểm chuyển hóa của chuột ở dạng sụt cân và mức glucoza trong máu hạ thấp. Ví dụ, FGF21 được biểu hiện chủ yếu bởi gan và có hiệu quả chuyển hóa giống như của FGF19, như tăng cường chuyển hóa thông qua hiệu quả trên mô mỡ, sụt cân, mức glucoza trong máu hạ thấp, và chống bệnh béo phì và bệnh đái tháo đường. Chuột nhắt chuyển gen FGF21 còn chống bệnh béo phì do chế độ ăn, và, ở các mô hình loài gặm nhấm bị bệnh đái tháo đường, việc dùng FGF21 hạ thấp các mức glucoza và triglyxerit trong máu. Hiệu quả chuyển hóa của FGF19 và FGF21 xuất hiện ở thụ thể FGF gắn kết của chúng, bao gồm các thụ thể FGFR1c, FGFR2c và FGFR3c, và beta klotho cần để gắn kết. Việc gắn kết FGF19 và FGF21 với FGFR1c và FGFR2c là quan trọng. FGF19 còn được thể hiện có hiệu quả chuyển hóa khác với FGF21, bao gồm điều hòa quá trình sản xuất mật bởi gan thông qua tác dụng đặc hiệu gan của nó, điều hòa âm quá trình sản xuất mật đáp ứng việc sản xuất mật sau bữa ăn, và tác dụng phân bào ở gan mà không quan sát thấy đối với FGF21. Ví dụ, chuột nhắt chuyển gen FGF19 phát triển bệnh ung thư biểu mô tuyến ở gan do tăng sự tăng sinh và loạn sản tế bào gan, và chuột được điều trị bằng rhFGF19 có sự tăng sinh tế bào gan. Các hoạt tính khác này của FGF19 xuất hiện để tạo trung gian thông qua sự gắn kết với FGFR4. FGF19 có thể gắn kết FGFR4 cả theo cách phụ thuộc beta klotho và độc lập với beta klotho. Mặc dù FGF21 cũng đã thể hiện gắn kết FGFR4 theo cách phụ thuộc beta klotho, nhưng trước đó không quan sát thấy tín hiệu hữu hiệu từ sự gắn kết FGF21 với FGFR4.

Protein gắn kết, như kháng thể kháng beta klotho, như được bộc lộ trong bản mô tả này có thể gây ra tín hiệu giống FGF19, như được mô tả trong bản mô tả này. *In vivo*, dạng thuần thục của FGF19 là dạng hoạt tính của phân tử. Trình tự axit nucleic mã hóa FGF19 có chiều dài đầy đủ được nêu dưới đây; nucleotit mã hóa trình tự tín hiệu được gạch dưới.

atgcggagcgggtgtgtggtggtccacgtatggatcctggccggcctctggctggccgtggc
cgggcgccccctcgccttctcggacgcggggccccacgtgcactacggctggggcgaccccca
tccgcctgcggcacctgtacacctccggcccccacgggctctccagctgcttcctgcgcatc
cgtgccgacggcgtcgtggactgcgcgcggggccagagcgcgcacagtttgctggagatcaa
ggcagtcgctctgcggaccgtggccatcaagggcgtgcacagcgtgcggtacctctgcatgg
gcgccgacggcaagatgcaggggctgcttcagtactcggaggaagactgtgctttcgaggag
gagatccgcccagatggctacaatgtgtaccgatccgagaagcaccgcctcccggtctccct
gagcagtgccaaacagcggcagctgtacaagaacagaggctttcttccactctctcatttcc
tgcccatgctgcccatggtcccagaggagcctgaggacctcaggggccacttggaatctgac

atgttctcttcgcccctggagaccgacagcatggacccatttgggcttgtcaccggactgga
ggccgtgaggagtcccagctttgagaagtaa

(SEQ ID NO:303)

Trình tự axit amin của FGF19 có chiều dài đầy đủ được nêu; axit amin tạo ra trình tự tín hiệu được gạch dưới:

mrsgcvvvhvwilaglwlavagRPLAFSDAGPH*VHYGW*GDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRI
RADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVA*LRTV*AIKGVH*SVR*YLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEE
EIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESD
MFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK

(SEQ ID NO:304)

Protein gắn kết, như kháng thể kháng beta klotho, như được mô tả trong bản mô tả này có thể gây ra tín hiệu giống FGF21, như được mô tả trong bản mô tả này. *In vivo*, dạng thuần thục của FGF21 là dạng hoạt tính của phân tử. Trình tự axit nucleic mã hóa FGF21 có chiều dài đầy đủ được nêu; nucleotit mã hóa trình tự tín hiệu được gạch dưới:

atg gac tcg gac gag acc ggg ttc gag cac tca gga ctg tgg gtt
tct gtg ctg gct ggt ctt ctg ctg gga gcc tgc cag gca cac ccc
atc cct gac tcc agt cct ctc ctg caa ttc ggg ggc caa gtc cgg
cag cgg tac ctc tac aca gat gat gcc cag cag aca gaa gcc cac
ctg gag atc agg gag gat ggg acg gtg ggg ggc gct gct gac cag
agc ccc gaa agt ctc ctg cag ctg aaa gcc ttg aag ccg gga gtt
att caa atc ttg gga gtc aag aca tcc agg ttc ctg tgc cag cgg
cca gat ggg gcc ctg tat gga tcg ctc cac ttt gac cct gag gcc
tgc agc ttc cgg gag ctg ctt ctt gag gac gga tac aat gtt tac
cag tcc gaa gcc cac ggc ctc ccg ctg cac ctg cca ggg aac aag
tcc cca cac cgg gac cct gca ccc cga gga cca gct cgc ttc ctg
cca cta cca ggc ctg ccc ccc gca ccc ccg gag cca ccc gga atc
ctg gcc ccc cag ccc ccc gat gtg ggc tcc tcg gac cct ctg agc
atg gtg gga cct tcc cag ggc cga agc ccc agc tac gct tcc tga
(SEQ ID NO:305).

Trình tự axit amin của FGF21 có chiều dài đầy đủ được nêu dưới đây; axit amin tạo ra trình tự tín hiệu được gạch dưới:

m d s d e t g f e h s g l w v s v l a g l l l q a c q a H P I
P D S S P L L Q F G G Q V R Q R Y L Y T D D A Q Q T E A H L E I
R E D G T V G G A A D Q S P E S L L Q L K A L K P G V I Q I L
G V K T S R F L C Q R P D G A L Y G S L H F D P E A C S F R E
L L L E D G Y N V Y Q S E A H G L P L H L P G N K S P H R D P
A P R G P A R F L P L P G L P P A P P E P P G I L A P Q P P D
V G S S D P L S M V G P S Q G R S P S Y A S
(SEQ ID NO:306).

Trình tự axit nucleic còn mã hóa FGF21 có chiều dài đầy đủ được nêu; nucleotit mã hóa trình tự tín hiệu được gạch dưới:

atggactcggacgagaccgggttcgagcactcaggactgtgggtttctgtgctggctggtcttctgctgggagcc
tgccaggcaCACCCCATCCCTGACTCCAGTCCTCTCCTGCAATTCGGGGGCCAAGTCCGGCAGCGGTACCTCTAC
ACAGATGATGCCCAGCAGACAGAAGCCCACCTGGAGATCAGGGAGGATGGGACGGTGGGGGGCGCTGCTGACCAG
AGCCCCGAAAGTCTCCTGCAGCTGAAAGCCTTGAAGCCGGGAGTTATTCAAATCTTGGGAGTCAAGACATCCAGG
TTCCTGTGCCAGCGGCCAGATGGGGCCCTGTATGGATCGCTCCACTTTGACCCTGAGGCCTGCAGCTTCCGGGAG
CTGCTTCTTGAGGACGGATACAATGTTTACCAGTCCGAAGCCCACGGCCTCCCGCTGCACCTGCCAGGGAACAAG
TCCCCACACCGGGACCCTGCACCCCGAGGACCAGCTCGCTTCCTGCCACTACCAGGCCTGCCCCCCGCACTCCCG
GAGCCACCCGGAATCCTGGCCCCCCAGCCCCCCGATGTGGGCTCCTCGGACCCTCTGAGCATGGTGGGACCTTCC
CAGGGCCGAAGCCCCAGCTACGCTTCCTGA
(SEQ ID NO:428).

Trình tự axit amin còn mã hóa FGF21 có chiều dài đầy đủ được nêu; axit amin mã hóa trình tự tín hiệu được gạch dưới:

mdsdetgfehsglwvsvlaglllgacqaHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIR
EDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEA
CSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPE
PPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS
(SEQ ID NO:429)

Protein gắn kết, như kháng thể kháng beta klotho, như được mô tả trong bản mô tả này gắn kết với beta klotho riêng hoặc kết hợp với thụ thể FGF, như FGFR1c. Trình tự axit nucleic mã hóa của FGFR1c của người (số truy cập ngân hàng gen - GenBank Accession Number - NM 023110; còn được gọi là FGFRαIIIc) được nêu dưới đây:

atgtggagctggaagtgcctcctcttctgggctgtgctggtcacagcc
acactctgcaccgctaggccgtccccgaccttgcctgaacaagcccag
ccctggggagcccctgtggaagtggagtccttcctggtccaccccggt
gacctgctgcagcttcgctgtcggctgcgggacgatgtgcagagcatc
aactggctgcgggacggggtgcagctggcggaaagcaaccgcacccg
catcacaggggaggaggtggaggtgcaggactccgtgcccgcagact
ccggcctctatgcttgcgtaaccagcagcccctcgggcagtgacacca
cctacttctccgtcaatgtttcagatgctctcccctcctcggaggatga
tgatgatgatgatgactcctcttcagaggagaaagaaacagataaca
ccaaaccaaaccgtatgcccgtagctccatattggacatcaccagaaa
agatggaaaagaaattgcatgcagtgccggctgccaagacagtgaag
ttcaaatgcccttccagtgggacaccaaacccaacactgcgctggttg
aaaaatggcaaagaattcaaacctgaccacagaattggaggctacaa
ggtccgttatgccacctggagcatcataatggactctgtggtgccctc
tgacaagggcaactacacctgcattgtggagaatgagtacggcagca
tcaaccacacataccagctggatgtcgtggagcggtcccctcaccggc
ccatcctgcaagcagggttgcccgccaacaaaacagtggccctgggt
agcaacgtggagttcatgtgtaaggtgtacagtgacccgcagccgcac
atccagtggctaaagcacatcgaggtgaatgggagcaagattggccc
agacaacctgccttatgtccagatcttgaagactgctggagttaatac
caccgacaaagagatggaggtgcttcacttaagaaatgtctcctttga
ggacgcaggggagtatacgtgcttggcgggtaactctatcggactctc
ccatcactctgcatggttgaccgttctggaagccctggaagagaggcc
ggcagtgatgacctcgcccctgtacctggagatcatcatctattgcac
aggggccttcctcatctcctgcatggtggggtcggtcatcgtctacaa
gatgaagagtggtaccaagaagagtgacttccacagccagatggctg
tgcacaagctggccaagagcatccctctgcgcagacaggtaacagtg
tctgctgactccagtgcatccatgaactctggggttcttctggttcggc
catcacggctctcctccagtgggactcccatgctagcaggggtctctg
agtatgagcttcccgaagaccctcgctgggagctgcctcgggacagac
tggtcttaggcaaacccctgggagagggctgctttgggcaggtggtgt
tggcagaggctatcgggctggacaaggacaaacccaaccgtgtgacc

aaagtggctgtgaagatgttgaagtcggacgcaacagagaaagactt
gtcagacctgatctcagaaatggagatgatgaagatgatcgggaagc
ataagaatatcatcaacctgctgggggcctgcacgcaggatggtccct
tgtatgtcatcgtggagtatgcctccaagggcaacctgcgggagtacc
tgcaggcccggaggcccccagggctggaatactgctacaaccccagc
cacaacccagaggagcagctctcctccaaggacctggtgtcctgcgcc
taccaggtggcccgaggcatggagtatctggcctccaagaagtgcata
caccgagacctggcagccaggaatgtcctggtgacagaggacaatgt
gatgaagatagcagactttggcctcgcacgggacattcaccacatcga
ctactataaaaagacaaccaacggccgactgcctgtgaagtggatgg
cacccgaggcattatttgaccggatctacacccaccagagtgatgtgt
ggtctttcggggtgctcctgtgggagatcttcactctgggcggctcccc
ataccccggtgtgcctgtggaggaacttttcaagctgctgaaggaggg
tcaccgcatggacaagcccagtaactgcaccaacgagctgtacatgat
gatgcgggactgctggcatgcagtgccctcacagagacccaccttcaa
gcagctggtggaagacctggaccgcatcgtggccttgacctccaacca
ggagtacctggacctgtccatgcccctggaccagtactcccccagctt
tcccgacacccggagctctacgtgctcctcaggggaggattccgtctt
ctctcatgagccgctgcccgaggagccctgcctgccccgacacccagc
ccagcttgccaatggcggactcaaacgccgctga.

(SEQ ID NO:307)

Trình tự axit amin của FGFR1c của người (số truy cập ngân hàng gen - GenBank Accession Number - NP 075598) (còn được gọi là FGFRαIIIC) được nêu dưới đây:

MWSWKCLLFWAVLVTATLCTARPSPTLPEQAQPWGAPVEVESFLVHPG
DLLQLRCRLRDDVQSINWLRDGVQLAESNRTRITGEEVEVQDSVPADSGL
YACVTSSPSGSDTTYFSVNVSDALPSSEDDDDDDSSSEEKETDNTKPNR
MPVAPYWTSPEKMEKKLHAVPAAKTVKFKCPSSGTPNPTLRWLKNGKEF
KPDHRIGGYKVRYATWSIIMDSVVPSDKGNYTCIVENEYGSINHTYQLDV
VERSPHRPILQAGLPANKTVALGSNVEFMCKVYSDPQPHIQWLKHIEVNG
SKIGPDNLPYVQILKTAGVNTTDKEMEVLHLRNVSFEDAGEYTCLAGNSI
GLSHHSAWLTVLEALEERPAVMTSPLYLEIIIYCTGAFLISCMVGSVIVY
KMKSGTKKSDFHSQMAVHKLAKSIPLRRQVTVSADSSASMNSGVLLVRPS
RLSSSGTPMLAGVSEYELPEDPRWELPRDRLVLGKPLGEGCFGQVVLAEA

IGLDKDKPNRVTKVAVKMLKSDATEKDLSDLISEMEMMKMIGKHKNIIN
LLGACTQDGPLYVIVEYASKGNLREYLQARRPPGLEYCYNPSHNPEEQLS
SKDLVSCAYQVARGMEYLASKKCIHRDLAARNVLVTEDNVMKIADFGL
ARDIHHIDYYKKTTNGRLPVKWMAPEALFDRIYTHQSDVWSFGVLLWEI
FTLGGSPYPGVPVEELFKLLKEGHRMDKPSNCTNELYMMMRDCWHAVP
SQRPTFKQLVEDLDRIVALTSNQEYLDLSMPLDQYSPSFPDTRSSTCSSG
EDSVFSHEPLPEEPCLPRHPAQLANGGLKRR.

(SEQ ID NO:308)

Protein gắn kết, như kháng thể kháng beta klotho, được mô tả trong bản mô tả này có thể gắn kết với beta klotho kết hợp với phần ngoại bào của thụ thể FGF như FGFR1c. Ví dụ về vùng ngoại bào của FGFR1c là:

MWSWKCLLFWAVLVTATLCTARPSPTLPEQAQPWGAPVEVESFLVHPGDL
LQLRCRLRDDVQSINWLRDGVQLAESNRTRITGEEVEVQDSVPADSGLYA
CVTSSPSGSDTTYFSVNVSDALPSSEDDDDDDDSSSEEKETDNTKPNRMP
VAPYWTSPEKMEKKLHAVPAAKTVKFKCPSSGTPNPTLRWLKNGKEFKPD
HRIGGYKVRYATWSIIMDSVVPSDKGNYTCIVENEYGSINHTYQLDVVER
SPHRPILQAGLPANKTVALGSNVEFMCKVYSDPQPHIQWLKHIEVNGSKI
GPDNLPYVQILKTAGVNTTDKEMEVLHLRNVSFEDAGEYTCLAGNSIGLS
HHSAWLTVLEALEERPAVMTSPLY. **(SEQ ID NO:309)**

Ví dụ về vùng ngoại bào của FGFR1c (αIIIc) là:

RPSPTLPEQAQPWGAPVEVESFLVHPGDLLQLRCRLRDDVQSINWLRDGVQLAESNRTRITGEEVEVQDSVPADS
GLYACVTSSPSGSDTTYFSVNVSDALPSSEDDDDDDDSSSEEKETDNTKPNRMPVAPYWTSPEKMEKKLHAVPAA
KTVKFKCPSSGTPNPTLRWLKNGKEFKPDHRIGGYKVRYATWSIIMDSVVPSDKGNYTCIVENEYGSINHTYQLD
VVERSPHRPILQAGLPANKTVALGSNVEFMCKVYSDPQPHIQWLKHIEVNGSKIGPDNLPYVQILKTAGVNTTDK
EMEVLHLRNVSFEDAGEYTCLAGNSIGLSHHSAWLTVLEALEERPAVMTSPLYE.

(SEQ ID NO:427)

Ví dụ về vùng ngoại bào của FGFR1c (βIIIc) là:

RPSPTLPEQDALPSSEDDDDDDDSSSEEKETDNTKPNPVAPYWTSPEKMEKKLHAVPAAKTV
KFKCPSSGTPNPTLRWLKNGKEFKPDHRIGGYKVRYATWSIIMDSVVPSDKGNYTCIVENEY
GSINHTYQLDVVERSPHRPILQAGLPANKTVALGSNVEFMCKVYSDPQPHIQWLKHIEVNGS

KIGPDNLPYVQILKTAGVNTTDKEMEVLHLRNVSFEDAGEYTCLAGNSIGLSHHSAWLTVLE
ALEERPAVMTSPLYLE.

(SEQ ID NO: 426)

Như được mô tả trong bản mô tả này, protein FGFR1c có thể còn bao gồm các mảnh. Khi sử dụng trong bản mô tả này, các thuật ngữ này được sử dụng thay thế cho nhau có nghĩa là thụ thể, đặc biệt và trừ khi có quy định khác, thụ thể của người, mà khi kết hợp với beta klotho và FGF21 tạo ra hoạt tính phát tín hiệu giống FGF21.

Thuật ngữ FGFR1c còn bao gồm sự biến đổi sau dịch mã của trình tự axit amin FGFR1c, ví dụ, vị trí glycosyl hóa liên kết ở N có thể có. Do đó, protein gắn kết kháng nguyên có thể gắn kết với hoặc tạo ra từ protein glycosyl hóa ở một hoặc nhiều vị trí.

Protein gắn kết, như kháng thể kháng beta klotho, như được mô tả trong bản mô tả này gắn kết với beta klotho riêng hoặc kết hợp với thụ thể FGF, như FGFR2c. Trình tự axit nucleic mã hóa của FGFR2c của người được nêu dưới đây:

atggtcagctggggtcgtttcatctgcctggtcgtggtcaccatggcaaccttgtccctggc
ccggccctccttcagtttagttgaggataccacattagagccagaagagccaccaaccaaat
accaaatctctcaaccagaagtgtacgtggctgcgccaggggagtcgctagaggtgcgctgc
ctgttgaaagatgccgccgtgatcagttggactaaggatggggtgcacttggggcccaacaa
taggacagtgcttattggggagtacttgcagataaagggcgccacgcctagagactccggcc
tctatgcttgtactgccagtaggactgtagacagtgaaacttggtacttcatggtgaatgtc
acagatgccatctcatccggagatgatgaggatgacaccgatggtgcggaagattttgtcag
tgagaacagtaacaacaagagagcaccatactggaccaacacagaaaagatggaaaagcggc
tccatgctgtgcctgcggccaacactgtcaagtttcgctgcccagccgggggggaacccaatg
ccaaccatgcggtggctgaaaaacgggaaggagtttaagcaggagcatcgcattggaggcta
caaggtacgaaaccagcactggagcctcattatggaaagtgtggtcccatctgacaagggaa
attatacctgtgtagtggagaatgaatacgggtccatcaatcacacgtaccacctggatgtt
gtggagcgatcgcctcaccggcccatcctccaagccggactgccggcaaatgcctccacagt
ggtcggaggagacgtagagtttgtctgcaaggtttacagtgatgcccagccccacatccagt
ggatcaagcacgtggaaaagaacggcagtaaatacgggcccgacgggctgccctacctcaag
gttctcaaggccgccggtgttaacaccacggacaaagagattgaggttctctatattcggaa
tgtaacttttgaggacgctggggaatatacgtgcttggcgggtaattctattgggatatcct
ttcactctgcatggttgacagttctgccagcgcctggaagagaaaaggagattacagcttcc
ccagactacctggagatagccatttactgcataggggtcttcttaatcgcctgtatggtggt

aacagtcatcctgtgccgaatgaagaacacgaccaagaagccagacttcagcagccagccgg
ctgtgcacaagctgaccaaacgtatccccctgcggagacaggtaacagtttcggctgagtcc
agctcctccatgaactccaacaccccgctggtgaggataacaacacgcctctcttcaacggc
agacacccccatgctggcaggggtctccgagtatgaacttccagaggacccaaaatgggagt
ttccaagagataagctgacactgggcaagcccctgggagaaggttgctttgggcaagtggtc
atggcggaagcagtgggaattgacaaagacaagcccaaggaggcggtcaccgtggccgtgaa
gatgttgaaagatgatgccacagagaaagacctttctgatctggtgtcagagatggagatga
tgaagatgattgggaaacacaagaatatcataaatcttcttggagcctgcacacaggatggg
cctctctatgtcatagttgagtatgcctctaaaggcaacctccgagaatacctccgagcccg
gaggccacccgggatggagtactcctatgacattaaccgtgttcctgaggagcagatgacct
tcaaggacttggtgtcatgcacctaccagctggccagaggcatggagtacttggcttcccaa
aaatgtattcatcgagatttagcagccagaaatgttttggtaacagaaaacaatgtgatgaa
aatagcagactttggactcgccagagatatcaacaatatagactattacaaaaagaccacca
atgggcggcttccagtcaagtggatggctccagaagccctgtttgatagagtatacactcat
cagagtgatgtctggtccttcggggtgttaatgtgggagatcttcactttagggggctcgcc
ctacccagggattcccgtggaggaacttttaagctgctgaaggaaggacacagaatggata
agccagccaactgcaccaacgaactgtacatgatgatgagggactgttggcatgcagtgccc
tcccagagaccaacgttcaagcagttggtagaagacttggatcgaattctcactctcacaac
caatgaggaatacttggacctcagccaacctctcgaacagtattcacctagttaccctgaca
caagaagttcttgttcttcaggagatgattctgtttttctccagaccccatgccttacgaa
ccatgccttcctcagtatccacacataaacggcagtgttaaaacatga

(SEQ ID NO:310)

Trình tự axit amin của FGFR2c của người được nêu dưới đây; axit amin tạo ra trình tự tín hiệu được gạch dưới:

mvswgrficlvvvtmatlslaRPSFSLVEDTTLEPEEPPTKYQISQPEVYVAAPGESLEVRC
LLKDAAVISWTKDGVHLGPNNRTVLIGEYLQIKGATPRDSGLYACTASRTVDSETWYFMVNV
TDAISSGDDEDDTDGAEDFVSENSNNKRAPYWTNTEKMEKRLHAVPAANTVKFRCPAGGNPM
PTMRWLKNGKEFKQEHRIGGYKVRNQHWSLIMESVVPSDKGNYTCVVENEYGSINHTYHLDV
VERSPHRPILQAGLPANASTVVGGDVEFVCKVYSDAQPHIQWIKHVEKNGSKYGPDGLPYLK
VLKAAGVNTTDKEIEVLYIRNVTFEDAGEYTCLAGNSIGISFHSAWLTVLPAPGREKEITAS
PDYLEIAIYCIGVFLIACMVVTVILCRMKNTTKKPDFSSQPAVHKLTKRIPLRRQVTVSAES
SSSMNSNTPLVRITTRLSSTADTPMLAGVSEYELPEDPKWEFPRDKLTLGKPLGEGCFGQVV
MAEAVGIDKDKPKEAVTVAVKMLKDDATEKDLSDLVSEMEMMKMIGKHKNIINLLGACTQDG

PLYVIVEYASKGNLREYLRARRPPGMEYSYDINRVPEEQMTFKDLVSCTYQLARGMEYLASQ
KCIHRDLAARNVLVTENNVMKIADFGLARDINNIDYYKKTTNGRLPVKWMAPEALFDRVYTH
QSDVWSFGVLMWEIFTLGGSPYPGIPVEELFKLLKEGHRMDKPANCTNELYMMMRDCWHAVP
SQRPTFKQLVEDLDRILTLTTNEEYLDLSQPLEQYSPSYPDTRSSCSSGDDSVFSPDPMPYE
PCLPQYPHINGSVKT

(SEQ ID NO:311)

Protein gắn kết, như kháng thể kháng beta klotho, như được mô tả trong bản mô tả này gắn kết với beta klotho riêng hoặc kết hợp với thụ thể FGF, như FGFR3c. Trình tự axit nucleic mã hóa của FGFR3c của người (số truy cập ngân hàng gen - GenBank Accession Number - NP 000133) được nêu dưới đây:

atgggcgcccctgcctgcgccctcgcgctctgcgtggccgtggccatcgtggccggcgcctc
ctcggagtccttggggacggagcagcgcgtcgtggggcgagcggcagaagtcccgggcccag
agcccggccagcaggagcagttggtcttcggcagcggggatgctgtggagctgagctgtccc
ccgcccgggggtggtcccatggggcccactgtctgggtcaaggatggcacagggctggtgcc
ctcggagcgtgtcctggtggggccccagcggctgcaggtgctgaatgcctcccacgaggact
ccggggcctacagctgccggcagcggctcacgcagcgcgtactgtgccacttcagtgtgcgg
gtgacagacgctccatcctcgggagatgacgaagacggggaggacgaggctgaggacacagg
tgtggacacaggggcccccttactggacacggcccgagcggatggacaagaagctgctggccg
tgccggccgccaacaccgtccgcttccgctgcccagccgctggcaaccccactccctccatc
tcctggctgaagaacggcagggagttccgcggcgagcaccgcattggaggcatcaagctgcg
gcatcagcagtggagcctggtcatggaaagcgtggtgccctcggaccgcggcaactacacct
gcgtcgtggagaacaagtttggcagcatccggcagacgtacacgctggacgtgctggagcgc
tccccgcaccggcccatcctgcaggcggggctgccggccaaccagacggcggtgctgggcag
cgacgtggagttccactgcaaggtgtacagtgacgcacagccccacatccagtggctcaagc
acgtggaggtgaatggcagcaaggtgggcccggacggcacaccctacgttaccgtgctcaag
acggcgggcgctaacaccaccgacaaggagctagaggttctctccttgcacaacgtcacctt
tgaggacgccggggagtacacctgcctggcgggcaattctattgggttttctcatcactctg
cgtggctggtggtgctgccagccgaggaggagctggtggaggctgacgaggcgggcagtgtg
tatgcaggcatcctcagctacggggtgggcttcttcctgttcatcctggtggtggcggctgt
gacgctctgccgcctgcgcagccccccaagaaaggcctgggctcccccaccgtgcacaaga
tctcccgcttcccgctcaagcgacaggtgtccctggagtccaacgcgtccatgagctccaac
acaccactggtgcgcatcgcaaggctgtcctcaggggagggccccacgctggccaatgtctc
cgagctcgagctgcctgccgaccccaaatgggagctgtctcgggcccggctgaccctgggca

agcccctttggggagggctgcttcggccaggtggtcatggcggaggccatcggcattgacaag
gaccgggccgccaagcctgtcaccgtagccgtgaagatgctgaaagacgatgccactgacaa
ggacctgtcggacctggtgtctgagatggagatgatgaagatgatcgggaaacacaaaaaca
tcatcaacctgctgggcgcctgcacgcagggcgggcccctgtacgtgctggtggagtacgcg
gccaagggtaacctgcgggagtttctgcgggcgcggcggccccgggcctggactactcctt
cgacacctgcaagccgcccgaggagcagctcaccttcaaggacctggtgtcctgtgcctacc
aggtggcccggggcatggagtacttggcctcccagaagtgcatccacagggacctggctgcc
cgcaatgtgctggtgaccgaggacaacgtgatgaagatcgcagacttcgggctggcccggga
cgtgcacaacctcgactactacaagaagacaaccaacggccggctgcccgtgaagtggatgg
cgcctgaggccttgtttgaccgagtctacactcaccagagtgacgtctggtcctttggggtc
ctgctctgggagatcttcacgctgggggctccccgtaccccggcatccctgtggaggagct
cttcaagctgctgaaggagggccaccgcatggacaagcccgccaactgcacacacgacctgt
acatgatcatgcgggagtgctggcatgccgcgccctcccagaggcccaccttcaagcagctg
gtggaggacctggaccgtgtccttaccgtgacgtccaccgacgagtacctggacctgtcggc
gcctttcgagcagtactccccgggtggccaggacacccccagctccagctcctcaggggacg
actccgtgtttgcccacgacctgctgcccccggccccacccagcagtgggggctcgcggacg
tga

(SEQ ID NO:312)

Trình tự axit amin của FGFR3c của người được nêu dưới đây; axit amin tạo ra trình tự tín hiệu được gạch dưới:

<u>mgapacalalcvavaivagass</u>ESLGTEQRVVGRAAEVPGPEPGQQEQLVFGSGDAVELSCP
PPGGGPMGPTVWVKDGTGLVPSERVLVGPQRLQVLNASHEDSGAYSCRQRLTQRVLCHFSVR
VTDAPSSGDDEDGEDEAEDTGVDTGAPYWTRPERMDKKLLAVPAANTVRFRCPAAGNPTPSI
SWLKNGREFRGEHRIGGIKLRHQQWSLVMESVVPSDRGNYTCVVENKFGSIRQTYTLDVLER
SPHRPILQAGLPANQTAVLGSDVEFHCKVYSDAQPHIQWLKHVEVNGSKVGPDGTPYVTVLK
TAGANTTDKELEVLSLHNVTFEDAGEYTCLAGNSIGFSHHSAWLVVLPAEEELVEADEAGSV
YAGILSYGVGFFLFILVVAAVTLCRLRSPPKKGLGSPTVHKISRFPLKRQVSLESNASMSSN
TPLVRIARLSSGEGPTLANVSELELPADPKWELSRARLTLGKPLGEGCFGQVVMAEAIGIDK
DRAAKPVTVAVKMLKDDATDKDLSDLVSEMEMMKMIGKHKNIINLLGACTQGGPLYVLVEYA
AKGNLREFLRARRPPGLDYSFDTCKPPEEQLTFKDLVSCAYQVARGMEYLASQKCIHRDLAA
RNVLVTEDNVMKIADFGLARDVHNLDYYKKTTNGRLPVKWMAPEALFDRVYTHQSDVWSFGV
LLWEIFTLGGSPYPGIPVEELFKLLKEGHRMDKPANCTHDLYMIMRECWHAAPSQRPTFKQL

VEDLDRVLTVTSTDEYLDLSAPFEQYSPGGQDTPSSSSSGDDSVFAHDLLPPAPPSSGGSRT

(SEQ ID NO:313)

Protein gắn kết, như kháng thể kháng beta klotho, như được mô tả trong bản mô tả này gắn kết với beta klotho riêng hoặc kết hợp với thụ thể FGF, như FGFR4. Trình tự axit nucleic mã hóa của FGFR4 của người được nêu dưới đây:

atgcggctgctgctggccctgttgggggtcctgctgagtgtgcctgggcctccagtcttgtc
cctggaggcctctgaggaagtggagcttgagccctgcctggctcccagcctggagcagcaag
agcaggagctgacagtagcccttgggcagcctgtgcgtctgtgctgtgggcgggctgagcgt
ggtggccactggtacaaggagggcagtcgcctggcacctgctggccgtgtacggggctggag
gggccgcctagagattgccagcttcctacctgaggatgctggccgctacctctgcctggcac
gaggctccatgatcgtcctgcagaatctcaccttgattacaggtgactccttgacctccagc
aacgatgatgaggaccccaagtcccatagggacccctcgaataggcacagttacccccagca
agcaccctactggacacacccccagcgcatggagaagaaactgcatgcagtacctgcgggga
acaccgtcaagttccgctgtccagctgcaggcaaccccacgcccaccatccgctggcttaag
gatggacaggcctttcatggggagaaccgcattggaggcattcggctgcgccatcagcactg
gagtctcgtgatggagagcgtggtgccctcggaccgcggcacatacacctgcctggtagaga
acgctgtgggcagcatccgctataactacctgctagatgtgctggagcggtccccgcaccgg
cccatcctgcaggccgggctcccggccaacaccacagccgtggtgggcagcgacgtggagct
gctgtgcaaggtgtacagcgatgcccagccccacatccagtggctgaagcacatcgtcatca
acggcagcagcttcggagccgacggtttccccctatgtgcaagtcctaaagactgcagacatc
aatagctcagaggtggaggtcctgtacctgcggaacgtgtcagccgaggacgcaggcgagta
cacctgcctcgcaggcaattccatcggcctctcctaccagtctgcctggctcacggtgctgc
cagaggaggaccccacatggaccgcagcagcgcccgaggccaggtatacggacatcatcctg
tacgcgtcgggctccctggccttggctgtgctcctgctgctggccgggctgtatcgagggca
ggcgctccacggccggcaccccgcccgcccgccactgtgcagaagctctcccgcttccctc
tggcccgacagttctccctggagtcaggctcttccggcaagtcaagctcatccctggtacga
ggcgtgcgtctctcctccagcggccccgccttgctcgccggcctcgtgagtctagatctacc
tctcgacccactatgggagttcccccgggacaggctggtgcttgggaagccccctaggcgagg
gctgctttggccaggtagtacgtgcagaggcctttggcatggaccctgccccggcctgaccaa
gccagcactgtggccgtcaagatgctcaaagacaacgcctctgacaaggacctggccgacct
ggtctcggagatggaggtgatgaagctgatcggccgacacaagaacatcatcaacctgcttg
gtgtctgcacccaggaagggcccctgtacgtgatcgtggagtgcgccgccaagggaaacctg
cgggagttcctgcgggcccggcgcccccccaggccccgacctcagccccgacggtcctcggag

cagtgaggggccgctctccttcccagtcctggtctcctgcgcctaccaggtggcccgaggca
tgcagtatctggagtcccggaagtgtatccaccgggacctggctgcccgcaatgtgctggtg
actgaggacaatgtgatgaagattgctgactttgggctggcccgcggcgtccaccacattga
ctactataagaaaaccagcaacggccgcctgcctgtgaagtggatggcgcccgaggccttgt
ttgaccgggtgtacacacaccagagtgacgtgtggtcttttgggatcctgctatgggagatc
ttcaccctcgggggctccccgtatcctggcatcccggtggaggagctgttctcgctgctgcg
ggagggacatcggatggaccgacccccacactgccccccagagctgtacgggctgatgcgtg
agtgctggcacgcagcgccctcccagaggcctaccttcaagcagctggtggaggcgctggac
aaggtcctgctggccgtctctgaggagtacctcgacctccgcctgaccttcggaccctattc
cccctctggtggggacgccagcagcacctgctcctccagcgattctgtcttcagccacgacc
ccctgccattgggatccagctccttcccccttcgggtctggggtgcagacatga

(SEQ ID NO:314)

Trình tự axit amin của FGFR4 của người (số truy cập ngân hàng gen - GenBank Accession Number - NP. 002002.3) được nêu dưới đây; axit amin tạo ra trình tự tín hiệu được gạch dưới:

mrlllallgvllsvpgppvlsLEASEEVELEPCLAPSLEQQEQELTVALGQPVRLCCGRAER
GGHWYKEGSRLAPAGRVRGWRGRLEIASFLPEDAGRYLCLARGSMIVLQNLTLITGDSLTSS
NDDEDPKSHRDPSNRHSYPQQAPYWTHPQRMEKKLHAVPAGNTVKFRCPAAGNPTPTIRWLK
DGQAFHGENRIGGIRLRHQHWSLVMESVVPSDRGTYTCLVENAVGSIRYNYLLDVLERSPHR
PILQAGLPANTTAVVGSDVELLCKVYSDAQPHIQWLKHIVINGSSFGADGFPYVQVLKTADI
NSSEVEVLYLRNVSAEDAGEYTCLAGNSIGLSYQSAWLTVLPEEDPTWTAAAPEARYTDIIL
YASGSLALAVLLLLAGLYRGQALHGRHPRPPATVQKLSRFPLARQFSLESGSSGKSSSSLVR
GVRLSSSGPALLAGLVSLDLPLDPLWEFPRDRLVLGKPLGEGCFGQVVRAEAFGMDPARPDQ
ASTVAVKMLKDNASDKDLADLVSEMEVMKLIGRHKNIINLLGVCTQEGPLYVIVECAAKGNL
REFLRARRPPGPDLSPDGPRSSEGPLSFPVLVSCAYQVARGMQYLESRKCIHRDLAARNVLV
TEDNVMKIADFGLARGVHHIDYYKKTSNGRLPVKWMAPEALFDRVYTHQSDVWSFGILLWEI
FTLGGSPYPGIPVEELFSLLREGHRMDRPPHCPPELYGLMRECWHAAPSQRPTFKQLVEALD
KVLLAVSEEYLDLRLTFGPYSPSGGDASSTCSSSDSVFSHDPLPLGSSSFPFGSGVQT

(SEQ ID NO:315)

"Kháng nguyên" là kháng nguyên định trước mà kháng thể có thể gắn kết với nó một cách chọn lọc. Kháng nguyên đích có thể là polypeptit, hydrat cacbon, axit nucleic, lipit, hapten (kháng nguyên không hoàn toàn) hoặc hợp chất có trong tự nhiên hoặc được tổng hợp khác. Tốt hơn nếu kháng nguyên đích là polypeptit.

Thuật ngữ "mảnh gắn kết kháng nguyên," "miền gắn kết kháng nguyên," "vùng gắn kết kháng nguyên," và các thuật ngữ tương tự đề cập đến phần gắn kết kháng nguyên của kháng thể chứa các gốc axit amin mà tương tác với kháng nguyên và mang lại cho chất gắn kết tính đặc hiệu và ái lực của nó đối với kháng nguyên (ví dụ, vùng xác định tính bổ trợ (complementarity determining regions - CDRs)).

Thuật ngữ "gắn kết" hoặc "sự gắn kết" đề cập đến sự tương tác giữa các phân tử bao gồm, ví dụ, để tạo phức chất (phức hợp). Sự tương tác có thể là, ví dụ, sự tương tác không cộng hóa trị bao gồm liên kết hydro, liên kết ion, tương tác kỵ nước, và/hoặc tương tác van der Waals. Phức hợp có thể còn bao gồm sự gắn kết của hai hoặc nhiều phân tử được giữ cùng nhau bằng liên kết cộng hóa trị hoặc không cộng hóa trị, sự tương tác hoặc lực. Cường độ tổng tương tác không cộng hóa trị giữa vị trí gắn kết kháng nguyên đơn trên kháng thể và epitop đơn của phân tử đích, như beta klotho, là ái lực của kháng thể hoặc mảnh chức năng đối với epitop đó. Tỷ lệ của sự kết hợp (k1) so với sự phân ly (k-1) của kháng thể đối với kháng nguyên đơn trị (k1/ k-1) là hằng số kết hợp K, là tiêu chuẩn đánh giá ái lực. Giá trị K thay đổi theo các phức hợp khác nhau của kháng thể và kháng nguyên và phụ thuộc vào cả k1 và k-1. Hằng số kết hợp K đối với kháng thể nêu trong bản mô tả này có thể được xác định bằng cách sử dụng phương pháp bất kỳ nêu trong bản mô tả này hoặc phương pháp bất kỳ khác đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ái lực ở một vị trí gắn kết thường không phản ánh cường độ thực của lực tương tác giữa kháng thể và kháng nguyên. Khi kháng nguyên phức chứa nhiều yếu tố quyết định kháng nguyên lặp lại, như beta klotho đa trị, tiếp xúc với kháng thể chứa nhiều vị trí gắn kết, thì sự tương tác của kháng thể với kháng nguyên ở một vị trí sẽ làm tăng khả năng phản ứng ở vị trí thứ hai. Cường độ của đa tương tác như vậy giữa kháng thể đa trị và kháng nguyên được gọi là ái lực (toàn phần). Ái lực toàn phần (avidity) của kháng thể có thể là tiêu chuẩn đánh giá tốt hơn khả năng gắn kết của kháng thể so với ái lực (riêng) của vị trí gắn kết riêng của nó. Ví dụ, ái lực toàn phần cao có thể bù cho ái lực riêng thấp vì đôi khi căn cứ vào các kháng thể tổ hợp năm IgM, có thể có ái lực riêng thấp hơn IgG, nhưng có ái lực toàn phần cao hơn IgM, do tính đa trị của nó, cho phép nó gắn kết hiệu quả với kháng nguyên.

Thuật ngữ "kháng thể gắn kết đặc hiệu với beta klotho," "kháng thể gắn kết đặc hiệu với epitop beta klotho", và các thuật ngữ tương tự cũng được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả này và đề cập đến kháng thể gắn kết đặc hiệu với polypeptit

beta klotho, như kháng nguyên, hoặc mảnh, hoặc epitop beta klotho (ví dụ, beta klotho của người như polypeptit, kháng nguyên hoặc epitop beta klotho của người). Kháng thể gắn kết đặc hiệu với beta klotho, (ví dụ, beta klotho của người) có thể gắn kết với miền ngoại bào hoặc peptit có nguồn gốc từ miền ngoại bào của beta klotho. Kháng thể gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên beta klotho (ví dụ, beta klotho của người) có thể được phản ứng chéo với các kháng nguyên liên quan (ví dụ, beta klotho của khỉ cyno). Theo một số phương án nhất định, kháng thể gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên beta klotho không phản ứng chéo với các kháng nguyên khác. Kháng thể gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên beta klotho có thể được nhận biết bằng, ví dụ, thử nghiệm miễn dịch, Biacore, hoặc các kỹ thuật khác đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Kháng thể gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên beta klotho khi nó gắn kết với kháng nguyên beta klotho có ái lực cao hơn so với kháng nguyên phản ứng chéo bất kỳ khi được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật thử nghiệm, như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (radioimmunoassay - RIA) và thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (enzyme linked immunosorbent assay - ELISA). Thông thường, phản ứng cụ thể hoặc chọn lọc sẽ là ít nhất hai lần tín hiệu nền hoặc nhiễu và có thể nhiều hơn 10 lần so với nền. Xem, ví dụ, Paul, ed., 1989, Fundamental Immunology Second Edition, Raven Press, New York at pages 332 336 đối với việc bàn luận liên quan đến đặc hiệu kháng thể. Kháng thể "mà gắn kết" kháng nguyên nghiên cứu (ví dụ, kháng nguyên đích như beta klotho) là kháng thể gắn kết kháng nguyên bằng ái lực thích hợp sao cho kháng thể là hữu dụng làm chất điều trị trong việc hướng đích tế bào hoặc mô biểu hiện kháng nguyên, và không đủ để phản ứng chéo với protein khác. Theo các phương án này, phạm vi gắn kết của kháng thể với protein "không phải đích" sẽ nhỏ hơn khoảng 10% phạm vi gắn kết của kháng thể với protein đích cụ thể của nó, ví dụ, như được xác định bằng phương pháp phân loại tế bào có phát huỳnh quang (fluorescence activated cell sorting - FACS) hoặc phương pháp kết tủa miễn dịch phóng xạ (radioimmunoprecipitation - RIA). Đối với việc gắn kết kháng thể với phân tử đích, thuật ngữ "việc gắn kết đặc hiệu" hoặc "gắn kết một cách đặc hiệu" hoặc là "đặc hiệu đối với" polypeptit cụ thể hoặc epitop trên đích polypeptit cụ thể nghĩa là gắn kết khác biệt so với sự tương tác không đặc hiệu. Gắn kết đặc hiệu có thể đo được, ví dụ, bằng cách xác định sự gắn kết của phân tử so với sự gắn kết của phân tử đối chứng, thường là phân tử có cấu trúc giống nhưng không có hoạt tính gắn kết. Ví dụ, gắn kết đặc hiệu có thể được xác định bằng cách cạnh tranh với phân tử đối chứng mà giống với đích, ví dụ, vượt quá đích không được đánh dấu.

Trong trường hợp này, gắn kết đặc hiệu được chỉ ra nếu việc gắn kết đích được đánh dấu với đầu dò được ức chế cạnh tranh bằng đích không được đánh dấu dư. Thuật ngữ "việc gắn kết đặc hiệu" hoặc "gắn kết một cách đặc hiệu" hoặc là "đặc hiệu đối với" polypeptit cụ thể hoặc epitop trên đích polypeptit cụ thể như được sử dụng trong bản mô tả này có thể được bộc lộ, ví dụ, bằng phân tử có Kd đối với đích ít nhất khoảng 10^{-4} M, theo cách khác ít nhất khoảng 10^{-5} M, theo cách khác ít nhất khoảng 10^{-6} M, theo cách khác ít nhất khoảng 10^{-7} M, theo cách khác ít nhất khoảng 10^{-8} M, theo cách khác ít nhất khoảng 10^{-9} M, theo cách khác ít nhất khoảng 10^{-10} M, theo cách khác ít nhất khoảng 10^{-11} M, theo cách khác ít nhất khoảng 10^{-12} M, hoặc lớn hơn. Theo một phương án, thuật ngữ "gắn kết đặc hiệu" đề cập đến việc gắn kết trong đó phân tử gắn kết với polypeptit hoặc epitop cụ thể trên polypeptit cụ thể chủ yếu không gắn kết với polypeptit hoặc epitop của polypeptit bất kỳ khác. Theo một số phương án nhất định, kháng thể mà gắn kết với beta klotho có hằng số phân ly (Kd) nhỏ hơn hoặc bằng 10 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM, 1 nM, 0,9 nM, 0,8 nM, 0,7 nM, 0,6 nM, 0,5 nM, 0,4 nM, 0,3 nM, 0,2 nM, hoặc 0,1 nM. K_D càng thấp, ái lực của kháng thể kháng beta klotho càng cao. Theo một số phương án nhất định, kháng thể kháng beta klotho gắn kết với epitop của beta klotho được bảo toàn trong số beta klotho từ các loài khác nhau (ví dụ, giữa beta klotho của người và của khỉ cyno).

Thuật ngữ "cạnh tranh" khi sử dụng trong phạm vi kháng thể kháng beta klotho (ví dụ, kháng thể chủ vận và protein gắn kết mà gắn kết với (i) beta klotho; hoặc (ii) phức hợp bao gồm beta klotho và một trong số FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c, và FGFR4) cạnh tranh với cùng epitop hoặc vị trí gắn kết trên đích nghĩa là sự cạnh tranh được xác định bằng thử nghiệm trong đó kháng thể (hoặc mảnh gắn kết) của nó trong nghiên cứu này ngăn ngừa hoặc làm ức chế sự gắn kết đặc hiệu của phân tử tham chiếu (ví dụ, phối tử tham chiếu, hoặc protein gắn kết kháng nguyên tham chiếu, như kháng thể tham chiếu) với kháng nguyên thường (ví dụ, beta klotho hoặc mảnh của nó). Nhiều loại thử nghiệm gắn kết cạnh tranh có thể được sử dụng để xác định kháng thể thử nghiệm có cạnh tranh với kháng thể tham chiếu để gắn kết với beta klotho (ví dụ, beta klotho của người) hay không. Ví dụ về các thử nghiệm mà có thể được dùng bao gồm thử nghiệm miễn dịch phóng xạ pha rắn trực tiếp hoặc gián tiếp (RIA), thử nghiệm miễn dịch enzym pha rắn trực tiếp hoặc gián tiếp (EIA), thử nghiệm cạnh tranh dạng kẹp (xem, ví dụ, Stahli et al., (1983) Methods in Enzymology 9:242-253); EIA biotin-avidin pha rắn trực tiếp (xem, ví dụ, Kirkland *et al.*, (1986) J. Immunol. 137:3614-3619) thử nghiệm đánh dấu pha rắn trực tiếp, thử nghiệm pha rắn dạng kẹp được đánh

dấu trực tiếp (xem, ví dụ, Harlow and Lane, (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press); RIA pha rắn được đánh dấu trực tiếp sử dụng dấu 1-125 (xem, ví dụ, Morel *et al.*, (1988) Molec. Immunol. 25:7-15); EIA biotin-avidin pha rắn trực tiếp (xem, ví dụ, Cheung, et al., (1990) Virology 176:546-552); và RIA được đánh dấu trực tiếp (Moldenhauer et al., (1990) Scand. J. Immunol. 32:77-82). Thông thường, thử nghiệm này liên quan đến việc sử dụng kháng nguyên được tinh chế (ví dụ, beta klotho như beta klotho của người) liên kết với bề mặt rắn hoặc tế bào mang protein gắn kết kháng nguyên thử nghiệm không được đánh dấu (ví dụ, kháng thể kháng beta klotho thử nghiệm) hoặc protein gắn kết kháng nguyên tham chiếu được đánh dấu (ví dụ, kháng thể kháng beta klotho tham chiếu). Sự ức chế cạnh tranh có thể đo được bằng cách xác định lượng đánh dấu liên kết với bề mặt rắn hoặc tế bào với sự có mặt của protein gắn kết kháng nguyên thử nghiệm. Thông thường, protein gắn kết kháng nguyên thử nghiệm có mặt với lượng dư. Kháng thể được nhận diện bằng thử nghiệm cạnh tranh (kháng thể cạnh tranh) bao gồm các kháng thể gắn kết với cùng epitop như kháng thể tham chiếu và/hoặc các kháng thể gắn kết với epitop liền kề đủ gần với epitop mà kháng thể tham chiếu gắn kết, làm xuất hiện sự cản trở không gian. Chi tiết hơn về phương pháp xác định gắn kết cạnh tranh được mô tả trong bản mô tả này. Thông thường, khi protein kháng thể cạnh tranh có mặt với lượng dư, thì protein này sẽ ức chế gắn kết đặc hiệu kháng thể tham chiếu với kháng nguyên thường ít nhất 23%, ví dụ 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% hoặc 75%. Trong một số trường hợp, sự gắn kết bị ức chế ít nhất 80%, 85%, 90%, 95%, 96% hoặc 97%, 98%, 99% hoặc hơn.

Thuật ngữ "kháng thể kháng beta klotho" hoặc "kháng thể mà gắn kết với beta klotho" bao gồm kháng thể có khả năng gắn kết beta klotho với ái lực thích hợp sao cho kháng thể này hữu dụng làm chất chẩn đoán và/hoặc điều trị bệnh trong việc hướng đích beta klotho. Tốt hơn là, phạm vi gắn kết của kháng thể kháng beta klotho đối với protein không beta klotho, không liên quan là nhỏ hơn khoảng 10% gắn kết kháng thể với beta klotho khi đo, ví dụ, bằng phương pháp phân loại tế bào có phát huỳnh quang (FACS) hoặc thử nghiệm miễn dịch như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA). Kháng thể mà "gắn kết đặc hiệu với" hoặc là "đặc hiệu đối với" beta klotho như được minh họa ở trên. Theo một số phương án nhất định, kháng thể mà gắn kết với beta klotho, như được mô tả trong bản mô tả này có hằng số phân ly (Kd) nhỏ hơn hoặc bằng 10 nM, 9 nM, 8 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 0,9 nM, 0,8 nM, 0,7 nM, 0,6 nM, 0,5 nM, 0,4 nM, 0,3 nM, 0,2 nM, hoặc 0,1 nM, và/hoặc lớn hơn hoặc bằng 0,1nM. Theo một số phương án nhất định, kháng thể kháng beta klotho gắn kết với epitop của beta klotho

được bảo toàn trong số beta klotho từ các loài khác nhau (ví dụ, giữa beta klotho của người và của khỉ cyno).

Kháng thể "được phân lập" gần như không chứa vật liệu tế bào hoặc protein tạp chất khác từ nguồn tế bào hoặc mô và/hoặc các thành phần tạp chất khác mà kháng thể được bắt nguồn, hoặc gần như không chứa tiền chất hóa học hoặc hóa chất khác khi tổng hợp bằng phương pháp hóa học. Cụm từ "gần như không chứa vật liệu tế bào" bao gồm chế phẩm kháng thể trong đó kháng thể được tách từ các thành phần tế bào của tế bào từ đó được phân lập hoặc sản xuất tái tổ hợp. Do đó, kháng thể về cơ bản không chứa vật liệu tế bào bao gồm chế phẩm kháng thể có ít hơn 30%, 25%, 20%, 15%,10%, 5%, hoặc 1% (theo trọng lượng khô) protein khác loại (còn được đề cập đến ở dạng "protein tạp chất"). Theo một số phương án nhất định, khi kháng thể được sản xuất tái tổ hợp, nó gần như không có môi trường nuôi cấy, ví dụ, môi trường nuôi cấy thể hiện ít hơn khoảng 20%, 15%, 10%, 5%, hoặc 1% thể tích chế phẩm protein. Theo một số phương án nhất định, khi kháng thể được sản xuất bằng cách tổng hợp hóa học, gần như không chứa tiền chất hóa học hoặc hóa chất khác, ví dụ, kháng thể này được tách từ tiền chất hóa học hoặc các hóa chất khác liên quan đến việc tổng hợp protein. Do đó, các chế phẩm chứa kháng thể này có ít hơn khoảng 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, hoặc 1% (theo trọng lượng khô) của tiền chất hóa học hoặc hợp chất không phải kháng thể nghiên cứu. Các thành phần tạp chất có thể còn bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, vật liệu mà gây trở ngại cho việc sử dụng liệu pháp cho kháng thể, và có thể bao gồm enzym, hormon, và các chất tan có protein hoặc không có protein khác. Theo một số phương án nhất định, kháng thể sẽ được tinh chế (1) đến lớn hơn 95% theo trọng lượng kháng thể như được xác định bằng phương pháp Lowry (Lowry *et al.* J. Bio. Chem. 193: 265-275, 1951), như 96%, 97%, 98%, hoặc 99%, theo trọng lượng, (2) đến mức đủ để nhận được ít nhất 15 gốc của trình tự axit amin nội hoặc tận cùng N bằng cách sử dụng máy xác định trình tự kiểu ống quay, hoặc (3) đến mức đồng nhất bằng SDS-PAGE trong điều kiện khử hoặc không khử sử dụng chất nhuộm màu xanh dương Coomassie hoặc, tốt hơn là, màu bạc. Kháng thể được phân lập bao gồm kháng thể tại chỗ trong tế bào tái tổ hợp vì ít nhất một thành phần của môi trường tự nhiên của kháng thể không có mặt. Tuy nhiên, nói chung, kháng thể được phân lập được sản xuất bằng ít nhất một bước tinh chế. Theo phương án cụ thể, kháng thể nêu trong bản mô tả này được phân lập.

Đơn vị kháng thể 4 chuỗi là glycoprotein tetrame khác loại gồm hai chuỗi nhẹ giống nhau (L) và hai chuỗi nặng giống nhau (H). Trong trường hợp IgG, đơn vị 4 chuỗi thường là khoảng 150.000 dalton. Mỗi chuỗi L được liên kết với chuỗi H bằng một liên kết cộng hóa trị disulfua, trong khi hai chuỗi H được liên kết với nhau bằng một hoặc nhiều liên kết disulfua phụ thuộc vào lớp kháng thể (isotyp) chuỗi H. Cả chuỗi H và L đều có liên kết disulfua trong chuỗi cách đều. Mỗi chuỗi H có, ở đầu tận cùng N, miền biến đổi (VH) sau đó là ba miền ổn định (CH) đối với mỗi trong số các chuỗi α và γ và bốn miền CH đối với các isotyp μ và ε. Mỗi chuỗi L có, ở đầu tận cùng N, miền biến đổi (VL) sau đó là miền ổn định (CL) ở đầu kia của nó. VL được sắp hàng với VH và CL được sắp hàng với miền ổn định thứ nhất của chuỗi nặng (CH1). Các gốc axit amin cụ thể tạo ra bề mặt chung giữa miền biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng. Việc ghép cặp VH và VL với nhau tạo thành vị trí gắn kết kháng nguyên đơn. Đối với cấu trúc và đặc điểm của các lớp kháng thể khác nhau, xem, ví dụ, Basic and Clinical Immunology, 8th edition, Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, trang 71 và Chương 6.

Thuật ngữ "vùng biến đổi" hoặc "miền biến đổi" đề cập đến một phần của chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng của kháng thể thường được đặt ở đầu tận cùng amino của chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng và có độ dài khoảng 120 đến 130 axit amin trong chuỗi nặng và khoảng 100 đến 110 axit amin trong chuỗi nhẹ, và được sử dụng trong việc gắn kết và tính đặc hiệu của mỗi kháng thể cụ thể đối với kháng nguyên cụ thể của nó. Vùng biến đổi của chuỗi nặng có thể được đề cập đến ở dạng "VH". Vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có thể được đề cập đến ở dạng "VL". Thuật ngữ "biến đổi" đề cập đến một số đoạn nhất định của vùng biến đổi khác hoàn toàn trình tự trong số các kháng thể. Vùng V gián tiếp gắn kết kháng nguyên và xác định tính đặc hiệu của kháng thể cụ thể đối với kháng nguyên cụ thể của nó. Tuy nhiên, sự biến đổi không phân bố đều khắp chiều dài 110 axit amin của vùng biến đổi. Thay vào đó, vùng V ít có khả năng biến đổi (ví dụ, tương đối không biến đổi) gọi là vùng khung (FR) có khoảng 15-30 axit amin được ngăn cách bởi các vùng ngắn hơn có sự biến đổi lớn hơn (ví dụ, sự biến đổi nhiều nhất) gọi là "vùng siêu biến" dài khoảng 9-12 axit amin. Các vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ chứa bốn FR, phần lớn là thông qua cấu hình tấm β, được nối bởi ba vùng siêu biến, tạo thành vòng nối cấu trúc tấm β, và trong một số trường hợp tạo thành một phần của cấu trúc tấm β. Trong mỗi chuỗi, vùng siêu biến được giữ ở trạng thái gần sát với nhau nhờ FR và, với vùng siêu biến của chuỗi khác, góp phần hình thành vị trí gắn kết kháng nguyên của kháng thể (xem, ví dụ, Kabat *et al.*, Sequences of Proteins

of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991)). Các vùng ổn định không trực tiếp tham gia vào sự gắn kết kháng thể với kháng nguyên, nhưng thể hiện chức năng tác động khác nhau, như sự tham gia của kháng thể vào độc tính tế bào phụ thuộc kháng thể (antibody dependent cellular cytotoxicity - ADCC) và độc tính phụ thuộc bổ thể (complement dependent cytotoxicity - CDC). Vùng biến đổi hoàn toàn khác về trình tự giữa các kháng thể khác nhau. Sự biến đổi về trình tự được tập trung ở CDR trong khi các phần ít biến đổi trong vùng biến đổi được đề cập đến ở dạng vùng khung (FR). CDR của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ chủ yếu chịu trách nhiệm về sự tương tác của kháng thể với kháng nguyên. Theo các phương án cụ thể, vùng biến đổi là vùng biến đổi của người.

Thuật ngữ "đánh số gốc vùng biến đổi theo Kabat" hoặc "đánh số vị trí axit amin theo Kabat", và các biến thể của nó, đề cập đến hệ đánh số sử dụng cho vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ của việc dịch mã kháng thể theo Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of lmmunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991). Sử dụng hệ đánh số này, trình tự axit amin tuyến tính thực tế có thể chứa một vài hoặc các axit amin khác tương ứng với việc rút ngắn, hoặc chèn (cài) vào, FR hoặc CDR của miền biến đổi. Ví dụ, miền biến đổi chuỗi nặng có thể bao gồm chèn axit amin đơn (gốc 52a theo Kabat) sau gốc 52 của H2 và các gốc được chèn (ví dụ, các gốc 82a, 82b, và 82c, v.v., theo Kabat) sau gốc 82 của FR chuỗi nặng. Việc đánh số Kabat các gốc có thể được xác định đối với kháng thể cho trước bằng cách sắp hàng ở các vùng tương ứng của trình tự của kháng thể có trình tự được đánh số Kabat "chuẩn". Hệ đánh số Kabat thường được sử dụng khi đề cập đến gốc trong miền biến đổi (khoảng các gốc 1-107 của chuỗi nhẹ và các gốc 1-113 của chuỗi nặng) (ví dụ, Kabat *et al.,* Sequences of Immunological Interest. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). "Hệ đánh số EU" hoặc "chỉ số EU" thường được sử dụng khi đề cập đến gốc ở vùng ổn định chuỗi nặng globulin miễn dịch (ví dụ, chỉ số EU đã thông báo trong Kabat *et al.*, supra). "Chỉ số EU theo Kabat" đề cập đến việc đánh số gốc của kháng thể EU IgG 1 của người. Các hệ đánh số khác được mô tả, bao gồm, ví dụ, AbM, Chothia, Contact, IMGT và AHon. Các hệ đánh số khác nhau được minh họa trên các Fig. từ Fig.1 đến Fig.3.

Kháng thể "nguyên vẹn" là kháng thể bao gồm vị trí gắn kết kháng nguyên cũng như CL và ít nhất vùng ổn định chuỗi nặng, CH1, CH2 và CH3. Vùng ổn định có thể

bao gồm vùng ổn định của người hoặc biến thể trình tự axit amin của chúng. Tốt hơn là, kháng thể nguyên vẹn có một hoặc nhiều chức năng tác động.

"Mảnh kháng thể" chứa một phần của kháng thể nguyên vẹn, tốt hơn là vùng gắn kết kháng nguyên hoặc vùng biến đổi của kháng thể nguyên vẹn. Ví dụ về mảnh kháng thể bao gồm, không giới hạn, mảnh Fab, mảnh Fab', mảnh F(ab')2, và mảnh Fv; kháng thể thể hai (diabody) và kháng thể thể hai kép (di-diabody) (xem, ví dụ, Holliger, P. *et al.,* (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. 90:6444-8; Lu, D. *et al.,* (2005) J. Biol. Chem. 280:19665-72; Hudson *et al.*, Nat. Med. 9:129-134 (2003); WO 93/11161; và Patent Mỹ số 5,837,242 và 6,492,123); phân tử kháng thể chuỗi đơn (xem, ví dụ, Patent Mỹ số 4,946,778; 5,260,203; 5,482,858 và 5,476,786); kháng thể miền biến đổi kép (xem, ví dụ, Patent Mỹ số 7,612,181); kháng thể miền biến đổi đơn (SdAbs) (xem, ví dụ, Woolven *et al.*, Immunogenetics 50: 98-101, 1999; Streltsov *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA. 101:12444-12449, 2004); và kháng thể đa đặc hiệu tạo ra từ mảnh kháng thể.

"Mảnh chức năng" hoặc "mảnh gắn kết" hoặc "mảnh gắn kết kháng nguyên" của kháng thể điều trị sẽ bộc lộ ít nhất một nếu không phải một số hoặc tất cả các chức năng sinh học đặc trưng của kháng thể nguyên vẹn, chức năng này bao gồm ít nhất là sự gắn kết với kháng nguyên đích, (ví dụ, mảnh gắn kết beta klotho hoặc mảnh mà gắn kết với beta klotho).

Thuật ngữ "protein dung hợp" như được sử dụng trong bản mô tả này đề cập đến polypeptit chứa trình tự axit amin của kháng thể và trình tự axit amin của polypeptit hoặc protein khác loại (ví dụ, polypeptit hoặc protein bình thường không phải là một phần của kháng thể (ví dụ, kháng thể gắn kết kháng nguyên không kháng beta klotho)). Thuật ngữ "dung hợp" khi sử dụng liên quan đến beta klotho hoặc kháng thể kháng beta klotho đề cập đến sự liên kết giữa peptit hoặc polypeptit, hoặc mảnh, biến thể và/hoặc dẫn xuất của nó, với peptit hoặc polypeptit khác loại. Theo một số phương án nhất định, protein dung hợp giữ lại hoạt tính sinh học của beta klotho hoặc kháng thể kháng beta klotho. Theo một số phương án nhất định, protein dung hợp bao gồm vùng VH, vùng VL, VH CDR (một, hai hoặc ba VH CDR), và/hoặc VL CDR (một, hai hoặc ba VL CDR) của kháng thể beta klotho, trong đó protein dung hợp gắn kết với epitop beta klotho, mảnh beta klotho và/hoặc polypeptit beta klotho.

Thuật ngữ "chuỗi nặng" khi sử dụng đối với kháng thể đề cập đến chuỗi polypeptit khoảng 50-70 kDa, trong đó phần tận cùng amino bao gồm vùng biến đổi khoảng 120 đến 130 axit amin hoặc hơn và phần tận cùng carboxy chứa vùng ổn định. Vùng ổn định có thể là một trong số năm loại phân biệt, (ví dụ, isotyp) đề cập đến ở dạng alpha (α), delta (δ), epsilon (ε), gama (γ) và mu (μ), dựa vào trình tự axit amin của vùng ổn định chuỗi nặng. Các chuỗi nặng phân biệt khác về kích cỡ: α, δ và γ chứa khoảng 450 axit amin, trong khi μ và ε chứa khoảng 550 axit amin. Khi kết hợp với chuỗi nhẹ, các loại chuỗi nặng phân biệt này lần lượt tạo ra năm lớp (ví dụ, isotyp) kháng thể đã biết, IgA, IgD, IgE, IgG và IgM, bao gồm bốn phân lớp của IgG, cụ thể là IgG1, IgG2, IgG3 và IgG4. Chuỗi nặng có thể là chuỗi nặng của người.

Thuật ngữ "chuỗi nhẹ" khi sử dụng đối với kháng thể đề cập đến chuỗi polypeptit khoảng 25 kDa, trong đó phần tận cùng amino bao gồm vùng biến đổi khoảng 100 đến khoảng 110 axit amin hoặc hơn và phần tận cùng carboxy bao gồm vùng ổn định. Chiều dài xấp xỉ của chuỗi nhẹ là 211 đến 217 axit amin. Có hai loại phân biệt, ở dạng kapa (κ) hoặc lamđa (λ) dựa vào trình tự axit amin của miền ổn định. Trình tự axit amin chuỗi nhẹ là đã biết trong tình trạng kỹ thuật. Chuỗi nhẹ có thể là chuỗi nhẹ của người.

Thuật ngữ "chủ thể" như được sử dụng trong bản mô tả này đề cập đến động vật, như động vật có vú (ví dụ, người).

Thuật ngữ "tế bào chủ" như được sử dụng trong bản mô tả này đề cập đến tế bào cụ thể mà có thể được chuyển nhiễm với phân tử axit nucleic và tế bào con của tế bào này hoặc tế bào con tiềm tàng của tế bào này. Tế bào con của tế bào này có thể không giống tế bào gốc được chuyển nhiễm với phân tử axit nucleic do đột biến hoặc ảnh hưởng môi trường mà có thể xuất hiện ở các thế hệ tiếp theo hoặc tổ hợp phân tử axit nucleic trong bộ gen tế bào chủ.

Thuật ngữ "kháng thể đơn dòng" như được sử dụng trong bản mô tả này đề cập đến kháng thể thu được từ nhóm kháng thể gần như đồng nhất, ví dụ, các kháng thể riêng lẻ bao gồm nhóm này là giống nhau ngoại trừ khả năng đột biến tự nhiên mà có thể có mặt ở lượng nhỏ, và mỗi kháng thể đơn dòng thường nhận ra epitop đơn trên kháng nguyên. Theo các phương án cụ thể, "kháng thể đơn dòng," khi sử dụng trong sáng chế, là kháng thể được sản xuất từ tế bào lai đơn hoặc tế bào khác, trong đó kháng thể chỉ gắn kết với epitop beta klotho như được xác định, ví dụ, bằng ELISA hoặc thử nghiệm gắn kết kháng nguyên hoặc thử nghiệm gắn kết cạnh tranh đã biết trong tình

trạng kỹ thuật. Thuật ngữ "đơn dòng" không giới hạn ở phương pháp cụ thể bất kỳ để tạo ra kháng thể. Ví dụ, kháng thể đơn dòng hữu dụng trong sáng chế có thể được sản xuất bằng phương pháp tế bào lai được mô tả lần đầu tiên bởi Kohler *et al.*, Nature, 256:495 (1975), hoặc có thể được sản xuất bằng cách sử dụng các phương pháp ADN tái tổ hợp ở vi khuẩn, động vật có nhân điển hình hoặc tế bào thực vật (xem, ví dụ, Patent Mỹ số 4,816,567). "Kháng thể đơn dòng" cũng có thể được phân lập từ thư viện kháng thể thể thực khuẩn sử dụng các kỹ thuật được mô tả, ví dụ, trong Clackson *et al.*, Nature, 352:624-628 (1991) và Marks *et al.*, J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991). Các phương pháp khác để điều chế dòng tế bào vô tính và kháng thể đơn dòng được biểu hiện bởi chúng là đã biết rõ trong tình trạng kỹ thuật (xem, ví dụ, Chương 11 trong tài liệu: Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 5th Ed., Ausubel *et al.*, eds., John Wiley and Sons, New York). Các phương pháp được lấy làm ví dụ về việc sản xuất kháng thể đơn dòng được nêu trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế dưới đây.

Thuật ngữ "tự nhiên" khi sử dụng kết hợp với nguyên liệu sinh học như phân tử axit nucleic, polypeptit, tế bào chủ, và dạng tương tự, đề cập đến nguyên liệu sinh học tìm thấy trong tự nhiên và chưa được thao tác, biến đổi, và/hoặc thay đổi (ví dụ, tách, tinh chế, chọn lọc) bởi con người.

Kháng thể nêu trong bản mô tả này có thể bao gồm kháng thể "khảm", trong đó một phần chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ là giống hệt hoặc tương đồng với các trình tự tương ứng trong kháng thể có nguồn gốc từ các loài cụ thể hoặc thuộc lớp hoặc phân lớp kháng thể, trong khi phần còn lại của (các) chuỗi là giống hệt hoặc tương đồng với các trình tự tương ứng trong kháng thể có nguồn gốc từ các loài khác hoặc thuộc lớp hoặc phân lớp kháng thể khác, cũng như các mảnh kháng thể, với điều kiện là chúng bộc lộ hoạt tính sinh học mong muốn (xem Patent Mỹ số 4,816,567; và Morrison *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)).

Các dạng "được nhân hóa" của kháng thể không phải của người (ví dụ, chuột) là kháng thể khảm bao gồm globulin miễn dịch của người (ví dụ, kháng thể nhận) trong đó gốc CDR tự nhiên được thay thế bởi các gốc từ CDR tương ứng của các loài không phải người (ví dụ, kháng thể cho) như chuột nhắt, chuột cống, thỏ hoặc động vật linh trưởng không phải người có đặc hiệu, ái lực và khả năng thu nhận mong muốn. Trong một số trường hợp, một hoặc nhiều gốc vùng FR của globulin miễn dịch của người được thay thế bởi các gốc tương ứng không phải của người. Hơn thế nữa, kháng thể được nhân hóa có thể bao gồm các gốc không tìm thấy được trong kháng thể nhận

hoặc trong kháng thể cho. Các cải biến này được thực hiện để tiến hành lọc tiếp hiệu năng kháng thể. Chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể được nhân hóa có thể bao gồm gần như tất cả trong số ít nhất một hoặc nhiều vùng biến đổi, trong đó tất cả hoặc gần như tất cả các CDR tương ứng với các vùng của globulin miễn dịch không phải của người và tất cả hoặc gần như tất cả các FR là các vùng của trình tự globulin miễn dịch của người. Theo một số phương án nhất định, kháng thể được nhân hóa bao gồm ít nhất một phần vùng ổn định globulin miễn dịch (Fc), thường là globulin miễn dịch của người. Chi tiết hơn, xem tài liệu Jones *et al.*, Nature, 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, Nature, 332:323-329 (1988); và Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2:593-596 (1992); Carter *et al.*, Proc. Natl. Acd. Sci. USA 89:4285-4289 (1992); và Patent Mỹ số 6,800,738 (cấp ngày 5/10/2004), 6,719,971 (cấp ngày 27/9/2005), 6,639,055 (cấp ngày 28/10/2003), 6,407,213 (cấp 18/6/2002), và 6,054,297 (cấp ngày 25/4/2000).

"Kháng thể của người" là kháng thể có trình tự axit amin tương ứng với trình tự của kháng thể được sản xuất bởi người và/hoặc được tạo ra bằng cách sử dụng kỹ thuật bất kỳ để tạo ra kháng thể của người như được bộc lộ trong bản mô tả này. Đặc biệt, định nghĩa về kháng thể của người loại trừ kháng thể được nhân hóa bao gồm các gốc gắn kết kháng nguyên không phải của người. Kháng thể của người có thể được sản xuất bằng cách sử dụng các kỹ thuật khác nhau đã biết trong tình trạng kỹ thuật, bao gồm thư viện hiển thị trên thể thực khuẩn (Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991); Marks *et al.*, J. Mol. Biol., 222:581 (1991) và thư viện hiển thị trên nấm men (Chao *et al.*, Nature Protocols 1: 755-768 (2006)). Cũng khả dụng cho điều chế kháng thể đơn dòng của người là các phương pháp được mô tả trong tài liệu Cole *et al.*, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner *et al.*, J. Immunol., 147(1):86-95 (1991). Xem tài liệu của van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol., 5: 368-74 (2001). Kháng thể của người có thể được sản xuất bằng cách dùng kháng nguyên cho động vật chuyển gen mà bị biến đổi để sản xuất kháng thể như vậy để đáp ứng thử thách kháng nguyên, nhưng các vị trí nội sinh của chúng không hoạt động, ví dụ, chuột nhắt (xem, ví dụ, Jakobovits, A., Curr. Opin. Biotechnol. 1995, 6(5):561-6; Brüggemann and Taussing, Curr. Opin. Biotechnol. 1997, 8(4):455-8; và Patent Mỹ số 6,075,181 và 6,150,584 liên quan đến kỹ thuật XENOMOUSE™). Xem, ví dụ, Li *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006) liên quan đến kháng thể của người tạo ra thông qua kỹ thuật lai tế bào B của người.

"CDR" đề cập đến một trong số ba vùng siêu biến (H1, H2 hoặc H3) trong vùng không phải khung của khung tấm β của VH của globulin miễn dịch (Ig hoặc kháng thể), hoặc một trong số ba vùng siêu biến (L1, L2 hoặc L3) trong vùng không phải khung của khung tấm β của VL của kháng thể. Do đó, CDR là trình tự vùng biến đổi đặt rải rác trong trình tự vùng khung. Vùng CDR là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này và được xác định theo, ví dụ, Kabat ở dạng vùng có tính siêu biến nhất trong các miền (V) biến đổi kháng thể (Kabat *et al.*, J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977); Kabat, Adv. Prot. Chem. 32:1-75 (1978)). Trình tự vùng CDR còn được xác định về mặt cấu trúc theo Chothia ở dạng các gốc không phải là một phần của khung tấm β bảo toàn, và do đó có khả năng thích nghi với các hình dạng khác nhau (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). Cả hai thuật ngữ được nhận biết rõ trong tình trạng kỹ thuật. Trình tự vùng CDR cũng được xác định theo AbM, Contact và IMGT. Trình tự vùng CDR được minh họa trên các Fig. 1-3. Vị trí của các CDR trong vùng biến đổi kháng thể tiêu chuẩn được xác định bằng cách so sánh nhiều cấu trúc (Al-Lazikani *et al.*, J. Mol. Biol. 273:927-948 (1997); Morea *et al.*, Methods 20:267-279 (2000)). Bởi vì số lượng gốc trong vùng siêu biến thay đổi trong các kháng thể khác nhau, các gốc khác tương ứng với các vị trí tiêu chuẩn thường được đánh số là a, b, c và v.v., sát với số gốc trong sơ đồ đánh số vùng biến đổi tiêu chuẩn (Al-Lazikani *et al.*, supra (1997)). Tương tự, danh pháp như vậy là đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Thuật ngữ "vùng siêu biến", "HVR", hoặc "HV", khi sử dụng trong bản mô tả này đề cập đến các vùng của vùng biến đổi kháng thể là siêu biến trong trình tự và/hoặc tạo các vòng đã được xác định cấu trúc. Nói chung, kháng thể bao gồm sáu vùng siêu biến; ba trong VH (H1, H2, H3), và ba trong VL (L1, L2, L3). Một số hình vẽ vùng siêu biến được sử dụng và bao gồm trong sáng chế. Vùng xác định tính bổ trợ Kabat (Complementarity Determining Region - CDR) dựa trên sự biến đổi trình tự và thường được sử dụng nhiều nhất (xem, ví dụ, Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). Chothia đề cập đến sự thay thế vị trí cấu trúc vòng (xem, ví dụ, Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). Đầu của vòng Chothia CDR-H1 khi đánh số sử dụng quy ước đánh số Kabat thay đổi giữa H32 và H34 phụ thuộc vào độ dài của vòng (đó là bởi vì sơ đồ đánh số Kabat đặt vị trí chèn ở H35A và H35B; nếu không có 35A và 35B, vòng kết thúc ở 32; nếu chỉ có 35A, vùng kết thúc ở 33; nếu có cả 35A và 35B, vùng kết thúc ở 34). Vùng siêu biến AbM thể hiện sự dàn xếp

giữa CDR Kabat và cấu trúc vòng Chothia, và được sử dụng bằng phần mềm tạo mẫu kháng thể AbM Oxford Molecular (xem, ví dụ, Martin, in Antibody Engineering, Vol. 2, Chapter 3, Springer Verlag). Vùng siêu biến "contact" dựa trên việc phân tích cấu trúc tinh thể phức sẵn có. Các gốc của vùng siêu biến hoặc CDR được lưu ý dưới đây.

Gần đây, hệ đánh số chung được phát triển và được chấp nhận rộng rãi, là ImMunoGeneTics (IMGT) Information System® (Lafranc *et al.*, Dev. Comp. Immunol. 27(1):55-77 (2003)). IMGT là hệ thống thông tin kết hợp chuyên về globulin miễn dịch (IG), thụ thể tế bào T (TR) và phức hợp tương thích mô chính (major histocompatibility complex - MHC) của người và động vật có xương sống khác. Trong bản mô tả này, CDR được đề cập đến xét theo cả trình tự axit amin và vị trí trong chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng. Đối với "vị trí" của CDR trong cấu trúc của miền biến đổi globulin miễn dịch được bảo toàn giữa các loài và có mặt trong cấu trúc được gọi là vòng, bằng cách sử dụng hệ đánh số mà sắp hàng trình tự miền biến đổi theo đặc điểm cấu trúc, CDR và các gốc khung và được nhận biết dễ dàng. Thông tin này có thể được sử dụng trong việc ghép và thay thế các gốc CDR từ globulin miễn dịch của một loài vào khung nhận, thường là, từ kháng thể của người. Hệ đánh số bổ sung (AHon) được phát triển bởi Honegger và Plückthun, *J. Mol. Biol.* 309: 657-670 (2001). Sự tương ứng giữa hệ đánh số, bao gồm, ví dụ, hệ đánh số Kabat và hệ đánh số duy nhất IMGT, là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này (xem, ví dụ, Kabat, *supra*; Chothia and Lesk, *supra*; Martin, *supra*; Lefranc *et al.*, *supra*) và còn được minh họa trên các Fig. 1-3. Hệ được lấy làm ví dụ, được thể hiện trong bản mô tả này, kết hợp Kabat và Chothia.

	Ví dụ	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	Contact
V_H CDR1	26-35	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
V_H CDR2	50-65	56-65	50-65	50-58	53-55	47-58
V_H CDR3	95-102	105-117	95-102	95-102	96-101	93-101
V_L CDR1	24-34	27-38	24-34	24-34	26-32	30-36
V_L CDR2	50-56	56-65	50-56	50-56	50-52	46-55
V_L CDR3	89-97	105-117	89-97	89-97	91-96	89-96

Vùng siêu biến có thể bao gồm "vùng siêu biến mở rộng" như sau: 24-36 hoặc 24-34 (L1), 46-56 hoặc 50-56 (L2) vàd 89-97 hoặc 89-96 (L3) trong VL và 26-35 hoặc 26-35A (H1), 50-65 hoặc 49-65 (H2) và 93-102, 94-102, hoặc 95-102 (H3) trong VH. Khi sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "HVR" và "CDR" được sử dụng thay thế cho nhau.

Thuật ngữ "vùng ổn định" hoặc "miền ổn định" đề cập đến phần tận cùng carboxy của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng không trực tiếp liên quan đến sự gắn kết kháng thể với kháng nguyên nhưng bộc lộ chức năng tác động khác nhau, như tương tác với thụ thể Fc. Các thuật ngữ này đề cập đến phần phần tử globulin miễn dịch có trình tự axit amin bảo toàn hơn so với phần khác của globulin miễn dịch, vùng biến đổi, mà chứa vị trí gắn kết kháng nguyên. Vùng ổn định có thể chứa các vùng CH1, CH2 và CH3 của chuỗi nặng và vùng CL của chuỗi nhẹ.

Thuật ngữ các gốc "khung" hoặc "FR" là các gốc của vùng biến đổi bên cạnh CDR. Gốc FR có mặt, ví dụ, trong kháng thể khảm, kháng thể được nhân hóa, kháng thể của người, kháng thể miền, kháng thể thể hai, kháng thể thẳng, và kháng thể hai đặc hiệu. Gốc FR là các gốc của miền biến đổi không phải gốc của vùng siêu biến hoặc gốc CDR.

Kháng thể "thuần thục ái lực" là kháng thể có một hoặc nhiều thay đổi (ví dụ, biến đổi về trình tự axit amin, bao gồm thay đổi, thêm và/hoặc xóa) trong một hoặc nhiều HVR của nó dẫn đến tăng cường ái lực của kháng thể đối với kháng nguyên, so với kháng thể gốc không có thay đổi. Các kháng thể thuần thục ái lực được ưu tiên sẽ có ái lực nanomol hoặc thậm chí là ái lực picomol đối với kháng nguyên đích. Kháng thể thuần thục ái lực được tạo ra bằng quy trình đã biết trong tình trạng kỹ thuật. Xem Hudson and Souriau, Nature Medicine 9 :129-134 (2003); Hoogenboom, Nature Biotechnol. 23 : 1105-1116 (2005); Quiroz and Sinclair, Revista Ingeneria Biomedia 4 : 39-51 (2010).

Kháng thể "ức chế" hoặc kháng thể "đối kháng" là kháng thể ức chế hoặc làm giảm hoạt tính sinh học của kháng nguyên mà nó gắn kết. Ví dụ, kháng thể ức chế hoặc kháng thể đối kháng có thể gần như hoặc hoàn toàn ức chế hoạt tính sinh học của kháng nguyên.

"Kháng thể chủ vận" là kháng thể khơi mào phản ứng, ví dụ, kháng thể bắt chước ít nhất một trong số các hoạt tính chức năng của polypeptit nghiên cứu (ví dụ,

FGF19 hoặc FGF21). Kháng thể chủ vận bao gồm kháng thể là phối tử bắt chước, ví dụ, trong đó phối tử gắn kết với thụ thể bề mặt tế bào và việc gắn kết tạo ra tín hiệu tế bào hoặc hoạt tính thông qua con đường tín hiệu tế bào gian bào và trong đó kháng thể tạo ra tín hiệu tế bào hoặc hoạt tính tương tự.

"Chất chủ vận" beta klotho đề cập đến phân tử có khả năng hoạt hóa hoặc mặt khác làm tăng một hoặc nhiều hoạt tính sinh học của beta klotho, như trong tế bào biểu hiện beta klotho và thụ thể FGF. Theo một số phương án, chất chủ vận beta klotho (ví dụ, kháng thể chủ vận như được mô tả trong bản mô tả này) có thể, ví dụ, hoạt động bằng cách hoạt hóa hoặc mặt khác làm tăng hoạt tính và/hoặc con đường phát tín hiệu tế bào của tế bào biểu hiện protein beta klotho và thụ thể FGF, nhờ đó làm tăng hoạt tính sinh học qua trung gian beta klotho của tế bào so với hoạt tính sinh học qua trung gian beta klotho không có mặt chất chủ vận. Theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này là kháng thể chủ vận kháng beta klotho, bao gồm kháng thể tạo ra tín hiệu giống FGF19 và/hoặc tín hiệu giống FGF21.

"Ái lực gắn kết" thường đề cập đến cường độ tổng của các tương tác không cộng hóa trị giữa vị trí gắn kết đơn của phân tử (ví dụ, protein gắn kết như kháng thể) và thành phần gắn kết của nó (ví dụ, kháng nguyên). Trừ khi có quy định khác, khi sử dụng trong bản mô tả này, "ái lực gắn kết" đề cập đến ái lực gắn kết bên trong mà phản ánh tương tác 1:1 giữa các thành phần của cặp gắn kết (ví dụ, kháng thể và kháng nguyên). Ái lực của phân tử gắn kết X đối với thành phần gắn kết của nó Y thường có thể được đại diện bởi hằng số phân ly (K_D). Ái lực có thể được đo bằng các phương pháp chung đã biết trong tình trạng kỹ thuật, bao gồm các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này. Kháng thể có ái lực thấp thường gắn kết kháng nguyên chậm và có xu hướng dễ tách ra, trong khi đó kháng thể có ái lực cao thường gắn kết kháng nguyên nhanh hơn và có xu hướng giữ liên kết lâu hơn. Phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp đo ái lực gắn kết khác nhau đã biết trong tình trạng kỹ thuật, có thể được sử dụng nhằm mục đích của sáng chế. Các phương án minh họa cụ thể bao gồm như sau. Theo một phương án, "K_D" hoặc "giá trị K_D" có thể được đo bằng các thử nghiệm đã biết trong tình trạng kỹ thuật, ví dụ bằng thử nghiệm gắn kết. K_D có thể được đo trong thử nghiệm gắn kết kháng nguyên được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ (radiolabeled antigen binding assay - RIA), ví dụ, thực hiện với dạng Fab của kháng thể nghiên cứu và kháng nguyên của nó (Chen, *et al.*, (1999) J. Mol Biol 293:865-881). K_D hoặc giá trị K_D cũng có thể được đo bằng cách sử dụng thử nghiệm cộng

hưởng plasmon bề mặt bằng Biacore, sử dụng, ví dụ, BIAcoreTM-2000 hoặc BIAcoreTM-3000 BIAcore, Inc., Piscataway, NJ), hoặc bằng cách đo giao thoa lớp sinh học sử dụng, ví dụ, hệ OctetQK384 (ForteBio, Menlo Park, CA). "Tốc độ mở" hoặc "tốc độ liên kết" hoặc "kon" cũng có thể được xác định bằng các kỹ thuật cộng hưởng plasmon bề mặt hoặc giao thoa lớp sinh học đã mô tả ở trên sử dụng, ví dụ, BIAcoreTM-2000 hoặc BIAcoreTM-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ), hoặc hệ OctetQK384 (ForteBio, Menlo Park, CA).

Cụm từ "gần tương tự" hoặc "gần giống" chỉ mức độ giống nhau đáng kể giữa hai giá trị bằng số (ví dụ, một giá trị liên quan đến kháng thể của sáng chế và giá trị còn lại liên quan đến kháng thể tham chiếu) sao cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể coi sự khác nhau giữa hai giá trị này là nhỏ hoặc không quan trọng về mặt sinh học và/hoặc thống kê trong trường hợp đặc trưng sinh học được đo bằng các giá trị này (ví dụ, giá trị K_D). Ví dụ, sự khác nhau giữa hai giá trị có thể là nhỏ hơn khoảng 50%, nhỏ hơn khoảng 40%, nhỏ hơn khoảng 30%, nhỏ hơn khoảng 20%, nhỏ hơn khoảng 10%, nhỏ hơn khoảng 5%, ở dạng hàm giá trị của kháng thể tham chiếu.

Cụm từ "gần như giảm," hoặc "gần như khác nhau", khi sử dụng trong bản mô tả này, chỉ mức độ khác nhau đáng kể giữa hai giá trị bằng số (ví dụ, một giá trị liên quan đến kháng thể của sáng chế và giá trị còn lại liên quan đến kháng thể tham chiếu) sao cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể coi sự khác nhau giữa hai giá trị này là đáng kể về mặt thống kê trong trường hợp đặc trưng sinh học được đo bằng các giá trị này. Ví dụ, tốt hơn là, sự khác nhau giữa hai giá trị này có thể là lớn hơn khoảng 10%, lớn hơn khoảng 20%, lớn hơn khoảng 30%, lớn hơn khoảng 40%, lớn hơn khoảng 50% ở dạng hàm giá trị của kháng thể tham chiếu.

"Chức năng tác động" của kháng thể đề cập đến hoạt tính sinh học cho vùng Fc (ví dụ, Vùng Fc có trình tự tự nhiên hoặc vùng Fc có trình tự axit amin biến đổi) của kháng thể, và thay đổi theo isotyp kháng thể. Ví dụ về chức năng tác động của kháng thể bao gồm: độc tính tế bào phụ thuộc bổ thể và gắn kết C1q; gắn kết thụ thể Fc; gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể (antibody-dependent cell-cytotoxicity - ADCC); thực bào; giảm điều hòa thụ thể bề mặt tế bào (ví dụ, thụ thể tế bào B); và hoạt hóa tế bào B.

Thuật ngữ "vùng Fc" trong bản mô tả này được sử dụng để xác định vùng tận cùng C của chuỗi nặng globulin miễn dịch, bao gồm, ví dụ, vùng Fc có trình tự tự

nhiên, vùng Fc tái tổ hợp, và vùng Fc biến đổi. Mặc dù ranh giới của vùng Fc của chuỗi nặng globulin miễn dịch có thể thay đổi, nhưng vùng Fc của chuỗi nặng IgG của người thường được xác định là kéo dài từ gốc axit amin ở vị trí Cys226, hoặc từ Pro230, đến đầu tận cùng carboxyl của nó. Lysin tận cùng C (gốc 447 theo hệ đánh số EU) của vùng Fc có thể bị loại bỏ, ví dụ, trong khi sản xuất hoặc tinh chế kháng thể, hoặc bằng cách tạo axit nucleic mã hóa chuỗi nặng của kháng thể theo cách tái tổ hợp. Do đó, chế phẩm chứa kháng thể nguyên vẹn có thể bao gồm nhóm kháng thể có tất cả các gốc K447 bị loại bỏ, nhóm kháng thể không có gốc K447 loại bỏ, và nhóm kháng thể có hỗn hợp các kháng thể có và không có gốc K447.

"Vùng Fc chức năng" có "chức năng tác động" của Vùng Fc có trình tự tự nhiên. "Chức năng tác động" được lấy làm ví dụ bao gồm gắn kết C1q; độc tính tế bào phụ thuộc bổ thể (complement dependent cytotoxicity - CDC); gắn kết thụ thể Fc; gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity - ADCC); thực bào; giảm điều hòa thụ thể bề mặt tế bào (ví dụ, thụ thể tế bào B; BCR), v.v.. Chức năng tác động này thường yêu cầu vùng Fc kết hợp với vùng gắn kết hoặc miền gắn kết (ví dụ, vùng hoặc miền biến đổi kháng thể) và có thể được đánh giá bằng cách sử dụng các thử nghiệm khác nhau như đã bộc lộ.

"Vùng Fc có trình tự tự nhiên" bao gồm trình tự axit amin giống với trình tự axit amin của vùng Fc tìm thấy trong tự nhiên, và không được thao tác, biến đổi, và/hoặc thay đổi (ví dụ, tách, tinh chế, chọn lọc, bao gồm hoặc kết hợp với các trình tự khác như trình tự vùng biến đổi) bởi người. Vùng Fc có trình tự tự nhiên của người bao gồm vùng IgG1 Fc của trình tự tự nhiên của người (alen không phải A và alen A); vùng IgG2 Fc có trình tự tự nhiên của người; vùng IgG3 Fc có trình tự tự nhiên của người; và vùng IgG4 Fc có trình tự tự nhiên của người cũng như các biến thể có trong tự nhiên của chúng.

"Vùng Fc biến đổi" bao gồm trình tự axit amin khác với trình tự axit amin của vùng Fc có trình tự tự nhiên do biến đổi ít nhất một axit amin, (ví dụ, thay thế, thêm, hoặc xóa) tốt hơn là một hoặc nhiều sự thay thế axit amin. Tốt hơn là, vùng Fc biến đổi có ít nhất một sự thay thế axit amin so với vùng Fc có trình tự tự nhiên hoặc vùng Fc của polypeptit gốc, ví dụ, từ khoảng một đến mười sự thay thế axit amin, và tốt hơn là từ khoảng một đến năm sự thay thế axit amin trong vùng Fc có trình tự tự nhiên hoặc trong vùng Fc của polypeptit gốc. Vùng Fc biến đổi tốt hơn là có ít nhất khoảng 80% tương đồng với vùng Fc có trình tự tự nhiên và/hoặc với vùng Fc của polypeptit

gốc, và tốt hơn nữa là ít nhất khoảng 90% tương đồng, ví dụ, ít nhất khoảng 95% tương đồng. Ví dụ, biến thể có hai sự thay đổi axit amin với alanin ở hai vị trí trong trình tự IgG1 Fc của người được thể hiện đậm nét trong trình tự axit amin nêu dưới đây:

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP**ALA**GGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO:316)

Trình tự biến thể này có thể được sử dụng trong cấu trúc chuỗi nặng được nhân hóa như được thể hiện dưới đây đối với 5H23-vH3 được nhân hóa (xem ví dụ 7) gọi là 5H23(vH3)-hIgG1(E233A)(L235A) như nêu dưới đây; axit amin tạo ra trình tự tín hiệu được gạch dưới và trình tự vùng biến đổi được in đậm:

mdmrvpaqllgllllwlrgarc**QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQA**
PGQGLEWIGWIYPGDGSTKYNEKFKGKATITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYFCARSDYY
GSRSFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO:317)

"Vùng ổn định chuỗi nhẹ" bao gồm các vùng ổn định kapa và lamđa. Vùng ổn định kappa được lấy làm ví dụ được nêu dưới đây:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(SEQ ID NO: 318)

Trình tự vùng ổn định kappa như vậy có thể được sử dụng trong cấu trúc chuỗi nhẹ được nhân hóa như thể hiện dưới đây đối với 5H23-vL2 được nhân hóa (xem ví dụ 7) như nêu dưới đây; axit amin tạo ra trình tự tín hiệu được gạch dưới và trình tự vùng biến đổi được in đậm:

mdmrvpaqllgllllwlrgarcDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSVSTSGYVYMHWY
QQKPGQPPKLLIYLASYLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSVQAEDVAVYYCQHSRDLTFPF
GGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO: 319)

Thuật ngữ "biến thể" khi sử dụng liên quan đến beta klotho hoặc kháng thể kháng beta klotho có thể đề cập đến peptit hoặc polypeptit chứa một hoặc nhiều (như, ví dụ, khoảng 1 đến khoảng 25, khoảng 1 đến khoảng 20, khoảng 1 đến khoảng 15, khoảng 1 đến khoảng 10, hoặc khoảng 1 đến khoảng 5) sự thay thế, xóa, và/hoặc thêm trình tự axit amin so với trình tự beta klotho tự nhiên hoặc không biến đổi. Ví dụ, biến thể beta klotho có thể thu được từ một hoặc nhiều (như, ví dụ, khoảng 1 đến khoảng 25, khoảng 1 đến khoảng 20, khoảng 1 đến khoảng 15, khoảng 1 đến khoảng 10, hoặc khoảng 1 đến khoảng 5) sự thay đổi về trình tự axit amin của beta klotho tự nhiên. Cũng bằng ví dụ, biến thể của kháng thể kháng beta klotho có thể thu được từ một hoặc nhiều (như, ví dụ, khoảng 1 đến khoảng 25, khoảng 1 đến khoảng 20, khoảng 1 đến khoảng 15, khoảng 1 đến khoảng 10, hoặc khoảng 1 đến khoảng 5) sự thay đổi về trình tự axit amin của kháng thể kháng beta klotho tự nhiên hoặc không biến đổi trước đó. Biến thể có thể xuất hiện tự nhiên, như biến thể alen hoặc biến thể ghép, hoặc có thể được dựng nhân tạo. Biến thể polypeptit có thể được điều chế từ các phân tử axit nucleic tương ứng mã hóa biến thể. Theo các phương án cụ thể, biến thể beta klotho hoặc biến thể kháng thể kháng beta klotho ít nhất là giữ hoạt tính chức năng của beta klotho hoặc kháng thể kháng beta klotho, tương ứng. Theo các phương án cụ thể, biến thể kháng thể kháng beta klotho gắn kết beta klotho và/hoặc có hoạt tính đối kháng beta klotho. Theo các phương án cụ thể, biến thể kháng thể kháng beta klotho gắn kết beta klotho và/hoặc có hoạt tính chủ vận với beta klotho. Theo một số phương án nhất định, biến thể được mã hóa bởi biến thể đa hình nucleotit đơn (single nucleotide polymorphism - SNP) của phân tử axit nucleic mà mã hóa beta klotho hoặc vùng hoặc phân vùng VH hoặc VL của kháng thể kháng beta klotho, như một hoặc nhiều CDR.

Thuật ngữ "vectơ" đề cập đến chất được sử dụng để mang hoặc chứa trình tự axit nucleic, bao gồm, ví dụ, đưa trình tự axit nucleic vào tế bào chủ. Các vectơ thích hợp để sử dụng bao gồm, ví dụ, vectơ biểu hiện, plasmit, vectơ thể thực khuẩn, vectơ virut, episom và nhiễm sắc thể nhân tạo, có thể bao gồm trình tự chọn lọc hoặc chất đánh dấu có thể kết hợp ổn định vào nhiễm sắc thể của tế bào chủ. Ngoài ra, vectơ có

thể bao gồm một hoặc nhiều gen đánh dấu chọn lọc được và trình tự kiểm soát biểu hiện thích hợp. Gen đánh dấu chọn lọc được có thể được bao gồm, ví dụ, tạo sự kháng thuốc kháng sinh hoặc độc tố, bù cho các thiếu hụt do khuyết dưỡng, hoặc cung cấp dinh dưỡng giới hạn không trong môi trường nuôi cấy. Trình tự kiểm soát biểu hiện có thể bao gồm gen khởi đầu cơ định và gen khởi đầu cảm ứng, vùng tăng cường phiên mã, vùng kết thúc phiên mã, và vùng tương tự là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Khi hai hoặc nhiều phân tử axit nucleic được biểu hiện đồng thời (ví dụ, cả chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể hoặc VH và VL của kháng thể) cả hai phân tử axit nucleic có thể được chèn, ví dụ, vào một vectơ biểu hiện duy nhất hoặc vào các vectơ biểu hiện riêng rẽ. Đối với vectơ biểu hiện duy nhất, axit nucleic mã hóa có thể được liên kết hoạt động với một trình tự kiểm soát biểu hiện chung hoặc liên kết với các trình tự kiểm soát biểu hiện khác nhau, như một gen khởi đầu cảm ứng và một gen khởi đầu cơ định. Việc đưa phân tử axit nucleic vào tế bào chủ có thể được xác định bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong tình trạng kỹ thuật. Các phương pháp này bao gồm, ví dụ, phân tích axit nucleic như phương pháp Northern blot hoặc khuếch đại phản ứng chuỗi sử dụng polymeraza (polymerase chain reaction - PCR) đối với ARN thông tin, hoặc thấm tách miễn dịch để biểu hiện sản phẩm gen, hoặc phương pháp phân tích thích hợp khác để kiểm tra sự biểu hiện của trình tự axit nucleic đưa vào hoặc sản phẩm gen tương ứng của nó. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này hiểu rằng phân tử axit nucleic được biểu hiện với lượng đủ để sản xuất sản phẩm mong muốn (*ví dụ,* kháng thể kháng beta klotho như được mô tả trong bản mô tả này), và còn hiểu rằng các mức biểu hiện có thể được tối ưu hóa để thu được biểu hiện thích hợp bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong tình trạng kỹ thuật.

"Gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể" hoặc "ADCC" đề cập đến dạng gây độc tế bào trong đó Ig tiết liên kết trên thụ thể Fc (FcR) có mặt trên một số tế bào gây độc tế bào nhất định (ví dụ, tế bào giết tự nhiên (Natural Killer - NK), bạch cầu trung tính, và đại thực bào) cho phép các tế bào tác động gây độc tế bào này gắn kết đặc hiệu với tế bào đích mang kháng nguyên và sau đó giết tế bào đích bằng độc tố tế bào. Kháng thể "vũ trang" cho tế bào gây độc tế bào và chắc chắn cần cho việc giết như vậy. Tế bào sơ cấp để làm trung gian ADCC, tế bào NK, chỉ biểu hiện FcγRIII, trong khi bạch cầu đơn nhân biểu hiện FcγRI, FcγRII và FcγRIII. Sự biểu hiện FcR trên tế bào tạo máu là đã biết (xem, ví dụ, bảng 3, trang 464, tài liệu của Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92 (1991)). Để đánh giá hoạt tính ADCC của phân tử nghiên cứu, thử nghiệm ADCC *in vitro*, (xem, ví dụ, Patent Mỹ số

5,500,362 hoặc 5,821,337) có thể được thực hiện. Các tế bào tác động hữu dụng cho các thử nghiệm này bao gồm tế bào đơn nhân máu ngoại vi (peripheral blood mononuclear cells - PBMC) và tế bào giết tự nhiên (Natural Killer - NK). Theo cách khác, hoặc ngoài ra, hoạt tính ADCC của phân tử nghiên cứu có thể được đánh giá *in vivo*, ví dụ, ở mô hình động vật (xem, ví dụ, Clynes *et al.* (USA) 95:652-656 (1998)). Các kháng thể có ít hoặc không có hoạt tính ADCC có thể được chọn để sử dụng.

"Thụ thể Fc" hoặc "FcR" mô tả thụ thể gắn kết với vùng Fc của kháng thể. FcR được ưu tiên là FcR có trình tự tự nhiên của người. Hơn nữa, FcR được ưu tiên là thụ thể gắn kết kháng thể IgG (ví dụ, thụ thể gama) và bao gồm các thụ thể của các phân lớp FcγRI, FcγRII và FcγRIII, bao gồm các biến thể alen và theo cách khác là các dạng ghép nối của các thụ thể này. Thụ thể FcγRII bao gồm FcγRIIA ("thụ thể hoạt hóa") và FcγRIIB ("thụ thể ức chế"), có trình tự axit amin tương tự mà chủ yếu khác về miền bào chất của chúng (xem, ví dụ, tài liệu Daëron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)). FcR là đã biết (xem, ví dụ, Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991); Capel *et al.*, Immunomethods 4:25-34 (1994); và de Haas *et al.*, J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995)). Các FcR khác, bao gồm các FcR được nhận biết trong tương lai, được bao gồm bởi thuật ngữ "FcR" trong bản mô tả này. Thuật ngữ này còn bao gồm thụ thể mới sinh, FcRn, chịu trách nhiệm chuyển IgG của cơ thể mẹ đến thai nhi (xem, ví dụ, Guyer *et al.*, J. Immunol. 117:587 (1976) và Kim *et al.*, J. Immunol. 24:249 (1994)). Các biến thể kháng thể cải tiến hoặc thu nhỏ gắn kết với FcR được mô tả (xem, ví dụ, trong WO 2000/42072; Patent Mỹ số 7,183,387, 7,332,581 và 7.335,742; Shields *et al.* J. Biol. Chem. 9(2):6591-6604 (2001)).

"Gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể" hoặc "CDC" đề cập đến sự phân giải tế bào đích với sự có mặt của bổ thể. Hoạt động của con đường bổ thể cổ điển được bắt đầu từ việc gắn kết bổ thể thứ nhất của hệ thống bổ thể (C1q) với kháng thể (của phân lớp thích hợp) được gắn kết với kháng nguyên cùng nguồn gốc của chúng. Để đánh giá hoạt hóa bổ thể, thử nghiệm CDC, (xem, ví dụ, Gazzano-Santoro *et al.*, J. Immunol. Methods 202:163 (1996)), có thể được thực hiện. Các biến thể polypeptit có các trình tự axit amin của vùng Fc thay đổi (polypeptit có vùng Fc thay đổi) và khả năng gắn kết C1q tăng hoặc giảm được mô tả, (xem, ví dụ, Patent Mỹ số 6,194,551, WO 1999/51642, Idusogie *et al.* J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)). Các kháng thể có ít hoặc không có hoạt tính CDC có thể được chọn để sử dụng.

"Miền ngoại bào" hoặc "ECD" của polypeptit beta klotho đề cập đến dạng polypeptit beta klotho chủ yếu không có miền xuyên màng và bào chất. Ví dụ, ECD của polypeptit beta klotho có thể có ít hơn 1% miền xuyên màng và/hoặc bào chất và tốt hơn là, có thể có ít hơn 0,5% các miền này. Thuật ngữ "giống hệt" đề cập đến mối quan hệ giữa các trình tự của hai hoặc nhiều phân tử polypeptit hoặc hai hoặc nhiều phân tử axit nucleic, được xác định bằng cách sắp hàng và so sánh các trình tự. "Phần trăm giống hệt" nghĩa là phần trăm các gốc giống hệt nhau giữa các axit amin hoặc nucleotit trong các phân tử so sánh và được tính dựa trên kích cỡ phân tử nhỏ nhất được so sánh. Đối với việc tính toán, khi sắp hàng các khoảng trống (nếu có) phải được giải quyết bằng mô hình toán học hoặc chương trình máy tính cụ thể (ví dụ, "thuật toán"). Các phương pháp mà có thể được sử dụng để tính toán độ giống hệt của axit nucleic hoặc polypeptit được sắp hàng bao gồm các phương pháp được mô tả trong tài liệu Computational Molecular Biology, (Lesk, A. M., ed.), (1988) New York: Oxford University Press; Biocomputing Informatics and Genome Projects, (Smith, D. W., ed.), 1993, New York: Academic Press; Computer Analysis of SEQuence Data, Part I, (Griffin, A. M., và Griffin, H. G., eds.), 1994, New Jersey: Humana Press; von Heinje, G., (1987) Sequence Analysis in Molecular Biology, New York: Academic Press; Sequence Analysis Primer, (Gribskov, M. and Devereux, J., eds.), 1991, New York: M. Stockton Press; và Carillo *et al.*, (1988) SIAM J. Applied Math. 48:1073.

Để tính phần trăm giống hệt, các trình tự so sánh có thể được sắp hàng theo cách tạo ra mức độ khớp cao nhất giữa các trình tự. Chương trình máy tính có thể được sử dụng để xác định phần trăm giống hệt là bộ chương trình GCG, bao gồm GAP (Devereux et al., (1984) Nucl. Acid Res. 12:387; Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, Wis.). Thuật toán máy tính GAP sử dụng để sắp hàng hai polypeptit hoặc polynucleotit để phần trăm độ giống hệt trình tự được xác định. Các trình tự có thể được sắp hàng để so khớp tối ưu axit amin hoặc nucleotit tương ứng của chúng ("chiều dài so khớp", được xác định bằng thuật toán). Điểm phạt khoảng trống đầu tiên (được tính ở dạng 3 lần đường chéo trung bình, trong đó "đường chéo trung bình" là trung bình đường chéo của ma trận so sánh được sử dụng; "đường chéo" là điểm hoặc số gán cho mỗi axit amin hoàn chỉnh bằng ma trận so sánh cụ thể) và điểm phạt phần trống phía sau (thường là 1/10 lần điểm phạt khoảng trống phía sau), cũng như ma trận so sánh như PAM 250 hoặc BLOSUM 62 được sử dụng cùng với thuật toán. Theo một số phương án nhất định, ma trận so sánh chuẩn (xem, Dayhoff *et al.*, (1978) Atlas of Protein Sequence and Structure 5:345-352 for the PAM 250

comparison matrix; Henikoff *et al.*, (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:10915-10919 for the BLOSUM 62 comparison matrix) cũng được sử dụng bằng thuật toán.

Các thông số được lấy làm ví dụ để xác định phần trăm giống hệt đối với các trình tự polypeptit hoặc nucleotit sử dụng chương trình GAP là như sau: (i) Thuật toán: Needleman *et al.*, 1970, J. Mol. Biol. 48:443-453; (ii) Ma trận so sánh: BLOSUM 62 của Henikoff *et al.*, 1992, supra; (iii) Điểm phạt khoảng trống: 12 (nhưng không có điểm phạt cho khoảng trống cuối) (iv) Điểm phạt độ dài khoảng trống: 4; và (v) Mức độ giống nhau: 0.

Một số sơ đồ sắp hàng nhất định để sắp hàng hai trình tự axit amin có thể chỉ so khớp vùng ngắn chứa hai trình tự này, và vùng nhỏ được sắp hàng này có thể có độ đồng nhất trình tự rất cao thậm chí không có mối quan hệ đáng kể nào giữa hai trình tự có chiều dài đầy đủ. Do đó, phương pháp sắp hàng chọn lọc (ví dụ, chương trình GAP) có thể được điều chỉnh nếu cần để thu được sự sắp hàng sao cho kéo dài qua số axit amin, ví dụ, ít nhất 50 axit amin liên tiếp của polypeptit đích.

"Phần trăm (%) giống hệt trình tự axit amin" đối với trình tự polypeptit tham chiếu được xác định theo phần trăm của gốc axit amin trong trình tự tiềm năng là giống với gốc axit amin trong trình tự polypeptit tham chiếu, sau khi sắp hàng các trình tự và đưa vào khoảng trống, nếu cần, để đạt được phần trăm giống hệt trình tự tối đa, và không thấy sự thay thế bảo toàn bất kỳ là một phần của độ giống hệt trình tự. Sự sắp hàng nhằm mục đích xác định phần trăm giống hệt trình tự axit amin có thể đạt được theo nhiều cách khác nhau đã biết trong tình trạng kỹ thuật, chẳng hạn, sử dụng phần mềm máy tính công khai sẵn có như phần mềm BLAST, BLAST-2, ALIGN hoặc Megalign (DNASTAR). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể xác định các tham số thích hợp để sắp hàng trình tự, bao gồm thuật toán bất kỳ cần để đạt được sự sắp hàng tối đa theo chiều dài đầy đủ của trình tự so sánh.

"Việc biến đổi" gốc/vị trí axit amin đề cập đến việc thay đổi trình tự axit amin bậc một so với trình tự axit amin ban đầu, trong đó việc thay đổi này thu được từ sự thay đổi trình tự liên quan đến gốc/vị trí axit amin đã nêu. Ví dụ, việc biến đổi thông thường bao gồm việc thay thế gốc bằng axit amin khác (ví dụ, sự thay thế bảo toàn hoặc không bảo toàn), chèn một hoặc nhiều (ví dụ, thường ít hơn 5, 4 hoặc 3) axit amin liền kề với gốc/vị trí đã nêu, và/hoặc xóa gốc/vị trí đã nêu.

"Epitop" là vị trí trên bề mặt của phân tử kháng nguyên mà phân tử kháng thể đơn gắn kết, như vùng định vị trên bề mặt kháng nguyên, như polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho hoặc epitop beta klotho, có khả năng gắn kết với một hoặc nhiều vùng gắn kết kháng nguyên của kháng thể, và có hoạt tính kháng nguyên hoặc gây miễn dịch ở động vật, như động vật có vú (ví dụ, người), có khả năng tạo đáp ứng miễn dịch. Epitop có hoạt tính gây miễn dịch là một phần của polypeptit mà tạo đáp ứng kháng thể ở động vật. Epitop có hoạt tính kháng nguyên là một phần của polypeptit mà kháng thể gắn kết khi được xác định bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong tình trạng kỹ thuật, bao gồm, ví dụ, bằng thử nghiệm miễn dịch. Epitop kháng nguyên không nhất thiết là gây miễn dịch. Epitop thường chứa các nhóm phân tử bề mặt có hoạt tính mặt hóa học như axit amin hoặc mạch bên đường và có đặc điểm cấu trúc không gian ba chiều cụ thể cũng như đặc điểm điện tích cụ thể. Đặc biệt là, thuật ngữ "epitop" bao gồm epitop mạch thẳng và epitop cấu dạng. Vùng polypeptit góp phần vào epitop có thể là các axit amin liên tiếp của polypeptit hoặc epitop có thể cùng tạo thành từ hai hoặc nhiều vùng không liên tiếp của polypeptit. Epitop có thể hoặc không thể là đặc điểm bề mặt không gian ba chiều của kháng nguyên. Theo một số phương án nhất định, epitop beta klotho là đặc điểm bề mặt không gian ba chiều của polypeptit beta klotho. Theo các phương án khác, epitop beta klotho là đặc điểm mạch thẳng của polypeptit beta klotho. Nói chung, kháng nguyên có một số hoặc nhiều epitop khác nhau và có thể phản ứng với nhiều kháng thể khác nhau.

Kháng thể gắn kết với "epitop" hoặc "gần như với cùng epitop" hoặc với "cùng epitop" giống như kháng thể tham chiếu, khi hai kháng thể này nhận ra các epitop giống nhau, trùng khít hoặc liền kề trong không gian ba chiều. Phương pháp nhanh và được sử dụng rộng rãi nhất để xác định có hai kháng thể gắn kết với epitop giống nhau, trùng khít hoặc liền kề trong không gian ba chiều là các thử nghiệm cạnh tranh, mà có thể được định hình ở các dạng khác nhau, ví dụ, bằng cách sử dụng kháng nguyên được đánh dấu hoặc kháng thể được đánh dấu. Trong một số thử nghiệm, kháng nguyên được cố định trên đĩa 96 lỗ, hoặc được biểu hiện trên bề mặt tế bào, và khả năng của kháng thể không được đánh dấu để ngăn sự gắn kết của các kháng thể đánh dấu được đánh giá bằng cách sử dụng cách đánh dấu phóng xạ, phát huỳnh quang hoặc enzym.

"Lập bản đồ epitop" là quá trình nhận biết vị trí gắn kết, hoặc epitop, của kháng thể trên kháng nguyên đích của chúng. Epitop kháng thể có thể là epitop mạch thẳng

hoặc epitop cấu dạng. Epitop mạch thẳng được tạo thành bởi trình tự axit amin liên tiếp trong protein. Epitop cấu dạng được tạo thành bởi các axit amin không liên tục trong trình tự protein, nhưng chúng trở nên gần nhau khi gấp protein thành cấu trúc ba chiều của nó. Epitop cảm ứng được tạo thành khi cấu trúc ba chiều của protein ở cấu dạng thay đổi, như sau khi hoạt hóa hoặc gắn kết protein hoặc phối tử khác (ví dụ, gắn kết beta klotho với thụ thể FCF như FGRFR1c, FGFR2c, FGFR3c, hoặc FGFR4c.

"Định nhóm epitop" là quá trình tạo nhóm kháng thể dựa trên các epitop mà chúng nhận ra. Đặc biệt hơn, định nhóm epitop bao gồm các phương pháp và hệ thống để phân biệt các đặc điểm nhận biết epitop của các kháng thể khác nhau, sử dụng các thử nghiệm cạnh tranh kết hợp với các quy trình tính toán để xếp kháng thể thành nhóm dựa trên các đặc điểm nhận biết epitop và nhận diện các kháng thể có các đặc hiệu gắn kết riêng biệt.

Các thuật ngữ "bệnh qua trung gian beta klotho" và "rối loạn qua trung gian beta klotho" và "tình trạng bệnh qua trung gian beta klotho" được sử dụng thay thế cho nhau và đề cập đến bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh bất kỳ hoàn toàn hoặc một phần gây ra do hoặc là kết quả của beta klotho hoặc sự tương tác giữa beta klotho với thụ thể FGF như FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c, hoặc FGFR4 và/hoặc theo cách khác, bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh bất kỳ, trong đó mong muốn bắt chước hoặc gia tăng các tác dụng *in vivo* của FGF19 và/hoặc FGF21.

Thuật ngữ "lượng có hiệu quả điều trị" như được sử dụng trong bản mô tả này đề cập đến lượng chất (ví dụ, kháng thể được mô tả trong bản mô tả này hoặc chất khác bất kỳ được mô tả trong bản mô tả này) đủ để làm giảm và/hoặc cải thiện tình trạng nghiêm trọng và/hoặc khoảng thời gian mắc bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh, và/hoặc triệu chứng có liên quan. Lượng có hiệu quả điều trị của chất, bao gồm chất điều trị, có thể là lượng cần để (i) làm giảm hoặc cải thiện sự phát triển hoặc tiến triển của bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh, (ii) làm giảm hoặc cải thiện sự tái phát, phát triển hoặc khởi phát bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh, và/hoặc (iii) cải thiện hoặc tăng cường tác dụng phòng hoặc điều trị của liệu pháp khác (ví dụ, liệu pháp không phải là dùng kháng thể nêu trong bản mô tả này). "Lượng có hiệu quả điều trị" của chất/phân tử/tác nhân theo sáng chế (ví dụ, kháng thể kháng beta klotho) có thể thay đổi theo các yếu tố như giai đoạn của bệnh, độ tuổi, giới tính, và cân nặng của cá thể, và khả năng của chất/phân tử/tác nhân, tạo ra đáp ứng mong muốn ở cá thể. Lượng có hiệu quả điều trị bao gồm lượng, trong đó tác động độc tính hoặc có hại bất kỳ của

chất/phân tử/tác nhân bị ảnh huởng nhiều bởi các tác dụng điều trị bệnh có lợi. Theo một số phương án nhất định, thuật ngữ "lượng có hiệu quả điều trị" đề cập đến lượng kháng thể hoặc chất khác (ví dụ, hoặc thuốc) có hiệu quả "điều trị" bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh, ở đối tượng hoặc động vật có vú.

"Lượng có hiệu quả" thường là lượng đủ để làm giảm mức độ nghiêm trọng và/hoặc tần suất của các triệu chứng, loại trừ các triệu chứng và/hoặc nguyên nhân tiềm ẩn, ngăn sự xuất hiện của các triệu chứng và/hoặc nguyên nhân tiềm ẩn, và/hoặc cải thiện hoặc chữa trị sự tổn hại do hoặc liên quan đến bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh, bao gồm, ví dụ, bệnh đái tháo đường, bệnh béo phì, rối loạn mỡ máu, bệnh tim mạch, hội chứng chuyển hóa hoặc bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh bất kỳ nói chung, trong đó mong muốn bắt chước hoặc gia tăng tác dụng *in vivo* của FGF19 và/hoặc FGF21. Theo một số phương án, lượng có hiệu quả là lượng có hiệu quả điều trị hoặc lượng có hiệu quả phòng bệnh. "Lượng có hiệu quả" là lượng đủ để chữa bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh (ví dụ, bệnh đái tháo đường typ 2, bệnh béo phì, rối loạn mỡ máu, NASH, bệnh tim mạch, hội chứng chuyển hóa hoặc bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh bất kỳ nói chung, trong đó mong muốn bắt chước hoặc gia tăng tác dụng in vivo của FGF19 và/hoặc FGF21) hoặc triệu chứng, đặc biệt là bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh, hoặc triệu chứng liên quan đến bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh, hoặc mặt khác ngăn ngừa, cản trở, làm chậm hoặc đảo ngược tiến triển của bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh, hoặc triệu chứng không mong muốn khác bất kỳ liên quan đến bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh, theo cách bất kỳ. "Lượng có hiệu quả phòng bệnh" là lượng dược phẩm mà, khi dùng cho đối tượng, sẽ có tác dụng dự phòng mong muốn, ví dụ, ngăn ngừa hoặc làm chậm sự khởi phát (hoặc tái phát) của bệnh đái tháo đường, béo phì hoặc rối loạn mỡ máu, hoặc làm giảm khả năng khởi phát (hoặc tái phát) của bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh hoặc (các) triệu chứng có liên quan, bao gồm, ví dụ, bệnh đái tháo đường, bệnh béo phì, rối loạn mỡ máu, bệnh tim mạch, hội chứng chuyển hóa hoặc bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh bất kỳ nói chung, trong đó mong muốn bắt chước hoặc gia tăng tác dụng in vivo của FGF19 và/hoặc FGF21) hoặc các triệu chứng có liên quan. Tác dụng điều trị hoặc dự phòng đầy đủ không nhất thiết xảy ra khi dùng một liều, và chỉ có thể xảy ra sau khi dùng một số liều. Do đó, lượng có hiệu quả điều trị hoặc phòng bệnh có thể được dùng trong một hoặc nhiều lần.

"Lượng có hiệu quả phòng bệnh" đề cập đến lượng có hiệu quả, ở các liều và trong các khoảng thời gian cần thiết, đạt được kết quả dự phòng mong muốn. Thông

thường, nhưng không nhất thiết, vì liều dự phòng được sử dụng cho đối tượng trước hoặc ở giai đoạn sớm của bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh, lượng có hiệu quả phòng bệnh có thể là ít hơn lượng có hiệu quả điều trị.

Dùng "mạn tính" đề cập đến việc dùng (các) chất theo hình thức liên tục (ví dụ, trong một khoảng thời gian như nhiều ngày, nhiều tuần, nhiều tháng hoặc nhiều năm) ở dạng trái ngược với hình thức cấp tính, để duy trì tác dụng điều trị ban đầu (hoạt tính) trong khoảng thời gian kéo dài. Dùng "ngắt quãng" là việc điều trị được thực hiện không liên tục mà gián đoạn, về bản chất là theo chu kỳ.

Dùng "kết hợp với" một hoặc nhiều chất điều trị khác bao gồm dùng cùng một lúc (ví dụ, đồng thời) và dùng phối hợp theo thứ tự bất kỳ. Thuật ngữ "kết hợp" trong phạm vi dùng các liệu pháp khác (ví dụ, các chất khác) bao gồm sử dụng nhiều hơn một liệu pháp (ví dụ, một chất). Việc sử dụng thuật ngữ "kết hợp" không giới hạn thứ tự các liệu pháp được dùng cho đối tượng. Liệu pháp thứ nhất (ví dụ, chất) có thể được dùng trước (ví dụ, 1 phút, 15 phút, 30 phút, 45 phút, 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 7 giờ, 8 giờ, 12 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ, 1 tuần, 2 tuần, 3 tuần, 4 tuần, 5 tuần, 6 tuần, 7 tuần, 8 tuần, 9 tuần, 10 tuần, 11 tuần, hoặc 12 tuần), đồng thời, hoặc sau đó (ví dụ, 1 phút, 15 phút, 30 phút, 45 phút, 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 7 giờ, 8 giờ, 12 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ, 1 tuần, 2 tuần, 3 tuần, 4 tuần, 5 tuần, 6 tuần, 7 tuần, 8 tuần, 9 tuần, 10 tuần, 11 tuần, hoặc 12 tuần) dùng liệu pháp thứ hai (ví dụ, chất) cho đối tượng đã mắc hoặc dễ mắc bệnh qua trung gian beta klotho.

Liệu pháp bổ sung bất kỳ (ví dụ, chất) có thể được dùng theo thứ tự bất kỳ với các liệu pháp bổ sung khác (ví dụ, các chất). Theo một số phương án nhất định, kháng thể có thể được dùng kết hợp với một hoặc nhiều liệu pháp như chất (ví dụ, các liệu pháp, bao gồm chất, không phải là kháng thể mà được dùng hiện nay) để ngăn ngừa, điều trị, chế ngự, và/hoặc cải thiện bệnh qua trung gian beta klotho. Ví dụ không giới hạn về các liệu pháp (ví dụ, chất) có thể được dùng kết hợp với kháng thể bao gồm, ví dụ, chất giảm đau, chất gây mê, thuốc kháng sinh, hoặc chất điều biến miễn dịch hoặc chất khác bất kỳ được nêu trong Dược điển Mỹ (U.S. Pharmacopoeia) và/hoặc Dược thư tham khảo dành cho bác sỹ (Physician's Desk Reference). Ví dụ về các chất hữu dụng trong liệu pháp kết hợp bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, các chất sau: dược chất kháng viêm không steroit (non-steroidal anti-inflammatory drug - NSAID) như aspirin, ibuprofen, và các dẫn xuất axit propionic khác (alminoprofen, benoxaprofen, axit bucloxic, carprofen, fenbufen, fenoprofen, fluprofen, flurbiprofen, indoprofen,

ketoprofen, miroprofen, naproxen, oxaprozin, pirprofen, pranoprofen, suprofen, axit tiaprofenic, và tioxaprofen), dẫn xuất axit axetic (indomethacin, acemetacin, alclofenac, clidanac, diclofenac, fenclofenac, axit fenclozic, fentiazac, fuirofenac, ibufenac, isoxepac, oxpinac, sulindac, tiopinac, tolmetin, zidometacin, và zomepirac), dẫn xuất axit fenamic (axit flufenamic, axit meclofenamic, axit mefenamic, axit niflumic và axit tolfenamic), dẫn xuất axit biphenylcarboxylic (diflunisal và flufenisal), oxicam (isoxicam, piroxicam, sudoxicam và tenoxican), salixylat (axit axetyl salixylic, sulfasalazin) và pyrazolon (apazon, bezpiperylon, feprazon, mofebutazon, oxyphenbutazon, phenylbutazon). Các hỗn hợp khác bao gồm chất ức chế xyclooxygenaza-2 (COX-2). Các chất khác của hỗn hợp bao gồm steroit như prednisolon, prednison, metylprednisolon, betametason, dexametason, hoặc hydrocortison. Đặc biệt là, hỗn hợp như vậy có thể là thuận lợi, vì một hoặc nhiều tác dụng phụ của steroit có thể giảm đi hoặc thậm chí bị loại trừ bằng cách giảm dần liều steroit được yêu cầu khi điều trị cho bệnh nhân kết hợp với các kháng thể này. Ví dụ khác về các chất của hỗn hợp bao gồm (các) dược chất kháng viêm ức chế xytokin (cytokine suppressive anti-inflammatory drug - CSAID); các kháng thể hoặc chất đối kháng của xytokin khác của người hoặc các yếu tố tăng trưởng, ví dụ, TNF, LT, IL-1β, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-15, IL-16, IL-18, EMAP-II, GM-CSF, FGF, hoặc PDGF. Hỗn hợp các chất có thể bao gồm chất đối kháng TNF như kháng thể TNF khảm, kháng thể TNF được nhân hóa hoặc kháng thể TNF của người, REMICADE, mảnh kháng thể kháng TNF (ví dụ, CDP870), và thụ thể TNF p55 hoặc p75 hòa tan, dẫn xuất của chúng, p75TNFRIgG (ENBREL®) hoặc p55TNFR1gG (LENERCEPT®), thụ thể IL-13 hòa tan (sIL-13), và cả chất ức chế enzym chuyển hóa TNFα (TACE); chất ức chế IL-1 tương tự (ví dụ, chất ức chế enzym chuyển hóa Interleukin-1) có thể có hiệu quả. Các hỗn hợp khác bao gồm Interleukin 11, kháng P7s và phối tử p-selectin glycoprotein (p-selectin glycoprotein ligand - PSGL). Các ví dụ khác về các chất hữu dụng trong liệu pháp kết hợp bao gồm interferon-β1a (AVONEX); interferon-β1b (BETASERON®); copaxon; hyperbaric oxy; globulin miễn dịch trong tĩnh mạch; clabribin; và các kháng thể hoặc chất đối kháng của xytokin khác của người hoặc các yếu tố tăng trưởng (ví dụ, kháng thể đối với phối tử CD40 và CD80).

"Chất mang" như được sử dụng trong bản mô tả này bao gồm chất mang dược dụng, tá dược, hoặc chất ổn định là không độc đối với tế bào hoặc động vật có vú đang phơi nhiễm ở các liều và nồng độ được dùng. Chất mang chấp nhận được về mặt sinh lý thường là dung dịch đệm pH trong nước. Ví dụ về chất mang chấp nhận được về

mặt sinh lý bao gồm các chất đệm như phosphat, xitrat, và các axit hữu cơ khác; chất chống oxy hóa bao gồm axit ascorbic; polypeptit có phân tử lượng thấp ((ví dụ, nhỏ hơn khoảng 10 gốc axit amin); protein, như albumin huyết thanh, gelatin, hoặc globulin miễn dịch; polyme ưa nước như polyvinylpyrolidon; axit amin như glyxin, glutamin, asparagin, arginin hoặc lysin; monosacarit, disacarit, và hydrat cacbon khác bao gồm glucoza, manoza, hoặc dextrin; chất chelat hóa như EDTA; rượu đường như manitol hoặc sorbitol; các ion có điện tích trái dấu tạo muối như natri; và/hoặc chất có hoạt tính bề mặt không ion như TWEEN™, polyetylen glycol (PEG), và PLURONICS™. Thuật ngữ "chất mang" còn có thể đề cập đến chất pha loãng, chất phụ trợ (ví dụ, chất phụ trợ Freund (đầy đủ hoặc không đầy đủ)), tá dược, hoặc chất dẫn thuốc với chất điều trị được dùng. Các chất mang như vậy, bao gồm chất mang dược, có thể là chất lỏng vô trùng, như nước và dầu, bao gồm các dầu có nguồn gốc dầu mỏ, động vật, thực vật hoặc tổng hợp, như dầu lạc, dầu đậu tương, dầu khoáng, dầu vừng và dầu tương tự. Nước là một ví dụ về chất mang khi chế phẩm (ví dụ, dược phẩm) được dùng trong tĩnh mạch. Dung dịch nước muối và dung dịch dextroza và glyxerol trong nước cũng có thể được dùng ở dạng chất mang lỏng, đặc biệt là đối với dung dịch tiêm. Các tá dược thích hợp (ví dụ, tá dược dược phẩm) bao gồm tinh bột, glucoza, lactoza, sucroza, gelatin, mạch nha, gạo, bột mì, đá phấn, silicagel, natri stearat, glyxerol monostearat, bột talc, natri clorua, bột sữa gầy, glyxerol, propylen, glycol, nước, etanol và dạng tương tự. Chế phẩm, nếu muốn, có thể còn chứa lượng nhỏ chất làm ẩm hoặc chất nhũ hóa, hoặc chất đệm pH. Chế phẩm có thể là dạng dung dịch, huyền phù, nhũ tương, viên nén, viên tròn, viên nang, bột, chế phẩm giải phóng ổn định và dạng tương tự. Chế phẩm dùng qua đường miệng, bao gồm dạng bào chế, có thể bao gồm các chất mang chuẩn như các loại dược phẩm gồm manitol, lactoza, tinh bột, magie stearat, natri sacarin, xenluloza, magie cacbonat, v.v.. Ví dụ về chất mang dược thích hợp được mô tả trong tài liệu Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA. Compositions, bao gồm các hợp chất dược, có thể chứa lượng có hiệu quả dự phòng hoặc điều trị của kháng thể kháng beta klotho, ví dụ, ở dạng phân lập hoặc tinh chế, cùng với lượng chất mang thích hợp để tạo ra dạng để dùng phù hợp với đối tượng (ví dụ, bệnh nhân). Dạng bào chế cần phù hợp với cách dùng.

Thuật ngữ "dược dụng" như được sử dụng trong bản mô tả này nghĩa là được chấp thuận bởi cơ quan điều hành liên bang hoặc chính phủ bang, hoặc được nêu trong

Dược điển Mỹ, Dược điển châu Âu hoặc Dược điển chung khác để sử dụng cho động vật, và đặc biệt hơn là cho người.

Thuật ngữ "dược phẩm" đề cập đến chế phẩm mà dạng này cho phép hoạt tính sinh học của hoạt chất (ví dụ, kháng thể kháng beta klotho) có hiệu quả, và không chứa các thành phần bổ sung độc hại không được chấp nhận cho đối tượng dùng dược phẩm. Dạng bào chế này có thể là vô trùng.

Dạng bào chế "vô trùng" là chất vô trùng hoặc không chứa vi sinh vật sống và các bào tử của chúng.

"Kháng thể đa dòng" như được sử dụng trong bản mô tả này đề cập đến nhóm kháng thể sinh ra trong đáp ứng miễn dịch với protein có nhiều epitop và do đó gồm nhiều kháng thể khác nhau hướng đến các epitop giống nhau và khác nhau trong protein. Các phương pháp sản xuất kháng thể đa dòng là đã biết trong tình trạng kỹ thuật (xem, ví dụ, Chương 11 trong tài liệu: Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 5th Ed., Ausubel *et al.*, eds., John Wiley and Sons, New York).

"Axit nucleic được phân lập" là axit nucleic, ví dụ, ARN, ADN, hoặc polyme hỗn hợp, gần như được tách khỏi trình tự ADN của hệ gen khác cũng như protein hoặc phức hợp như ribosom và polymeraza, mà về mặt tự nhiên đi kèm trình tự tự nhiên. Phân tử axit nucleic "được phân lập" là phân tử axit nucleic được tách khỏi các phân tử axit nucleic khác có mặt trong nguồn phân tử axit nucleic tự nhiên. Hơn nữa, phân tử axit nucleic "được phân lập", như phân tử cADN, có thể gần như không chứa nguyên liệu tế bào khác, hoặc môi trường nuôi cấy khi được sản xuất bằng các kỹ thuật tái tổ hợp, hoặc gần như không chứa tiền chất hóa học hoặc hóa chất khác khi tổng hợp bằng phương pháp hóa học. Theo khía cạnh cụ thể, một hoặc nhiều phân tử axit nucleic mã hóa kháng thể như được mô tả trong bản mô tả này được phân lập hoặc tinh chế. Thuật ngữ này bao gồm trình tự axit nucleic đã được lấy ra khỏi môi trường tự nhiên, và bao gồm các thể phân lập ADN tái tổ hợp hoặc tách dòng và chất tương tự được tổng hợp bằng phương pháp hóa học hoặc sinh học bằng các hệ khác loại. Phân tử gần như tinh khiết có thể bao gồm các dạng phân tử được phân lập.

"Polynucleotit," hoặc "axit nucleic," được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả này, đề cập đến polyme của nucleotit có chiều dài bất kỳ, và bao gồm ADN và ARN. Các nucleotit có thể là deoxyribonucleotit, ribonucleotit, nucleotit biến đổi hoặc bazơ, và/hoặc chất tương tự của chúng, hoặc cơ chất bất kỳ mà có thể được kết hợp

vào polyme bằng ADN hoặc ARN polymeraza hoặc bằng phản ứng tổng hợp. Polynucleotit có thể bao gồm các nucleotit biến đổi, như nucleotit được metyl hóa và các chất tương tự của chúng. "Oligonucleotit," khi sử dụng trong bản mô tả này, thường đề cập đến polynucleotit ngắn, thường là sợi đơn, thường là polynucleotit tổng hợp mà thường, nhưng không nhất thiết, có chiều dài nhỏ hơn khoảng 200 nucleotit. Thuật ngữ "oligonucleotit" và "polynucleotit" không loại trừ lẫn nhau. Phần mô tả ở trên đối với polynucleotit được áp dụng ngang nhau và đầy đủ đối với oligonucleotit. Tế bào sản xuất kháng thể kháng beta klotho của sáng chế có thể bao gồm tế bào lai gốc, cũng như vi khuẩn và tế bào chủ có nhân điển hình trong đó axit nucleic mã hóa kháng thể đã được đưa vào. Tế bào chủ thích hợp được bộc lộ dưới đây.

Trừ khi có quy định khác, đầu bên trái của trình tự polynucleotit sợi đơn bất kỳ được bộc lộ trong bản mô tả này là đầu 5'; hướng bên trái của trình tự polynucleotit sợi kép được gọi là hướng 5'. Hướng bổ sung từ đầu 5' đến 3' của sản phẩm phiên mã ARN mới sinh được gọi là hướng phiên mã; vùng trình tự trên sợi ADN có cùng trình tự như sản phẩm phiên mã ARN là đầu 5' đến đầu 5' của sản phẩm phiên mã ARN được gọi là "trình tự ngược dòng;" vùng trình tự trên sợi ADN có cùng trình tự như sản phẩm phiên mã ARN là đầu 3' đến đầu 3' của sản phẩm phiên mã ARN được gọi là "trình tự xuôi dòng."

Thuật ngữ "tờ thông tin lồng trong gói sản phẩm" được sử dụng để đề cập đến hướng dẫn thường có trong gói sản phẩm điều trị có bán ngoài thị trường, chứa thông tin về chỉ định, cách dùng, liều lượng, bảo quản, chống chỉ định và/hoặc cảnh báo liên quan đến việc sử dụng sản phẩm điều trị này.

Thuật ngữ "ngăn ngừa" đề cập đến việc ức chế toàn bộ hoặc một phần sự phát triển, tái phát, khởi phát hoặc lan rộng của bệnh qua trung gian beta klotho và/hoặc triệu chứng liên quan của nó, do việc dùng một liệu pháp điều trị hoặc kết hợp các liệu pháp điều trị nêu trong bản mô tả này (ví dụ, kết hợp của chất phòng bệnh hoặc điều trị bệnh, như kháng thể nêu trong bản mô tả này).

Thuật ngữ "chất phòng bệnh" đề cập đến chất bất kỳ có thể ức chế toàn bộ hoặc một phần sự phát triển, tái phát, khởi phát hoặc lan rộng của bệnh qua trung gian beta klotho và/hoặc triệu chứng có liên quan ở đối tượng. Theo một số phương án nhất định, thuật ngữ "chất phòng bệnh" đề cập đến kháng thể kháng beta klotho như được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án nhất định khác, thuật ngữ "chất phòng bệnh" đề cập đến chất không phải kháng thể kháng beta klotho như được mô tả

trong bản mô tả này. Theo một số phương án nhất định, chất phòng bệnh là chất đã biết là hữu dụng hoặc đã hoặc đang được dùng hiện nay để ngăn ngừa bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh qua trung gian beta klotho, và/hoặc triệu chứng có liên quan hoặc cản trở sự khởi phát, phát triển, tiến triển và/hoặc tình trạng nghiêm trọng của bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh qua trung gian beta klotho, và/hoặc triệu chứng có liên quan. Theo các phương án cụ thể, chất phòng bệnh là kháng thể kháng beta klotho được nhân hóa, như kháng thể đơn dòng kháng beta klotho được nhân hóa.

Theo một số phương án nhất định, "hiệu giá huyết thanh có hiệu quả dự phòng" là hiệu giá huyết thanh ở đối tượng, tốt hơn là ở người, mà ức chế toàn bộ hoặc một phần sự phát triển, tái phát, khởi phát hoặc lan rộng bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh qua trung gian beta klotho, và/hoặc triệu chứng có liên quan ở đối tượng.

Theo một số phương án nhất định, "hiệu giá huyết thanh có hiệu quả điều trị" là hiệu giá huyết thanh ở đối tượng, tốt hơn là ở người, mà làm giảm mức độ nghiêm trọng, thời gian mắc bệnh và/hoặc các triệu chứng liên quan đến bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh qua trung gian beta klotho, ở đối tượng.

Thuật ngữ "kháng thể tái tổ hợp" đề cập đến kháng thể được sản xuất, biểu hiện, tạo ra hoặc phân lập bằng cách tái tổ hợp. Các kháng thể tái tổ hợp có thể là các kháng thể được biểu hiện sử dụng vectơ biểu hiện tái tổ hợp chuyển nhiễm vào tế bào chủ, kháng thể được phân lập từ thư viện kháng thể tổ hợp, tái tổ hợp, kháng thể được phân lập từ động vật (ví dụ, chuột nhắt hoặc bò) chuyển gen và/hoặc chuyển nhiễm sắc thể đối với gen globulin miễn dịch của người (xem, ví dụ, Taylor, L. D. *et al.* (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295) hoặc kháng thể được sản xuất, biểu hiện, tạo ra hoặc phân lập bằng các cách khác bất kỳ bao gồm ghép các trình tự gen globulin miễn dịch với các trình tự ADN khác. Các kháng thể tái tổ hợp này có thể có vùng biến đổi và vùng ổn định, bao gồm kháng thể có nguồn gốc từ trình tự globulin miễn dịch dòng mầm của người (See Kabat, E. A. *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). Tuy nhiên, theo một số phương án nhất định, các kháng thể tái tổ hợp này có thể được gây đột biến *in vitro* (hoặc, khi sử dụng động vật chuyển gen cho trình tự Ig của người, thì gây đột biến soma *in vivo*) và đo đó trình tự axit amin của vùng VH và VL của kháng thể tái tổ hợp là trình tự mà, trong khi có nguồn gốc từ và liên quan đến trình tự VH và VL dòng mầm của người, không thể tồn tại một cách tự nhiên trong danh mục dòng mầm kháng thể của người *in vivo*.

Thuật ngữ "hiệu giá huyết thanh" đề cập đến hiệu giá huyết thanh trung bình ở đối tượng từ nhiều mẫu (ví dụ, ở một thời điểm hoặc nhiều thời điểm) hoặc trong nhóm đối tượng ít nhất là 10, như ít nhất 20, hoặc ít nhất 40 đối tượng, đến khoảng 100, 1000 hoặc hơn.

Thuật ngữ "tác dụng phụ" bao gồm các tác dụng không mong muốn và/hoặc ảnh hưởng xấu của liệu pháp (ví dụ, chất phòng ngừa hoặc điều trị). Tác dụng không mong muốn không nhất thiết là xấu. Ảnh hưởng xấu của liệu pháp (ví dụ, chất phòng ngừa hoặc điều trị) có thể có hại hoặc không thuận lợi hoặc nguy hiểm. Ví dụ về tác dụng phụ bao gồm, tiêu chảy, ho, viêm dạ dày ruột, thở khò khè, buồn nôn, nôn, chứng chán ăn, đau quặn bụng, sốt, đau, sụt cân, mất nước, rụng tóc, chứng khó thở, mất ngủ, chóng mặt, viêm niêm mạc, tác động dây thần kinh và cơ, mệt mỏi, khô miệng, và mất cảm giác ngon miệng, chứng phát ban hoặc sưng tấy ở vị trí dùng, triệu chứng giống bệnh cúm như sốt, cảm thấy lạnh và mệt mỏi, vấn đề về đường tiêu hóa và phản ứng dị ứng. Các tác dụng không mong muốn khác mà bệnh nhân đã trải qua là rất nhiều và đã biết trong tình trạng kỹ thuật. Nhiều tác dụng không mong muốn đã được mô tả trong Dược thư tham khảo dành cho bác sỹ Physician's Desk Reference (68th ed., 2014).

Thuật ngữ "đối tượng" và "bệnh nhân" có thể được sử dụng thay thế cho nhau. Khi sử dụng trong bản mô tả này, theo một số phương án nhất định, đối tượng là động vật có vú, như không phải động vật linh trưởng (ví dụ, bò, lợn, ngựa, mèo, chó, chuột cống, v.v..) hoặc động vật linh trưởng (ví dụ, khỉ và người). Theo các phương án cụ thể, đối tượng là người. Theo một phương án, đối tượng là động vật có vú (ví dụ, người) có bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh qua trung gian beta klotho. Theo phương án khác, đối tượng là động vật có vú (ví dụ, người) có nguy cơ phát triển bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh qua trung gian beta klotho.

"Gần như tất cả" đề cập đến ít nhất khoảng 60%, ít nhất khoảng 65%, ít nhất khoảng 70%, ít nhất khoảng 75%, ít nhất khoảng 80%, ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 98%, ít nhất khoảng 99%, hoặc khoảng 100%.

Thuật ngữ "chất điều trị" đề cập đến chất bất kỳ có thể được sử dụng trong điều trị, ngăn ngừa hoặc làm thuyên giảm bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh, bao gồm điều trị, ngăn ngừa hoặc làm thuyên giảm một hoặc nhiều triệu chứng bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh qua trung gian beta klotho và/hoặc triệu chứng có liên quan. Theo một

số phương án nhất định, chất điều trị đề cập đến kháng thể kháng beta klotho như được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án nhất định khác, chất điều trị là chất không phải kháng thể nêu trong bản mô tả này. Theo một số phương án nhất định, chất điều trị là chất đã biết là hữu dụng để, hoặc hiện được sử dụng để điều trị, ngăn ngừa hoặc làm thuyên giảm một hoặc nhiều triệu chứng bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh qua trung gian beta klotho, hoặc triệu chứng có liên quan.

Sự kết hợp các liệu pháp (ví dụ, sử dụng chất, bao gồm chất điều trị) có thể là hiệu quả hơn tác dụng của hai hoặc nhiều liệu pháp đơn bất kỳ (ví dụ, tính hiệp đồng). Tác dụng hiệp đồng là ngoài mong đợi và không thể dự đoán được. Ví dụ, tác dụng hiệp đồng của hỗn hợp các chất điều trị cho phép sử dụng liều thấp của một hoặc nhiều chất và/hoặc dùng các chất này với tần suất thấp cho đối tượng mắc bệnh qua trung gian beta klotho. Khả năng dùng liều thấp hơn chất điều trị và/hoặc dùng liệu pháp với tần suất thấp làm giảm độc tính liên quan đến việc dùng liệu pháp cho đối tượng mà không làm giảm hiệu quả điều trị trong việc ngăn ngừa, điều trị hoặc làm thuyên giảm một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh qua trung gian beta klotho. Ngoài ra, tác dụng hiệp đồng có thể dẫn đến tăng hiệu quả liệu pháp trong việc ngăn ngừa, điều trị hoặc làm thuyên giảm một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh qua trung gian beta klotho. Cuối cùng, tác dụng hiệp đồng của việc kết hợp các liệu pháp (ví dụ, các chất điều trị) có thể phòng tránh hoặc làm giảm tác động bất lợi hoặc tác dụng phụ không mong muốn liên quan đến việc sử dụng liệu pháp đơn bất kỳ.

Thuật ngữ "liệu pháp" đề cập đến phương thức, phương pháp và/hoặc chất bất kỳ mà có thể được sử dụng trong việc ngăn ngừa, chế ngự, điều trị và/hoặc làm cải thiện bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh qua trung gian beta klotho. Theo một số phương án nhất định, thuật ngữ "các liệu pháp" và "liệu pháp" đề cập đến liệu pháp sinh học, liệu pháp hỗ trợ, và/hoặc các liệu pháp khác hữu dụng trong việc ngăn ngừa, chế ngự, điều trị và/hoặc làm cải thiện bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh qua trung gian beta klotho, đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này như nhân viên y tế.

Thuật ngữ "mẫu dò phát hiện được" đề cập đến chế phẩm tạo ra tín hiệu phát hiện được. Thuật ngữ này bao gồm, không giới hạn, chất huỳnh quang, phần tạo màu (chromophore), chất đánh dấu đồng vị phóng xạ, enzym, kháng thể hoặc mảnh kháng thể bất kỳ, và dạng tương tự, tạo ra tín hiệu phát hiện được thông qua hoạt tính của nó.

Thuật ngữ "chất chẩn đoán" đề cập đến chất dùng cho đối tượng mà hỗ trợ trong việc chẩn đoán bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh. Các chất này có thể được sử dụng để bộc lộ, chỉ rõ, và/hoặc xác định vị trí quá trình gây bệnh. Theo một số phương án nhất định, chất chẩn đoán bao gồm chất liên hợp với kháng thể kháng beta klotho như được mô tả trong bản mô tả này, mà khi dùng cho đối tượng hoặc tiếp xúc với mẫu bệnh của đối tượng hỗ trợ trong việc chẩn đoán bệnh qua trung gian beta klotho.

Thuật ngữ "chất phát hiện được" đề cập đến chất mà có thể được sử dụng để xác định sự tồn tại hoặc có mặt của phân tử mong muốn, như kháng thể kháng beta klotho như được mô tả trong bản mô tả này, ở mẫu phẩm hoặc đối tượng. Chất phát hiện được có thể là chất có thể nhìn thấy được hoặc nếu không thì chất đó có thể xác định được và/hoặc đo được (ví dụ, bằng định lượng).

Thuật ngữ "mã hóa" hoặc thuật ngữ tương đương của nó khi được sử dụng trong việc tham chiếu đến phân tử axit nucleic đề cập đến phân tử axit nucleic ở trạng thái tự nhiên của nó hoặc khi được thao tác bằng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này mà có thể được phiên mã để tạo ra mARN, sau đó được dịch mã thành polypeptit và/hoặc mảnh của nó. Sợi đối nghĩa là phần bổ trợ của phân tử axit nucleic như vậy, và trình tự mã hóa có thể được tạo ra từ đó.

Thuật ngữ "tá dược" đề cập đến chất trơ mà thường được sử dụng dưới dạng chất pha loãng, chất dẫn thuốc, chất bảo quản, chất dính, hoặc chất ổn định, và bao gồm, nhưng không giới hạn ở, protein (ví dụ, albumin huyết thanh, v.v.), axit amin (ví dụ, axit aspartic, axit glutamic, lysin, arginin, glyxin, histidin, v.v.), axit béo và phospholipit (ví dụ, alkyl sulfonat, caprylat, v.v.), chất hoạt động bề mặt (ví dụ, SDS, polysorbat, chất hoạt động bề mặt không ion, v.v.), sacarit (ví dụ, sucroza, maltoza, trehaloza, v.v.) và polyol (ví dụ, manitol, sorbitol, v.v.). Xem Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA, được kết hợp trong bản mô tả này để tham khảo.

Trong phạm vi peptit hoặc polypeptit, thuật ngữ "mảnh" như được sử dụng trong bản mô tả này đề cập đến peptit hoặc polypeptit có trình tự nhỏ hơn trình tự axit amin có chiều dài đầy đủ. Mảnh này có thể tạo ra từ, ví dụ, sự cắt cụt ở đầu tận cùng amino, cắt cụt ở đầu tận cùng carboxy, và/hoặc xóa (các) gốc bên trong ra khỏi trình tự axit amin. Các mảnh có thể, ví dụ, thu được từ việc ghép nối ARN thay thế hoặc từ hoạt tính proteaza *in vivo*. Theo một số phương án nhất định, mảnh beta klotho bao

gồm polypeptit có trình tự axit amin ít nhất 5 gốc axit amin liên tiếp, ít nhất 10 gốc axit amin liên tiếp, ít nhất 15 gốc axit amin liên tiếp, ít nhất 20 gốc axit amin liên tiếp, ít nhất 25 gốc axit amin liên tiếp, ít nhất 40 gốc axit amin liên tiếp, ít nhất 50 gốc axit amin liên tiếp, ít nhất 60 gốc axit amin liên tiếp, ít nhất 70 gốc axit amin liên tiếp, ít nhất 80 gốc axit amin liên tiếp, ít nhất 90 gốc axit amin liên tiếp, ít nhất 100 gốc axit amin, ít nhất 125 gốc axit amin liên tiếp, ít nhất 150 gốc axit amin liên tiếp, ít nhất 175 gốc axit amin liên tiếp, ít nhất 200 gốc axit amin liên tiếp, ít nhất 250, ít nhất 300, ít nhất 350, ít nhất 400, ít nhất 450, ít nhất 500, ít nhất 550, ít nhất 600, ít nhất 650, ít nhất 700, ít nhất 750, ít nhất 800, ít nhất 850, ít nhất 900, hoặc ít nhất 950, gốc axit amin liên tiếp của trình tự axit amin của polypeptit beta klotho hoặc kháng thể mà gắn kết với polypeptit beta klotho. Theo một phương án cụ thể, mảnh polypeptit beta klotho hoặc kháng thể gắn kết với kháng nguyên beta klotho giữ lại ít nhất 1, ít nhất 2, hoặc ít nhất 3 hoặc nhiều hơn chức năng của polypeptit hoặc kháng thể.

Thuật ngữ "chế ngự" đề cập đến tác dụng có lợi mà đối tượng nhận được từ liệu pháp (ví dụ, chất phòng ngừa hoặc điều trị), không dẫn đến việc chữa khỏi bệnh. Theo một số phương án nhất định, đối tượng được dùng một hoặc nhiều liệu pháp (ví dụ, chất phòng ngừa hoặc điều trị, như kháng thể nêu trong bản mô tả này) để "chế ngự" bệnh qua trung gian beta klotho, một hoặc nhiều triệu chứng của chúng, để ngăn ngừa tiến trình hoặc tình trạng tệ thêm của bệnh.

Thuật ngữ "khoảng" hoặc "xấp xỉ" nghĩa là trong khoảng 20%, trong khoảng 15%, trong khoảng 10%, trong khoảng 9%, trong khoảng 8%, trong khoảng 7%, trong khoảng 6%, trong khoảng 5%, trong khoảng 4%, trong khoảng 3%, trong khoảng 2%, trong khoảng hoặc 1% hoặc nhỏ hơn giá trị hoặc khoảng được nêu.

"Dùng" đề cập đến hành động tiêm hoặc nói cách khác là phân phối một cách tự nhiên chất khi chất này tồn tại bên ngoài cơ thể (ví dụ, kháng thể kháng beta klotho như được mô tả trong bản mô tả này) vào cơ thể bệnh nhân, như bằng cách phân phối vào niêm mạc, trong da, trong tĩnh mạch, trong cơ và/hoặc phương pháp phân phối tự nhiên khác bất kỳ được mô tả trong bản mô tả này hoặc đã biết trong tình trạng kỹ thuật. Khi bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh, hoặc triệu chứng của nó, cần được điều trị, việc dùng chất thường xảy ra sau khi khởi phát bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh, hoặc triệu chứng của nó. Khi bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng hoặc triệu chứng của nó, cần được ngăn ngừa, việc dùng chất thường xảy ra trước khi khởi phát bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh, hoặc triệu chứng của nó.

Trong phạm vi polypeptit, thuật ngữ "chất tương tự" như được sử dụng trong bản mô tả này đề cập đến polypeptit có chức năng tương tự hoặc giống như polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, hoặc kháng thể kháng beta klotho nhưng không nhất thiết có trình tự axit amin tương tự hoặc giống polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, hoặc kháng thể kháng beta klotho, hoặc có cấu trúc tương tự hoặc giống polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, hoặc kháng thể kháng beta klotho. Polypeptit có trình tự axit amin tương tự đề cập đến polypeptit thỏa mãn ít nhất một trong số: (a) polypeptit có trình tự axit amin ít nhất 30%, ít nhất 35%, ít nhất 40%, ít nhất 45%, ít nhất 50%, ít nhất 55%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% giống với trình tự axit amin của polypeptit beta klotho (ví dụ, SEQ ID NO:297, mảnh polypeptit beta klotho, hoặc kháng thể kháng beta klotho được mô tả trong bản mô tả này; (b) polypeptit được mã hóa bởi trình tự nucleotit mà lai trong các điều kiện nghiêm ngặt với trình tự nucleotit mã hóa polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, hoặc kháng thể kháng beta klotho (hoặc vùng VH hoặc VL của nó) được mô tả trong bản mô tả này gồm ít nhất 5 gốc axit amin, ít nhất 10 gốc axit amin, ít nhất 15 gốc axit amin, ít nhất 20 gốc axit amin, ít nhất 25 gốc axit amin, ít nhất 40 gốc axit amin, ít nhất 50 gốc axit amin, ít nhất 60 gốc axit amin, ít nhất 70 gốc axit amin, ít nhất 80 gốc axit amin, ít nhất 90 gốc axit amin, ít nhất 100 gốc axit amin, ít nhất 125 gốc axit amin, hoặc ít nhất 150 gốc axit amin (xem, ví dụ, Sambrook *et al.* (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Maniatis *et al.* (1982) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY); và (c) polypeptit được mã hóa bởi trình tự nucleotit ít nhất 30%, ít nhất 35%, ít nhất 40%, ít nhất 45%, ít nhất 50%, ít nhất 55%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% giống với trình tự nucleotit mã hóa polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, hoặc kháng thể kháng beta klotho (hoặc vùng VH hoặc VL của nó) được mô tả trong bản mô tả này. Polypeptit có cấu trúc tương tự với polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, hoặc kháng thể kháng beta klotho được mô tả trong bản mô tả này đề cập đến polypeptit có cấu trúc bậc hai, bậc ba hoặc bậc bốn tương tự của polypeptit beta klotho, mảnh beta klotho, hoặc kháng thể beta klotho được mô tả trong bản mô tả này. Cấu trúc polypeptit có thể được xác định bằng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật

này, bao gồm, không giới hạn ở, tinh thể học tia X, cộng hưởng từ hạt nhân, và kính hiển vi điện tử mạng tinh thể.

Thuật ngữ "chế phẩm" bao gồm sản phẩm chứa các thành phần cụ thể (ví dụ, kháng thể nêu trong bản mô tả này), tùy ý, ở lượng cụ thể, cũng như sản phẩm bất kỳ thu được, trực tiếp hoặc gián tiếp, từ hỗn hợp các thành phần cụ thể, tùy ý, ở lượng cụ thể.

Trong phạm vi polypeptit, thuật ngữ "dẫn xuất" như được sử dụng trong bản mô tả này đề cập đến polypeptit chứa trình tự axit amin của polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, hoặc kháng thể gắn kết với polypeptit beta klotho bị biến đổi bằng cách thay thế, xóa hoặc bổ sung gốc axit amin. Thuật ngữ "dẫn xuất" như được sử dụng trong bản mô tả này còn đề cập đến polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, hoặc kháng thể gắn kết với polypeptit beta klotho bị biến đổi bằng phương pháp hóa học, ví dụ, bằng cách gắn kết cộng hóa trị loại phân tử bất kỳ với polypeptit. Ví dụ, nhưng không giới hạn ở, polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, hoặc kháng thể beta klotho có thể được biến đổi bằng phương pháp hóa học, ví dụ, bằng cách glycosyl hóa, axetyl hóa, pegyl hóa, phosphoryl hóa, amit hóa, dẫn xuất hóa bằng các nhóm bảo vệ/ức chế đã biết, phân cắt protein phân giải, liên kết với phối tử tế bào hoặc protein khác, v.v.. Các dẫn xuất được biến đổi theo cách khác với peptit hoặc polypeptit có trong tự nhiên hoặc khởi đầu, về loại hoặc vị trí của phân tử gắn kèm. Dẫn xuất còn bao gồm việc xóa (làm mất) một hoặc nhiều nhóm hóa học mà có mặt tự nhiên trên peptit hoặc polypeptit. Dẫn xuất của polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, hoặc kháng thể beta klotho có thể bị biến đổi bằng phương pháp hóa học bằng các biến đổi hóa học sử dụng các kỹ thuật đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, phân cắt hóa học cụ thể, axetyl hóa, hỗn hợp, tổng hợp chuyển hóa tunicamyxin, v.v.. Hơn nữa, dẫn xuất của polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, hoặc kháng thể beta klotho có thể chứa một hoặc nhiều axit amin không cổ điển. Dẫn xuất polypeptit có chức năng tương tự hoặc giống như polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, hoặc kháng thể beta klotho được mô tả trong bản mô tả này.

Chế phẩm và phương pháp tạo ra chế phẩm

Protein gắn kết như kháng thể mà gắn kết với beta klotho (ví dụ, beta klotho của người và/hoặc beta klotho của khỉ cyno) được đề xuất. Kháng thể theo sáng chế là hữu dụng, ví dụ, để chẩn đoán hoặc điều trị bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh liên

quan đến sự biểu hiện của beta klotho. Theo một số phương án nhất định, kháng thể theo sáng chế là hữu dụng để chẩn đoán hoặc điều trị bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh, như bệnh đái tháo đường typ 2, bệnh béo phì, rối loạn mỡ máu, NASH, bệnh tim mạch, hội chứng chuyển hóa hoặc bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh bất kỳ nói chung trong đó mong muốn bắt chước hoặc gia tăng tác dụng in vivo của FGF19 và/hoặc FGF21.

Sáng chế đề xuất kháng thể gắn kết với polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, peptit beta klotho, hoặc epitop beta klotho. Theo một số phương án, kháng thể kháng beta klotho gắn kết với miền ngoại bào (ECD) của beta klotho. Sáng chế còn đề xuất kháng thể ngăn cản cạnh tranh kháng thể kháng beta klotho nêu trong bản mô tả này khỏi gắn kết với polypeptit beta klotho. Kháng thể kháng beta klotho nêu trong bản mô tả này cũng có thể được liên hợp hoặc dung hợp tái tổ hợp với chất chẩn đoán, chất phát hiện được hoặc chất điều trị. Sáng chế còn đề xuất chế phẩm chứa kháng thể beta klotho.

Sáng chế còn đề xuất phân tử axit nucleic được phân lập mã hóa chuỗi nặng globulin miễn dịch, chuỗi nhẹ, vùng VH, vùng VL, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, và/hoặc VL CDR3 của kháng thể kháng beta klotho gắn kết với polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, peptit beta klotho hoặc epitop beta klotho. Sáng chế còn đề xuất vectơ và tế bào chủ chứa phân tử axit nucleic mã hóa kháng thể kháng beta klotho gắn kết với polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, peptit beta klotho hoặc epitop beta klotho. Sáng chế còn đề xuất phương pháp tạo ra kháng thể gắn kết với polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, peptit beta klotho hoặc epitop beta klotho.

Sáng chế đề xuất phương pháp sử dụng kháng thể kháng beta klotho. Phương pháp bao gồm việc điều trị, ngăn ngừa hoặc làm thuyên giảm bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh, bao gồm điều trị, ngăn ngừa hoặc làm dịu một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh ở đối tượng. Ví dụ không giới hạn về bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh bao gồm rối loạn dùng glucoza và di chứng liên quan đến nó, bao gồm bệnh đái tháo đường (Typ I và Typ-2), bệnh đái tháo đường thai kỳ, tăng đường huyết, kháng insulin, sự chuyển hóa glucoza bất thường, "tiền đái tháo đường" (rối loạn glucoza lúc đói (Impaired Fasting Glucose - IFG) hoặc giảm dung nạp glucoza (Impaired Glucose Tolerance - IGT)), hoặc các rối loạn sinh lý khác liên quan đến, hoặc gây ra do, tình trạng tăng đường huyết, bao gồm, ví dụ, thay đổi mô bệnh

học như phá hủy tế bào β tuyến tụy. Ví dụ, đối tượng mắc bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh, cần điều trị có thể có mức glucoza huyết tương lúc đói (fasting plasma glucose - FPG) lớn hơn khoảng 100 mg/dl. Rối loạn liên quan đến tăng đường huyết khác, bao gồm tổn thương thận (ví dụ, tổn thương ống thận hoặc bệnh thận), thoái hóa gan, tổn thương mắt (ví dụ, bệnh đục thủy tinh thể hoặc bệnh võng mạc do đái tháo đường), và bệnh lý bàn chân do đái tháo đường. Các bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh khác bao gồm rối loạn chuyển hóa mỡ máu và di chứng của chúng như, ví dụ, chứng xơ vữa động mạch, bệnh động mạch vành, bệnh mạch não và bệnh tương tự hoặc các bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh khác có liên quan đến hội chứng chuyển hóa, như bệnh béo phì và tăng khối lượng cơ thể (bao gồm tình trạng mắc bệnh đồng thời như, nhưng không giới hạn ở, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (nonalcoholic fatty liver disease - NAFLD), viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), và hội chứng buồng trứng đa nang (polycystic ovarian syndrome - PCOS)), hoặc chứng huyết khối, tình trạng tăng tính đông và tiền huyết khối (động mạch và tĩnh mạch), tăng huyết áp, bệnh tim mạch, đột quỵ và suy tim. Các bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh này bao gồm chứng xơ vữa động mạch, bệnh viêm ruột mạn tính (ví dụ, bệnh Crohn và viêm loét đại tràng), bệnh hen, luput ban đỏ, bệnh viêm khớp, hoặc các rối loạn thấp khớp khác. Bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh khác bao gồm khối u tế bào mỡ, ung thư biểu mô mỡ bao gồm, ví dụ, sarcoma mỡ, khối u rắn, và khối u. Bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh khác bao gồm bệnh thoái hóa thần kinh và/hoặc rối loạn mất myelin của hệ thần kinh trung ương và ngoại biên và/hoặc bệnh thần kinh bao gồm quá trình viêm thần kinh và/hoặc bệnh thần kinh ngoại biên khác, bao gồm bệnh Alzheimer, xơ cứng rải rác, bệnh Parkinson, bệnh lý não chất trắng đa ổ tiến triển (progressive multifocal leukoencephalopathy) và hội chứng Guillian-Barre. Bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh khác bao gồm bệnh và/hoặc rối loạn về da và ngoài da của quá trình làm lành vết thương, bao gồm bệnh da ban đỏ-có vảy (erythemato-squamous dermatoses). Bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh khác bao gồm hội chứng X, bệnh viêm khớp xương mạn tính (thoái hóa khớp), và hội chứng suy hô hấp cấp tính. Khi sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "tăng đường huyết," khi sử dụng đối với bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh của đối tượng đề cập đến mức glucoza cao bất thường trong thời gian ngắn hoặc mạn tính có trong máu của đối tượng. Bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh có thể là do sự chậm trễ trong việc chuyển hóa glucoza hoặc hấp thu sao cho đối tượng bộc lộ sự không dung nạp glucoza hoặc trạng thái glucoza tăng thường không phát hiện thấy ở đối tượng bình thường (ví dụ, ở đối tượng tiền đái tháo

đường không dung nạp glucoza có nguy cơ phát triển thành bệnh đái tháo đường, hoặc ở đối tượng đái tháo đường). Ví dụ, mức glucoza trong huyết tương khi đói (fasting plasma glucose - FPG) đối với glucoza máu bình thường có thể nhỏ hơn khoảng 100 mg/dl, đối với sự chuyển hóa glucoza yếu, nằm trong khoảng từ 100 đến 126 mg/dl, và đối với bệnh đái tháo đường là lớn hơn khoảng 126 mg/dl. Các phương pháp ngăn ngừa (ví dụ, ở đối tượng có khả năng mắc (các) rối loạn cụ thể), đề cập đến việc trì hoãn, làm chậm hoặc ức chế tiến triển, sự khởi phát, hoặc điều trị (ví dụ, cải thiện) béo phì hoặc khối lượng cơ thể không mong muốn (ví dụ, cao hơn chỉ số khối lượng cơ thể bình thường, hoặc "BMI" liên quan đến đối tượng thích hợp tương đương về độ tuổi, giới tính, chủng tộc, v.v..). Phương pháp điều trị bệnh béo phì hoặc khối lượng cơ thể không mong muốn (bao gồm tình trạng mắc bệnh đồng thời với béo phì, ví dụ, hội chứng ngưng thở khi ngủ do tắc nghẽn, chứng viêm khớp, bệnh ung thư (ví dụ, ung thư vú, ung thư nội mạc tử cung, và ung thư ruột già), sỏi mật hoặc tăng đường huyết, bao gồm tiếp xúc hoặc dùng protein gắn kết như kháng thể kháng beta klotho như được mô tả trong bản mô tả này với lượng có hiệu quả điều trị béo phì hoặc khối lượng cơ thể không mong muốn. Ví dụ, đối tượng có thể có chỉ số khối lượng cơ thể cao hơn 25, ví dụ, 25-30, 30-35, 35-40, hoặc cao hơn 40. Phương pháp ngăn ngừa (ví dụ, ở các đối tượng có khả năng mắc (các) rối loạn cụ thể), đề cập đến việc trì hoãn, làm chậm hoặc ức chế tiến triển, sự khởi phát, hoặc điều trị các mức không mong muốn hoặc LDL, VLDL, triglyxerit hoặc cholesterol trong huyết thanh/huyết tương cao bất thường, tất cả, riêng rẻ hoặc kết hợp, có thể dẫn đến, ví dụ, tạo mảng, thu hẹp hoặc làm tắc nghẽn mạch máu, và tăng nguy cơ tăng huyết áp, đột quỵ và bệnh động mạch vành. Các bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh này có thể do, ví dụ, bẩm sinh hoặc do chế độ ăn.

Kháng thể kháng Beta Klotho

Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể kháng beta klotho có thể sử dụng trong bản mô tả này làm chất điều trị. Các kháng thể được lấy làm ví dụ bao gồm kháng thể đa dòng, kháng thể đơn dòng, kháng thể được nhân hóa, kháng thể của người, kháng thể hai đặc hiệu, và kháng thể liên hợp đa loài, cũng như các biến thể của chúng có ái lực tăng cường hoặc các đặc điểm khác.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể mà gắn kết với beta klotho, bao gồm polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, peptit beta klotho hoặc epitop beta klotho. Theo một số phương án, kháng thể kháng beta klotho là kháng thể

được nhân hóa (ví dụ, bao gồm vùng ổn định của người) gắn kết beta klotho, bao gồm polypeptit beta klotho, mảnh polypeptit beta klotho, peptit beta klotho hoặc epitop beta klotho.

Theo một số phương án nhất định, kháng thể kháng beta klotho chứa vùng VH, vùng VL, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, và/hoặc VL CDR3 của kháng thể đơn dòng bất kỳ của chuột được mô tả trong bản mô tả này, như trình tự axit amin được mô tả trong các Bảng 1-10. Do đó, theo một số phương án, kháng thể được phân lập hoặc mảnh chức năng của nó nêu trong bản mô tả này chứa một, hai, và/hoặc ba CDR chuỗi nặng và/hoặc một, hai, và/hoặc ba CDR chuỗi nhẹ từ: (a) kháng thể được ký hiệu 5H23; (b) kháng thể được ký hiệu 1C17; (c) kháng thể được ký hiệu 1D19; (d) kháng thể được ký hiệu 2L12; (e) kháng thể được ký hiệu 3L3; (f) kháng thể được ký hiệu 3N20; (g) kháng thể được ký hiệu 4P5; (h) kháng thể được ký hiệu 5C23; (i) kháng thể được ký hiệu 5F7; (j) kháng thể được ký hiệu 1G19, như thể hiện trong các bảng 1-10.

Kháng thể được ký hiệu 5H23 bao gồm trình tự VH là SEQ ID NO:25 và trình tự VL là SEQ ID NO:26.

Kháng thể được ký hiệu 1C17 bao gồm trình tự VH là SEQ ID NO:51 và trình tự VL là SEQ ID NO:52.

Kháng thể được ký hiệu 1D19 bao gồm trình tự VH là SEQ ID NO:77 và trình tự VL là SEQ ID NO:78.

Kháng thể được ký hiệu 2L12 bao gồm trình tự VH là SEQ ID NO:103 và trình tự VL là SEQ ID NO:104.

Kháng thể được ký hiệu 3L3 bao gồm trình tự VH là SEQ ID NO:129 và trình tự VL là SEQ ID NO:130.

Kháng thể được ký hiệu 3N20 bao gồm trình tự VH là SEQ ID NO:155 và trình tự VL là SEQ ID NO:156.

Kháng thể được ký hiệu 4P5 bao gồm trình tự VH là SEQ ID NO:181 và trình tự VL là SEQ ID NO:182.

Kháng thể được ký hiệu 5C23 bao gồm trình tự VH là SEQ ID NO:207 và trình tự VL là SEQ ID NO:208.

Kháng thể được ký hiệu 5F7 bao gồm trình tự VH là SEQ ID NO:233 và trình tự VL là SEQ ID NO:234.

Kháng thể được ký hiệu IG19 bao gồm trình tự VH là SEQ ID NO:259 và trình tự VL là SEQ ID NO:260.

Bảng 1: Trình tự CDR của kháng thể 5H23

		Ví dụ	IMGT	Kabat	Chothia	Contact	AbM
Trình tự VH CDR	VH CDR1	GYTFTSYDIN (SEQ ID NO:1)	GYTFTSYD (SEQ ID NO:7)	SYDIN (SEQ ID NO:12)	GYTFTSY (SEQ ID NO:13)	TSYDIN (SEQ ID NO:18)	GYTFTSYDIN (SEQ ID NO:1)
	VH CDR2	WIYPGDGSTKYNEKFKG (SEQ ID NO:2)	IYPGDGST (SEQ ID NO:8)	WIYPGDGSTKYNEKFKG (SEQ ID NO:2)	PGDG (SEQ ID NO:14)	WIGWIYPGDGSTK (SEQ ID NO:19)	WIYPGDGSTK (SEQ ID NO:24)
	VH CDR3	SDYYGSRSFAY (SEQ ID NO:3)	ARSDYYGSRSFAY (SEQ ID NO:9)	SDYYGSRSFAY (SEQ ID NO:3)	DYYGSRSFA (SEQ ID NO:15)	ARSDYYGSRSFA (SEQ ID NO:20)	SDYYGSRSFAY (SEQ ID NO:3)
Trình tự VL CDR	VL CDR1	RASKSVSTSGYVYMH (SEQ ID NO:4)	KSVSTSGYVY (SEQ ID NO:10)	RASKSVSTSGYVYMH (SEQ ID NO:4)	SKSVSTSGYVY (SEQ ID NO:16)	STSGYVYMHWN (SEQ ID NO:21)	RASKSVSTSGYVYMH (SEQ ID NO:4)
	VL CDR2	LASYLES (SEQ ID NO:5)	LAS (SEQ ID NO:11)	LASYLES (SEQ ID NO:5)	LAS (SEQ ID NO:11)	LLIYLASYLE (SEQ ID NO:22)	LASYLES (SEQ ID NO:5)
	VL CDR3	QHSRDLTFP (SEQ ID NO:6)	QHSRDLTFP (SEQ ID NO:6)	QHSRDLTFP (SEQ ID NO:6)	SRDLTF (SEQ ID NO:17)	QHSRDLTF (SEQ ID NO:23)	QHSRDLTFP (SEQ ID NO:6)
Trình tự VH: QVQLQQSGPELVKPGALVKISCKASGYTFTSYDINWVKQRPGQGLEWIGWIYPGDGSTKYNEKFKGKATLTADKSSRTAYMQLSSLTSENSAVYFCARSDYYGSRSFAYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO: 25)						
Trình tự VL: DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYVYMHWNQQKPGQPPKLLIYLASYLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAAIYYCQHSRDLTFPFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:26)						

Bảng 2: Trình tự CDR của kháng thể 1C17

		Ví dụ	IMGT	Kabat	Chothia	Contact	AbM
Trình tự VH CDR	VH CDR1	GYSITSGYYWN (SEQ ID NO:27)	GYSITSGYY (SEQ ID NO:33)	SGYYWN (SEQ ID NO:38)	GYSITSGY (SEQ ID NO:39)	TSGYYWN (SEQ ID NO:44)	GYSITSGYYWN (SEQ ID NO:27)
	VH CDR2	YINYDGNSNYTPSLKN (SEQ ID NO:28)	INYDGNS (SEQ ID NO:34)	YINYDGNSNYTPSLKN (SEQ ID NO:28)	YDG (SEQ ID NO:40)	WMGYINYDGNSN (SEQ ID NO:45)	YINYDGNSN (SEQ ID NO:50)
	VH CDR3	KGAYYSNYDSFDV (SEQ ID NO:29)	ARKGAYYSNYDSFDV (SEQ ID NO:35)	KGAYYSNYDSFDV (SEQ ID NO:29)	GAYYSNYDSFD (SEQ ID NO:41)	ARKGAYYSNYDSFD (SEQ ID NO:46)	KGAYYSNYDSFDV (SEQ ID NO:29)
Trình tự VL CDR	VL CDR1	KASQDINSYLS (SEQ ID NO:30)	QDINSY (SEQ ID NO:36)	KASQDINSYLS (SEQ ID NO:30)	SQDINSY (SEQ ID NO:42)	NSYLSWV (SEQ ID NO:47)	KASQDINSYLS (SEQ ID NO:30)
	VL CDR2	RANRLVD (SEQ ID NO:31)	RAN (SEQ ID NO:37)	RANRLVD (SEQ ID NO:31)	RAN (SEQ ID NO:37)	TLIYRANRLV (SEQ ID NO:48)	RANRLVD (SEQ ID NO:31)
	VL CDR3	LQYDEFPFT (SEQ ID NO:32)	LQYDEFPFT (SEQ ID NO:32)	LQYDEFPFT (SEQ ID NO:32)	YDEFPF (SEQ ID NO:43)	LQYDEFPF (SEQ ID NO:49)	LQYDEFPFT (SEQ ID NO:32)
Trình tự VH: QVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEWMGYINYDGNSNYTPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTPEDTATYYCARKGAYYSNYDSFDVWGTGTTVTVSS (SEQ ID NO:51)						
Trình tự VL: DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINSYLSWVQQKPGKSPKTLIYRANRLVDGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLEYEDMGIYYCLQYDEFPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:52)							

Bảng 3: Trình tự CDR của kháng thể 1D19

		Ví dụ	IMGT	Kabat	Chothia	Contact	AbM
Trình tự VH CDR	VH CDR1	GYTFTRYDIN (SEQ ID NO:53)	GYTFTRYD (SEQ ID NO:59)	RYDIN (SEQ ID NO:64)	GYTFTRY (SEQ ID NO:65)	TRYDIN (SEQ ID NO:70)	GYTFTRYDIN (SEQ ID NO:53)
	VH CDR2	WIYPGDSSTKFNENFKD (SEQ ID NO:54)	IYPGDSST (SEQ ID NO:60)	WIYPGDSSTKFNENFKD (SEQ ID NO:54)	PGDS (SEQ ID NO:66)	WIGWIYPGDSSTK (SEQ ID NO:71)	WIYPGDSSTK (SEQ ID NO:76)
	VH CDR3	SDYYGSRSFTY (SEQ ID NO:55)	ARSDYYGSRSFTY (SEQ ID NO:61)	SDYYGSRSFTY (SEQ ID NO:55)	DYYGSRSFT (SEQ ID NO:67)	ARSDYYGSRSFT (SEQ ID NO:72)	SDYYGSRSFTY (SEQ ID NO:55)
Trình tự VL CDR	VL CDR1	RASKSVSTSGYSYMH (SEQ ID NO:56)	KSVSTSGYSY (SEQ ID NO:62)	RASKSVSTSGYSYMH (SEQ ID NO:56)	SKSVSTSGYSY (SEQ ID NO:68)	STSGYSYMHWY (SEQ ID NO:73)	RASKSVSTSGYSYMH (SEQ ID NO:56)
	VL CDR2	LASNLES (SEQ ID NO:57)	LAS (SEQ ID NO:63)	LASNLES (SEQ ID NO:57)	LAS (SEQ ID NO:63)	LLIYLASNLE (SEQ ID NO:74)	LASNLES (SEQ ID NO:57)
	VL CDR3	QHSRELPYT (SEQ ID NO:58)	QHSRELPYT (SEQ ID NO:58)	QHSRELPYT (SEQ ID NO:58)	SRELPY (SEQ ID NO:69)	QHSRELPY (SEQ ID NO:75)	QHSRELPYT (SEQ ID NO:58)
Trình tự VH: QVQPQESGPELVKPGALVKISCKASGYTFTRYDINWMKQRPGQGLEWIGWIYPGDSSTKFNENFKDKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSTVYFCARSDYYGSRSFTYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:77)						
Trình tự VL: DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSRELPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:78)							

Bảng 4: Trình tự CDR của kháng thể 2L12

		Ví dụ	IMGT	Kabat	Chothia	Contact	AbM
Trình tự VH CDR	VH CDR1	GYTFTRYDIN (SEQ ID NO:79)	GYTFTRYD (SEQ ID NO:85)	RYDIN (SEQ ID NO:90)	GYTFTRY (SEQ ID NO:91)	TRYDIN (SEQ ID NO:96)	GYTFTRYDIN (SEQ ID NO:79)
	VH CDR2	WIYPGDDSTKYNEKFKG (SEQ ID NO:80)	IYPGDDST (SEQ ID NO:86)	WIYPGDDSTKYNEKFKG (SEQ ID NO:80)	PGDD (SEQ ID NO:92)	WIGWIYPGDDSTK (SEQ ID NO:97)	WIYPGDDSTK (SEQ ID NO:102)
	VH CDR3	SDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:81)	ARSDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:87)	SDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:81)	DYYGSRSFV (SEQ ID NO:93)	ARSDYYGSRSFV (SEQ ID NO:98)	SDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:81)
Trình tự VL CDR	VL CDR1	RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:82)	KSVSTSGYSY (SEQ ID NO:88)	RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:82)	SKSVSTSGYSY (SEQ ID NO:94)	STSGYSYLHWY (SEQ ID NO:99)	RASKSVSTSGYSYLH (SEQ ID NO:82)
	VL CDR2	LASNLES (SEQ ID NO:83)	LAS (SEQ ID NO:89)	LASNLES (SEQ ID NO:83)	LAS (SEQ ID NO:89)	LLIYLASNLE (SEQ ID NO:100)	LASNLES (SEQ ID NO:83)
	VL CDR3	QHSGELPYT (SEQ ID NO:84)	QHSGELPYT (SEQ ID NO:84)	QHSGELPYT (SEQ ID NO:84)	SGELPY (SEQ ID NO:95)	QHSGELPY (SEQ ID NO:101)	QHSGELPYT (SEQ ID NO:84)
Trình tự VH: QVQLQQSGPELVKPGALVKISCKASGYTFTRYDINWVKKRPGQGLEWIGWIYPGDDSTKYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSAVYFCARSDYYGSRSFVYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:103)						
Trình tự VL: DIVLTQSPASLPVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYLHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSGELPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:104)							

Bảng 5: Trình tự CDR của kháng thể 3L3

		Ví dụ	IMGT	Kabat	Chothia	Contact	AbM
Trình tự VH CDR	VH CDR1	GYTFTSYDIN (SEQ ID NO:105)	GYTFTSYD (SEQ ID NO:111)	SYDIN (SEQ ID NO:116)	GYTFTSY (SEQ ID NO:117)	TSYDIN (SEQ ID NO:122)	GYTFTSYDIN (SEQ ID NO:105)
	VH CDR2	WIYPGDGSPKYDEKFKG (SEQ ID NO:106)	IYPGDGSP (SEQ ID NO:112)	WIYPGDGSPKYDEKFKG (SEQ ID NO:106)	PGDG (SEQ ID NO:118)	WIGWIYPGDGSPK (SEQ ID NO:123)	WIYPGDGSPK (SEQ ID NO:128)
	VH CDR3	SDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:107)	ARSDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:113)	SDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:107)	DYYGSRSFV (SEQ ID NO:119)	ARSDYYGSRSFV (SEQ ID NO:124)	SDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:107)
Trình tự VL CDR	VL CDR1	RASKSVSTSGYSYVH (SEQ ID NO:108)	KSVSTSGYSY (SEQ ID NO:114)	RASKSVSTSGYSYVH (SEQ ID NO:108)	SKSVSTSGYSY (SEQ ID NO:120)	STSGYSYVHWY (SEQ ID NO:125)	RASKSVSTSGYSYVH (SEQ ID NO:108)
	VL CDR2	LASNLES (SEQ ID NO:109)	LAS (SEQ ID NO:115)	LASNLES (SEQ ID NO:109)	LAS (SEQ ID NO:115)	LLIYLASNLE (SEQ ID NO:126)	LASNLES (SEQ ID NO:109)
	VL CDR3	QHSGELPYT (SEQ ID NO:110)	QHSGELPYT (SEQ ID NO:110)	QHSGELPYT (SEQ ID NO:110)	SGELPY (SEQ ID NO:121)	QHSGELPY (SEQ ID NO:127)	QHSGELPYT (SEQ ID NO:110)
Trình tự VH: QVQPQESGPELVKPGTLVKISCKASGYTFTSYDINWVKQRPGQGLEWIGWIYPGDGSPKYDEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSL TSENSAVYFCARSDYYGSRSFVYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:129)						
Trình tự VL: DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGRGSGTDFTLNIHPVEEEDAA TYYCQHSGELPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:130)						

Bảng 6: Trình tự CDR của kháng thể 3N20

		Ví dụ	IMGT	Kabat	Chothia	Contact	AbM
Trình tự VH CDR	VH CDR1	GYIFTNYGIS (SEQ ID NO:131)	GYIFTNYG (SEQ ID NO:137)	NYGIS (SEQ ID NO:142)	GYIFTNY (SEQ ID NO:143)	TNYGIS (SEQ ID NO:148)	GYIFTNYGIS (SEQ ID NO:131)
	VH CDR2	EIYPRSGNTYYNEKFKG (SEQ ID NO:132)	IYPRSGNT (SEQ ID NO:138)	EIYPRSGNTYYNEKFKG (SEQ ID NO:132)	PRSG (SEQ ID NO:144)	WIGEIYPRSGNTY (SEQ ID NO:149)	EIYPRSGNTY (SEQ ID NO:154)
	VH CDR3	HWDGVLDYFDY (SEQ ID NO:133)	ARHWDGVLDYFDY (SEQ ID NO:139)	HWDGVLDYFDY (SEQ ID NO:133)	WDGVLDYFD (SEQ ID NO:145)	ARHWDGVLDYFD (SEQ ID NO:150)	HWDGVLDYFDY (SEQ ID NO:133)
Trình tự VL CDR	VL CDR1	KSSQSLLNSGNQKNYLA (SEQ ID NO:134)	QSLLNSGNQKNY (SEQ ID NO:140)	KSSQSLLNSGNQKNYLA (SEQ ID NO:134)	SQSLLNSGNQKNY (SEQ ID NO:146)	LNSGNQKNYLAWY (SEQ ID NO:151)	KSSQSLLNSGNQKNYLA (SEQ ID NO:134)
	VL CDR2	GASTRES (SEQ ID NO:135)	GAS (SEQ ID NO:141)	GASTRES (SEQ ID NO:135)	GAS (SEQ ID NO:141)	LLIYGASTRE (SEQ ID NO:152)	GASTRES (SEQ ID NO:135)
	VL CDR3	LNDHSYPFT (SEQ ID NO:136)	LNDHSYPFT (SEQ ID NO:136)	LNDHSYPFT (SEQ ID NO:136)	DHSYPF (SEQ ID NO:147)	LNDHSYPF (SEQ ID NO:153)	LNDHSYPFT (SEQ ID NO:136)
Trình tự VH: QVQLQESGAELARPGASVKLSCKVSGYIFTNYGISWVKQRTGQGLEWIGEIYPRSGNTYYNEKFKGKATLTADMSSSTAYMDLRSLTSEDSAVYFCARHWDGVLDYFDYWGQGTSLTVSS (SEQ ID NO:155)						
Trình tự VL: DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCLNDHSYPFTFGAGTKLELK (SEQ ID NO:156)						

Bảng 7: Trình tự CDR của kháng thể 4P5

		Ví dụ	IMGT	Kabat	Chothia	Contact	AbM
Trình tự VH CDR	VH CDR1	GYTFTRYDIN (SEQ ID NO:157)	GYTFTRYD (SEQ ID NO:163)	RYDIN (SEQ ID NO:168)	GYTFTRY (SEQ ID NO:169)	TRYDIN (SEQ ID NO:174)	GYTFTRYDIN (SEQ ID NO:157)
	VH CDR2	WIYPGDDSTKYNEKFKG (SEQ ID NO:158)	IYPGDDST (SEQ ID NO:164)	WIYPGDDSTKYNEKFKG (SEQ ID NO:158)	PGDD (SEQ ID NO:170)	WIGWIYPGDDSTK (SEQ ID NO:175)	WIYPGDDSTK (SEQ ID NO:180)
	VH CDR3	SDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:159)	ARSDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:165)	SDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:159)	DYYGSRSFV (SEQ ID NO:171)	ARSDYYGSRSFV (SEQ ID NO:176)	SDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:159)
Trình tự VL CDR	VL CDR1	RASKSVSTSGYSYMH (SEQ ID NO:160)	KSVSTSGYSY (SEQ ID NO:166)	RASKSVSTSGYSYMH (SEQ ID NO:160)	SKSVSTSGYSY (SEQ ID NO:172)	STSGYSYMHWY (SEQ ID NO:177)	RASKSVSTSGYSYMH (SEQ ID NO:160)
	VL CDR2	LASNLES (SEQ ID NO:161)	LAS (SEQ ID NO:167)	LASNLES (SEQ ID NO:161)	LAS (SEQ ID NO:167)	LLIYLASNLE (SEQ ID NO:178)	LASNLES (SEQ ID NO:161)
	VL CDR3	HHSGELPYT (SEQ ID NO:162)	HHSGELPYT (SEQ ID NO:162)	HHSGELPYT (SEQ ID NO:162)	SGELPY (SEQ ID NO:173)	HHSGELPY (SEQ ID NO:179)	HHSGELPYT (SEQ ID NO:162)
Trình tự VH: QVQLQQSGPELVKPGALVKISCKASGYTFTRYDINWVKKRPGQGLEWIGWIYPGDDSTKYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSAVYFCARSDYYGSRSFVYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:181)						
Trình tự VL: DILLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGRGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCHHSGELPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:182)							

Bảng 8: Trình tự CDR của kháng thể 5C23

		Ví dụ	IMGT	Kabat	Chothia	Contact	AbM
Trình tự VH CDR	VH CDR1	GYTFTRYDIN (SEQ ID NO:183)	GYTFTRYD (SEQ ID NO:189)	RYDIN (SEQ ID NO:194)	GYTFTRY (SEQ ID NO:195)	TRYDIN (SEQ ID NO:200)	GYTFTRYDIN (SEQ ID NO:183)
	VH CDR2	WIYPGDGSTKYNEKFEG (SEQ ID NO:184)	IYPGDGST (SEQ ID NO:190)	WIYPGDGSTKYNEKFEG (SEQ ID NO:184)	PGDG (SEQ ID NO:196)	WIGWIYPGDGSTK (SEQ ID NO:201)	WIYPGDGSTK (SEQ ID NO:206)
	VH CDR3	SDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:185)	ARSDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:191)	SDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:185)	DYYGSRSFV (SEQ ID NO:197)	ARSDYYGSRSFV (SEQ ID NO:202)	SDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:185)
Trình tự VL CDR	VL CDR1	RASKSVSTSGYSYMH (SEQ ID NO:186)	KSVSTSGYSY (SEQ ID NO:192)	RASKSVSTSGYSYMH (SEQ ID NO:186)	SKSVSTSGYSY (SEQ ID NO:198)	STSGYSYMHWY (SEQ ID NO:203)	RASKSVSTSGYSYMH (SEQ ID NO:186)
	VL CDR2	LASNLES (SEQ ID NO:187)	LAS (SEQ ID NO:193)	LASNLES (SEQ ID NO:187)	LAS (SEQ ID NO:193)	LLIYLASNLE (SEQ ID NO:204)	LASNLES (SEQ ID NO:187)
	VL CDR3	QHSRELPYT (SEQ ID NO:188)	QHSRELPYT (SEQ ID NO:188)	QHSRELPYT (SEQ ID NO:188)	SRELPY (SEQ ID NO:199)	QHSRELPY (SEQ ID NO:205)	QHSRELPYT (SEQ ID NO:188)
Trình tự VH: QVQPQESGPELVKPGALVKISCKASGYTFTRYDINWVKKRPGQGLEWIGWIYPGDGSTKYNEKFEGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSAVYFCARSDYYGSRSFVYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:207)						
Trình tự VL: DIVLTQSPDSLTVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSRELPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:208)						

Bảng 9: Trình tự CDR của kháng thể 5F7

		Ví dụ	IMGT	Kabat	Chothia	Contact	AbM
Trình tự VH CDR	VH CDR1	GYTFTRYDIN (SEQ ID NO:209)	GYTFTRYD (SEQ ID NO:215)	RYDIN (SEQ ID NO:220)	GYTFTRY (SEQ ID NO:221)	TRYDIN (SEQ ID NO:226)	GYTFTRYDIN (SEQ ID NO:209)
	VH CDR2	WIYPGDISTKYNEKFKG (SEQ ID NO:210)	IYPGDIST (SEQ ID NO:216)	WIYPGDISTKYNEKFKG (SEQ ID NO:210)	PGDI (SEQ ID NO:222)	WIGWIYPGDISTK (SEQ ID NO:227)	WIYPGDISTK (SEQ ID NO:232)
	VH CDR3	SDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:211)	ARSDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:217)	SDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:211)	DYYGSRSFV (SEQ ID NO:223)	ARSDYYGSRSFV (SEQ ID NO:228)	SDYYGSRSFVY (SEQ ID NO:211)
Trình tự VL CDR	VL CDR1	RASKSVSTSGYSYMH (SEQ ID NO:212)	KSVSTSGYSY (SEQ ID NO:218)	RASKSVSTSGYSYMH (SEQ ID NO:212)	SKSVSTSGYSY (SEQ ID NO:224)	STSGYSYMHWY (SEQ ID NO:229)	RASKSVSTSGYSYMH (SEQ ID NO:212)
	VL CDR2	LASNLES (SEQ ID NO:213)	LAS (SEQ ID NO:219)	LASNLES (SEQ ID NO:213)	LAS (SEQ ID NO:219)	LLIYLASNLE (SEQ ID NO:230)	LASNLES (SEQ ID NO:213)
	VL CDR3	QHSRELPYT (SEQ ID NO:214)	QHSRELPYT (SEQ ID NO:214)	QHSRELPYT (SEQ ID NO:214)	SRELPY (SEQ ID NO:225)	QHSRELPY (SEQ ID NO:231)	QHSRELPYT (SEQ ID NO:214)
Trình tự VH: QVQPQESGPELVKPGALVKISCKASGYTFTRYDINWVKQRPGQGLEWIGWIYPGDISTKYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLNSLTSENSAVYFCARSDYYGSRSFVYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:233)						
Trình tự VL: DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSRELPYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:234)							

Bảng 10: Trình tự CDR của kháng thể 1G19

		Ví dụ	IMGT	Kabat	Chothia	Contact	AbM
Trình tự VH CDR	VH CDR1	GYSITSGYYWN (SEQ ID NO:235)	GYSITSGYY (SEQ ID NO:241)	SGYYWN (SEQ ID NO:246)	GYSITSGY (SEQ ID NO:247)	TSGYYWN (SEQ ID NO:252)	GYSITSGYYWN (SEQ ID NO:235)
	VH CDR2	YINYGGSNNYNPSLKN (SEQ ID NO:236)	INYGGSN (SEQ ID NO:242)	YINYGGSNNYNPSLKN (SEQ ID NO:236)	YGG (SEQ ID NO:248)	WMGYINYGGSNN (SEQ ID NO:253)	YINYGGSNN (SEQ ID NO:258)
	VH CDR3	RGAYYSNYDSFDV (SEQ ID NO:237)	ARRGAYYSNYDSFDV (SEQ ID NO:243)	RGAYYSNYDSFDV (SEQ ID NO:237)	GAYYSNYDSFD (SEQ ID NO:249)	ARRGAYYSNYDSFD (SEQ ID NO:254)	RGAYYSNYDSFDV (SEQ ID NO:237)
Trình tự VL CDR	VL CDR1	KASQDINSYLS (SEQ ID NO:238)	QDINSY (SEQ ID NO:244)	KASQDINSYLS (SEQ ID NO:238)	SQDINSY (SEQ ID NO:250)	NSYLSWF (SEQ ID NO:255)	KASQDINSYLS (SEQ ID NO:238)
	VL CDR2	RANRLVD (SEQ ID NO:239)	RAN (SEQ ID NO:245)	RANRLVD (SEQ ID NO:239)	RAN (SEQ ID NO:245)	TLIYRANRLV (SEQ ID NO:256)	RANRLVD (SEQ ID NO:239)
	VL CDR3	LQYDEFPYT (SEQ ID NO:240)	LQYDEFPYT (SEQ ID NO:240)	LQYDEFPYT (SEQ ID NO:240)	YDEFPY (SEQ ID NO:251)	LQYDEFPY (SEQ ID NO:257)	LQYDEFPYT (SEQ ID NO:240)
Trình tự VH: QVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEWMGYINYGGSNNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLTSVTTEDTATYYCARRGAYYSNYDSFDVWGTGTTVTVSS (SEQ ID NO:259)						
Trình tự VL: DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINSYLSWFQQKPGKSPKTLIYRANRLVDGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLEYEEMGIYYCLQYDEFPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:260)							

Theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này chứa vùng VH hoặc miền VH. Theo các phương án khác, kháng thể nêu trong bản mô tả này chứa vùng VL hoặc chuỗi VL. Theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này có tổ hợp của (i) miền VH hoặc vùng VH; và/hoặc (ii) vùng VL hoặc miền VL.

Theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này chứa hoặc bao gồm sáu CDR, ví dụ, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, và/hoặc VL CDR3 được nhận biết trong các bảng 1-10. Theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này có thể chứa ít hơn sáu CDR. Theo một số phương án, kháng thể này chứa hoặc bao gồm một, hai, ba, bốn, hoặc năm CDR được chọn từ nhóm bao gồm VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, và/hoặc VL CDR3 được nhận biết trong các bảng 1-10. Theo một số phương án, kháng thể này chứa hoặc bao gồm một, hai, ba, bốn, hoặc năm CDR được chọn từ nhóm bao gồm VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, và/hoặc VL CDR3 của kháng thể đơn dòng của chuột được chọn từ nhóm bao gồm: (a) kháng thể được ký hiệu 5H23; (b) kháng thể được ký hiệu 1C17; (c) kháng thể được ký hiệu 1D19; (d) kháng thể được ký hiệu 2L12; (e) kháng thể được ký hiệu 3L3; (f) kháng thể được ký hiệu 3N20; (g) kháng thể được ký hiệu 4P5; (h) kháng thể được ký hiệu 5C23; (i) kháng thể được ký hiệu 5F7; (j) kháng thể được ký hiệu 1G19; được mô tả trong bản mô tả này. Do đó, theo một số phương án, kháng thể này chứa hoặc bao gồm một, hai, ba, bốn, hoặc năm CDR trong số VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, và/hoặc VL CDR3 bất kỳ được nhận biết trong các bảng 1-10.

Theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này chứa một hoặc nhiều (ví dụ, một, hai hoặc ba) VH CDR được nêu trong các bảng 1-10. Theo các phương án khác, kháng thể nêu trong bản mô tả này chứa một hoặc nhiều (ví dụ, một, hai hoặc ba) VL CDR nêu trong các bảng 1-10. Theo phương án khác nữa, kháng thể nêu trong bản mô tả này chứa một hoặc nhiều (ví dụ, một, hai hoặc ba) VH CDR nêu trong các bảng 1-10 và một hoặc nhiều VL CDR nêu trong các bảng 1-10. Do đó, theo một số phương án, kháng thể chứa VH CDR1 có trình tự axit amin của bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252. Theo một số phương án, kháng thể chứa VH CDR2 có trình tự axit amin của bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102,

106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258. Theo một số phương án, kháng thể chứa VH CDR3 có trình tự axit amin của bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254. Theo một số phương án, kháng thể chứa VH CDR1 và/hoặc VH CDR2 và/hoặc VH CDR3 độc lập được chọn từ VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3 như được mô tả trong trình tự axit amin bất kỳ được mô tả trong bảng 1-10. Theo một số phương án, kháng thể chứa VL CDR1 có trình tự axit amin của bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255. Theo phương án khác, kháng thể chứa VL CDR2 có trình tự axit amin của bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256. Theo một số phương án, kháng thể chứa VL CDR3 có trình tự axit amin của bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257. Theo một số phương án, kháng thể chứa VL CDR1 và/hoặc VL CDR2 và/hoặc VL CDR3 độc lập được chọn từ VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3 như được mô tả trong trình tự axit amin bất kỳ được mô tả trong các Bảng 1-10.

Theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này chứa vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) chứa: (1) VH CDR1 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm: (i) SEQ ID NO:1, 27, 53, 79, 105, 131, 157, 183, 209, và hoặc 235, (ii) SEQ ID NO:7, 33, 59, 85, 111, 137, 163, 189, 215 hoặc 241, (iii) SEQ ID NO:12, 38, 64, 90, 116, 142, 168, 194, 220 hoặc 246, (iv) SEQ ID NO:13, 39, 65, 91, 117, 143, 169, 195, 221 hoặc 247, và (v) SEQ ID NO:18, 44, 70, 96, 122, 148, 174, 200, 226 hoặc 252; (2) VH CDR2 có trình tự axit amin của được chọn từ nhóm bao gồm: (i) SEQ ID NO:2, 28, 54, 80, 106, 132, 158, 184, 210, và hoặc 236, (ii) SEQ ID NO:8, 34, 60, 86, 112, 138, 164, 190, 216 hoặc 242, (iii) SEQ ID NO:14, 40, 66, 92, 118, 144, 170, 196, 222 hoặc 248, (iv) SEQ ID NO:19, 45, 71, 97, 123, 149, 175, 201, 227 hoặc 253, và (v) SEQ ID NO:24, 50, 76, 102, 128, 154, 180, 206, 232 hoặc 258; và (3) VH CDR3 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm: (i) SEQ ID NO: 3, 29, 55, 81, 107, 133, 159, 185, 211, và hoặc 237, (ii) SEQ ID NO:9, 35, 61, 87, 113, 139, 165, 191,

217 hoặc 243, (iii) SEQ ID NO:15, 41, 67, 93, 119, 145, 171, 197, 223 hoặc 249, và (iv) SEQ ID NO:20, 46, 72, 98, 124, 150, 176, 202, 228 hoặc 254; và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ (VL) chứa: (1) VL CDR1 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm: (i) SEQ ID NO:4, 30, 56, 82, 108, 134, 160, 186, 212, và hoặc 238, (ii) SEQ ID NO:10, 36, 52, 88, 114, 140, 166, 192, 218 hoặc 244, (iii) SEQ ID NO:16, 42, 68, 94, 120, 146, 172, 198, 224 hoặc 250, và (iv) SEQ ID NO:21, 47, 73, 99, 125, 151, 177, 203, 229 hoặc 255; (2) VL CDR2 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm: (i) SEQ ID NO:5, 31, 57, 83, 109, 135, 161, 187, 213, và hoặc 239, (ii) SEQ ID NO:11, 37, 63, 89, 115, 141, 167, 193, 219 hoặc 245, và (iii) SEQ ID NO:22, 48, 74, 100, 126, 152, 178, 204, 230 hoặc 256; và (3) VL CDR3 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm: (i) SEQ ID NO:6, 32, 58, 84, 110, 136, 162, 188, 214, và hoặc 240, (ii) SEQ ID NO:17, 43, 69, 95, 121, 147, 173, 199, 225 hoặc 251, và (iii) SEQ ID NO:23, 49, 75, 101, 127, 153, 179, 205, 231 hoặc 257.

Theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này chứa vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) chứa: (1) VH CDR1 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm: (i) SEQ ID NO:1, 27, 53, 79, 105, 131, 157, 183, 209, và hoặc 235, (ii) SEQ ID NO:7, 33, 59, 85, 111, 137, 163, 189, 215 hoặc 241, (iii) SEQ ID NO:12, 38, 64, 90, 116, 142, 168, 194, 220 hoặc 246, (iv) SEQ ID NO:13, 39, 65, 91, 117, 143, 169, 195, 221 hoặc 247, và (v) SEQ ID NO:18, 44, 70, 96, 122, 148, 174, 200, 226 hoặc 252; (2) VH CDR2 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm: (i) SEQ ID NO:2, 28, 54, 80, 106, 132, 158, 184, 210, và hoặc 236, (ii) SEQ ID NO:8, 34, 60, 86, 112, 138, 164, 190, 216 hoặc 242, (iii) SEQ ID NO:14, 40, 66, 92, 118, 144, 170, 196, 222 hoặc 248, (iv) SEQ ID NO:19, 45, 71, 97, 123, 149, 175, 201, 227 hoặc 253, và (v) SEQ ID NO:24, 50, 76, 102, 128, 154, 180, 206, 232 hoặc 258; và (3) VH CDR3 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm: (i) SEQ ID NO: 3, 29, 55, 81, 107, 133, 159, 185, 211, và hoặc 237, (ii) SEQ ID NO:9, 35, 61, 87, 113, 139, 165, 191, 217 hoặc 243, (iii) SEQ ID NO:15, 41, 67, 93, 119, 145, 171, 197, 223 hoặc 249, và (iv) SEQ ID NO:20, 46, 72, 98, 124, 150, 176, 202, 228 hoặc 254.

Theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ (VL) chứa: (1) VL CDR1 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm: (i) SEQ ID NO:4, 30, 56, 82, 108, 134, 160, 186, 212, và hoặc 238, (ii) SEQ ID NO:10, 36, 52, 88, 114, 140, 166, 192, 218 hoặc 244, (iii) SEQ ID NO:16, 42, 68, 94, 120, 146, 172, 198, 224 hoặc 250, và (iv) SEQ ID NO:21, 47, 73, 99, 125, 151, 177, 203,

229 hoặc 255; (2) VL CDR2 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm: (i) SEQ ID NO:5, 31, 57, 83, 109, 135, 161, 187, 213, và hoặc 239, (ii) SEQ ID NO:11, 37, 63, 89, 115, 141, 167, 193, 219 hoặc 245, và (iii) SEQ ID NO:22, 48, 74, 100, 126, 152, 178, 204, 230 hoặc 256; và (3) VL CDR3 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm: (i) SEQ ID NO:6, 32, 58, 84, 110, 136, 162, 188, 214, và hoặc 240, (ii) SEQ ID NO:17, 43, 69, 95, 121, 147, 173, 199, 225 hoặc 251, và (iii) SEQ ID NO:23, 49, 75, 101, 127, 153, 179, 205, 231 hoặc 257.

Còn được nêu trong bản mô tả này là các kháng thể chứa một hoặc nhiều VH CDR và một hoặc nhiều (ví dụ, một, hai hoặc ba) VL CDR được nêu trong các bảng 1-10. Đặc biệt, nêu trong bản mô tả này là kháng thể chứa VH CDR1 (SEQ ID NO: 1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252.) và VL CDR1 (SEQ ID NO: 4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255); VH CDR1 (SEQ ID NO: 1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252); VL CDR2 (SEQ ID NO: 5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256) và VH CDR1 (SEQ ID NOS 1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252) VL CDR3 (SEQ ID NO: 6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257) và VH CDR2 (SEQ ID NO: 2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258); VL CDR1 (SEQ ID NO: 4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255) và VH CDR2 (SEQ ID NO: 2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232,

236, 242, 248, 253, và 258); và VL CDR3 (SEQ ID NO: 6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR3 (SEQ ID NO: 3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254) và VL CDR1 (SEQ ID NO: 4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255); VH CDR3 (SEQ ID NO: 3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254) và VL CDR2 (SEQ ID NO: 5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256); VH CDR3 (SEQ ID NO: 3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254) và VL CDR3 (SEQ ID NO: 6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR1 (SEQ ID NO: 1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VH CDR2 (SEQ ID NO: 2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258) và VL CDR1 (SEQ ID NO: 4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255); VH CDR1 (SEQ ID NO: 1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VH CDR2 (SEQ ID NO: 2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258) và VL CDR2 (SEQ ID NO: 5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256); VH CDR1 (SEQ ID NO: : 1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168,

169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VH CDR2 (SEQ ID NO: 2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258) và VL CDR3 (SEQ ID NO: 6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR2 (SEQ ID NO: 2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VH CDR3 (SEQ ID NO: 3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254) và VL CDR1 (SEQ ID NO: 4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255), VH CDR2 (SEQ ID NO: 2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VH CDR3 (SEQ ID NO: 3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254) và VL CDR2 (SEQ ID NO: 5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256); VH CDR2 (SEQ ID NO: 2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VH CDR3 (SEQ ID NO: 3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254) và VL CDR3 (SEQ ID NO: 6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR1 (SEQ ID NO: 1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252.), VL CDR1 (SEQ ID NO: 4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và

255) và VL CDR2 (SEQ ID NO: 5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256); VH CDR1 (SEQ ID NO:1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VL CDR1 (SEQ ID NO: 4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255) và VL CDR3 (SEQ ID NO: 6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR1 (SEQ ID NO: 1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VL CDR2 (SEQ ID NO: 5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256) và VL CDR3 (SEQ ID NO: 6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR2 (SEQ ID NO: 2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VL CDR1 (SEQ ID NO: 4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255) và VL CDR2 (SEQ ID NO: 5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256); VH CDR2 (SEQ ID NO: 2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VL CDR1 (SEQ ID NO: 4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255) và VL CDR3 (SEQ ID NO: 6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR2 (SEQ ID NO: 2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và

258), VL CDR2 (SEQ ID NO: 5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256) và VL CDR3 (SEQ ID NO: 6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR3 (SEQ ID NO: 3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254), VL CDR1 (SEQ ID NO: 4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255) và VL CDR2 (SEQ ID NO: 5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256); VH CDR3 (SEQ ID NO: 3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254), VL CDR1 (SEQ ID NO: 4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255) và VL CDR3 (SEQ ID NO: 6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR3 (SEQ ID NO: 3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254), VL CDR2 (SEQ ID NO:5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256) và VL CDR3 (SEQ ID NO:6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR1 (SEQ ID NO: 1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VH CDR2 (SEQ ID NO: 2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VH CDR3 (SEQ ID NO: 3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254) và VL CDR1 (SEQ ID NO: 4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177,

186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255); VH CDR1 (SEQ ID NO:1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VH CDR2 (SEQ ID NO: 2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VH CDR3 (SEQ ID NO: 3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254) và VL CDR2 (SEQ ID NO: 5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256); VH CDR1 (SEQ ID NO:1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VH CDR2 (SEQ ID NO: 2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VH CDR3 (SEQ ID NO:3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254), và VL CDR3 (SEQ ID NO:6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR1 (SEQ ID NO:1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VH CDR2 (SEQ ID NO:2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VL CDR1 (SEQ ID NO:4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255) và VL CDR2 (SEQ ID NO:5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256); VH CDR1 (SEQ ID NO:1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200,

209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VH CDR2 (SEQ ID NO:2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VL CDR1 (SEQ ID NO:4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255) và VL CDR3 (SEQ ID NO:6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR1 (SEQ ID NO:1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VH CDR2 (SEQ ID NO:2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VL CDR2 (SEQ ID NO:5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256) và VL CDR3 (SEQ ID NO:6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR1 (SEQ ID NO:1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VH CDR3 (SEQ ID NO:3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254), VL CDR1 (SEQ ID NO:4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255) và VL CDR2 (SEQ ID NO:5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256); VH CDR1 (SEQ ID NO:1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VH CDR3 (SEQ ID NO:3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254), VL CDR1 (SEQ ID NO:4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120,

125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255) và VL CDR3 (SEQ ID NO: 6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR1 (SEQ ID NO:1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VH CDR3 (SEQ ID NO:3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254), VL CDR2 (SEQ ID NO:5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256) và VL CDR3 (SEQ ID NO:6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR2 (SEQ ID NO:2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VH CDR3 (SEQ ID NO:3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254), VL CDR1 (SEQ ID NO:4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255) và VL CDR2 (SEQ ID NO:5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256); VH CDR2 (SEQ ID NO:2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VH CDR3 (SEQ ID NO:3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254), VL CDR1 (SEQ ID NO:4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255); VH CDR2 (SEQ ID NO:2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VH CDR3 (SEQ ID NO:3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107,

113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254), VL CDR2 (SEQ ID NO:5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256) và VL CDR3 (SEQ ID NO:6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR1 (SEQ ID NO:1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VH CDR2 (SEQ ID NO:2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VH CDR3 (SEQ ID NO:3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254), VL CDR1 (SEQ ID NO:4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255) và VL CDR2 (SEQ ID NO:5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256); VH CDR1 (SEQ ID NO:1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VH CDR2 (SEQ ID NO:2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VH CDR3 (SEQ ID NO:3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254), VL CDR1 (SEQ ID NO:4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255) và VL CDR3 (SEQ ID NO:6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR1 (SEQ ID NO:1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VH CDR2 (SEQ ID NO:2, 8, 14, 19, 24, 28,

34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VH CDR3 (SEQ ID NO:3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254), VL CDR2 (SEQ ID NO:5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256) và VL CDR3 (SEQ ID NO:6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR1 (SEQ ID NO:1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VH CDR2 (SEQ ID NO:2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132, 138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VL CDR1 (SEQ ID NO:4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255), VL CDR2 (SEQ ID NO:5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256), và VL CDR3 (SEQ ID NO:6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR1 (SEQ ID NO:1, 7, 12, 13, 18, 27, 33, 38, 39, 44, 53, 59, 64, 65, 70, 79, 85, 90, 91, 96, 105, 111, 116, 117, 122, 131, 137, 142, 143, 148, 157, 163, 168, 169, 174, 183, 189, 194, 195, 200, 209, 215, 220, 221, 226, 235, 241, 246, 247, và 252), VH CDR3 (SEQ ID NO:3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254), VL CDR1 (SEQ ID NO:4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255), VL CDR2 (SEQ ID NO:5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256), và VL CDR3 (SEQ ID NO:6, 17, 23, 32, 43, 49, 58, 69, 75, 84, 95, 101, 110, 121, 127, 136, 147, 153, 162, 173, 179, 188, 199, 205, 214, 225, 231, 240, 251, và 257); VH CDR2 (SEQ ID NO:2, 8, 14, 19, 24, 28, 34, 40, 45, 50, 54, 60, 66, 71, 76, 80, 86, 92, 97, 102, 106, 112, 118, 123, 128, 132,

138, 144, 149, 154, 158, 164, 170, 175, 180, 184, 190, 196, 201, 206, 210, 216, 222, 227, 232, 236, 242, 248, 253, và 258), VH CDR3 (SEQ ID NO:3, 9, 15, 20, 29, 35, 41, 46, 55, 61, 67, 72, 81, 87, 93, 98, 107, 113, 119, 124, 133, 139, 145, 150, 159, 165, 171, 176, 185, 191, 197, 202, 211, 217, 223, 228, 237, 243, 249, và 254), VL CDR1 (SEQ ID NO:4, 10, 16, 21, 30, 36, 42, 47, 56, 62, 68, 73, 82, 88, 94, 99, 108, 114, 120, 125, 134, 140, 146, 151, 160, 166, 172, 177, 186, 192, 198, 203, 212, 218, 224, 229, 238, 244, 250, và 255), VL CDR2 (SEQ ID NO:5, 11, 22, 31, 37, 48, 57, 63, 74, 83, 89, 100, 109, 115, 126, 135, 141, 152, 161, 167, 178, 187, 193, 204, 213, 219, 230, 239, 245, và 256) hoặc tổ hợp bất kỳ của VH CDR và VL CDR được nêu trong các bảng 1-10.

Theo khía cạnh khác nữa, CDR bộc lộ trong bản mô tả này bao gồm trình tự liên ứng có nguồn gốc từ các nhóm kháng thể có liên quan (xem, ví dụ, bảng 1-10). Như được mô tả trong bản mô tả này, "trình tự liên ứng" đề cập đến trình tự axit amin có axit amin bảo toàn phổ biến trong số các trình tự và axit amin biến đổi mà thay đổi trong các trình tự axit min đã nêu. Trình tự liên ứng CDR đề xuất bao gồm các CDR tương ứng với CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 và/hoặc CDRL3. Trình tự liên ứng của CDR của kháng thể kháng beta klotho được thể hiện trên Fig. 2.

Theo một số phương án nhất định, kháng thể hoặc mảnh kháng thể được mô tả trong bản mô tả này bao gồm vùng VH bao gồm: (1) VH FR1 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 278, 279, 280 và 378; (2) VH FR2 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 281, 282, và 283; (3) VH FR3 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 284, 285, 286, 287 và 379-381; và/hoặc (4) VH FR4 có axit amin của SEQ ID NO: 288. Do đó, theo một số khía cạnh, kháng thể được nhân hóa chứa vùng VH gồm có VH FR1 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 278, 279, 280 và 378. Theo một số khía cạnh, kháng thể được nhân hóa chứa vùng VH bao gồm VH FR2 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 281, 282, và 283. Theo một số khía cạnh, kháng thể được nhân hóa chứa vùng VH bao gồm VH FR3 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 284, 285, 286, 287 và 379-381. Theo một số khía cạnh, kháng thể được nhân hóa chứa vùng VH bao gồm VH FR4 có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 288.

Theo một số phương án nhất định, kháng thể hoặc mảnh kháng thể được mô tả trong bản mô tả này bao gồm vùng VL bao gồm: (1) VL FR1 có trình tự axit amin

được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 289, 290 và 382-384; (2) VL FR2 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 291, 292 và 385-392; (3) VL FR3 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 293, 294, 295 và 393-404; và/hoặc (4) VL FR4 có axit amin của SEQ ID NO: 296 và 405-407. Do đó, theo một số khía cạnh, kháng thể được nhân hóa chứa vùng VL bao gồm VL FR1 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 289, 290 và 382-384. Theo một số khía cạnh, kháng thể được nhân hóa chứa vùng VL bao gồm VL FR2 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 291, 292 và 385-392. Theo một số khía cạnh, kháng thể được nhân hóa chứa vùng VL bao gồm VL FR3 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 293, 294, 295 và 393-404. Theo một số khía cạnh, kháng thể được nhân hóa chứa vùng VL bao gồm VL FR4 có axit amin của SEQ ID NO: 296 và 405-407.

Theo một số phương án nhất định, kháng thể hoặc mảnh kháng thể được mô tả trong bản mô tả này chứa vùng VH và VL, trong đó vùng VH còn bao gồm: (1) VH FR1 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 278, 279, 280 và 378; (2) VH FR2 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 281, 282, và 283; (3) VH FR3 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 284, 285, 286, 287 và 379-381; và/hoặc (4) VH FR4 có trình tự axit amin của SEQ ID NO: 288; và trong đó vùng VL còn bao gồm: (1) VL FR1 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 289, 290 và 382-384; (2) VL FR2 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 291, 292 và 385-392; (3) VL FR3 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 293, 294, 295 và 393-404; và/hoặc (4) VL FR4 có axit amin của SEQ ID NO: 296 và 405-407.

Cũng được đề xuất trong bản mô tả này là các kháng thể chứa một hoặc nhiều (ví dụ, một, hai, ba hoặc bốn) VH FR và một hoặc nhiều VL FR nêu trong bảng 19. Cụ thể, nêu trong bản mô tả này là kháng thể chứa VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378) và VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283) và VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283) và VL FR3 (SEQ ID

NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381) và VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283) và VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381) và VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-

404); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381) và VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288) và VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407);

VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288) và VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288) và VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và

378), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và

379-381), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291,

292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288) và VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288) và VL FR4

(SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL

FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và

385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL

FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404), và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID

NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381),

VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281,

282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR1 (SEQ ID NO:278, 279, 280 và 378), VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); VH FR2 (SEQ ID NO:281, 282, và 283), VH FR3 (SEQ ID NO:284, 285, 286, 287 và 379-381), VH FR4 (SEQ ID NO:288), VL FR1 (SEQ ID NO:289, 290 và 382-384), VL FR2 (SEQ ID NO:291, 292 và 385-392), VL FR3 (SEQ ID NO:293, 294, 295 và 393-404) và VL FR4 (SEQ ID NO:296 và 405-407); hoặc tổ hợp bất kỳ của VH FR (SEQ ID NO: 278, 279, 280, 378, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 379-381 và 288) và VL FR (SEQ ID NO: 289, 290, 382-384, 291, 292, 385-392, 293, 294, 295, 393-404, 296, 405-407) nêu trong bảng 19.

Theo khía cạnh khác nữa, kháng thể được nêu cạnh tranh với một trong số các kháng thể được lấy làm ví dụ hoặc các mảnh chức năng để gắn kết với (i) beta klotho

hoặc (ii) phức hợp chứa beta klotho và một trong số FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c, và FGFR4. Các kháng thể này cũng có thể gắn kết với cùng epitop như một trong số các kháng thể được lấy làm ví dụ trong bản mô tả này, hoặc epitop chồng lắp. Các kháng thể và mảnh cạnh tranh với hoặc gắn kết với cùng epitop như các kháng thể được lấy làm ví dụ được mong đợi là thể hiện các đặc điểm chức năng giống nhau. Protein gắn kết kháng nguyên và mảnh được lấy làm ví dụ bao gồm protein có vùng VH và VL, và CDR nêu trong bản mô tả này, bao gồm các các vùng nêu trong các bảng 1-10. Do đó, trong ví dụ cụ thể, kháng thể được nêu bao gồm kháng thể cạnh tranh với kháng thể gồm: (a) 1, 2, 3, 4, 5 hoặc tất cả 6 CDR được liệt kê đối với các kháng thể nêu trong các bảng 1-10; (b) VH và VL được chọn từ vùng VH và VL liệt kê đối với kháng thể nêu trong các bảng 1-10, như đối với kháng thể 5H23 (bảng 1) hoặc (c) hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng bao gồm VH và VL như được xác định đối với kháng thể nêu trong các bảng 1-10.

Theo khía cạnh khác hơn nữa, kháng thể được đề xuất trong bản mô tả này gắn kết với vùng, bao gồm epitop, của beta klotho của người hoặc beta klotho của khỉ cyno. Ví dụ, theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này gắn kết với miền KLB2 của beta klotho của người chứa các gốc axit amin 509 đến 1044 của SEQ ID NO:297. Trong ví dụ khác, theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này gắn kết với vùng glycosyl hydrolaza 1 của miền KLB2 của beta klotho của người chứa các gốc axit amin 517 đến 967 của SEQ ID NO:297. Trong ví dụ khác nữa, theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này gắn kết với vùng beta klotho của người chứa các gốc axit amin 657 đến 703 của SEQ ID NO:297. Trong ví dụ khác nữa, theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này gắn kết với vùng beta klotho của khỉ cyno chứa các gốc axit amin 657 đến 703 của SEQ ID NO:299.

Theo một khía cạnh khác, kháng thể được đề xuất trong bản mô tả này gắn kết với epitop đặc hiệu của beta klotho của người. Ví dụ, theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này gắn kết epitop của beta klotho của người chứa ít nhất một trong số các gốc axit amin 657, 701 và/hoặc 703 của beta klotho của người (SEQ ID NO: 297). Do đó, theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này gắn kết với epitop của beta klotho của người, trong đó epitop của beta klotho của người này bao gồm ít nhất gốc axit amin 657 của SEQ ID NO: 297. Theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này gắn kết với epitop của beta klotho của người, trong đó epitop của beta klotho của người này bao gồm ít nhất gốc axit amin 701 của SEQ

ID NO: 297. Theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này gắn kết với epitop của beta klotho của người, trong đó epitop của beta klotho của người này bao gồm ít nhất gốc axit amin 703 của SEQ ID NO: 297. Theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này gắn kết với epitop của beta klotho của người, trong đó epitop của beta klotho của người này bao gồm ít nhất các gốc axit amin 657 và 701 của SEQ ID NO: 297. Theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này gắn kết với epitop của beta klotho của người, trong đó epitop của beta klotho của người này bao gồm ít nhất các gốc axit amin 657 và 703 của SEQ ID NO: 297. Theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này gắn kết với epitop của beta klotho của người, trong đó epitop của beta klotho của người này bao gồm ít nhất các gốc axit amin 701 và 703 của SEQ ID NO: 297. Theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này gắn kết với epitop của beta klotho của người, trong đó epitop của beta klotho của người này bao gồm ít nhất các gốc axit amin 657, 701 và 703 của SEQ ID NO: 297. Các kháng thể nêu trên có thể, theo một số phương án, cảm ứng việc truyền tín hiệu giống FGF19 và/hoặc truyền tín hiệu giống FGF21 trong tế bào biểu hiện beta klotho của người và thụ thể FGF. Ngoài ra, theo một số phương án, kháng thể này là kháng thể được nhân hóa, kháng thể người hoặc kháng thể khảm.

1. Kháng thể đa dòng

Kháng thể theo sáng chế có thể bao gồm kháng thể đa dòng. Phương pháp điều chế kháng thể đa dòng là đã được biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này. Kháng thể đa dòng có thể được sản sinh trong động vật có vú, ví dụ, bằng cách tiêm một hoặc nhiều lần chất tạo miễn dịch và, nếu muốn, chất bổ trợ. Thông thường, chất tạo miễn dịch và/hoặc chất bổ trợ sẽ được tiêm vào động vật có vú bằng cách tiêm nhiều lần dưới da hoặc trong màng bụng. Chất tạo miễn dịch có thể bao gồm polypeptit beta klotho hoặc protein dung hợp của nó. Có thể hữu ích khi cho chất tạo miễn dịch liên hợp với protein đã biết là tạo miễn dịch trong động vật có vú được tạo miễn dịch hoặc khi tạo miễn dịch cho động vật có vú bằng protein và một hoặc nhiều chất bổ trợ. Các ví dụ về protein tạo miễn dịch này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, hemoxyanin hà (keyhole limpet hemocyanin), albumin huyết thanh, thyroglobulin bò, và chất ức chế trypsin đậu tương. Các ví dụ về chất bổ trợ có thể được sử dụng bao gồm Ribi, CpG, Poly 1C, chất bổ trợ Freund đầy đủ và chất bổ trợ MPL-TDM (monophosphoryl Lipit A, trehaloza dicorynomycolat tổng hợp). Phương pháp tạo miễn dịch có thể được chọn lọc bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực mà

không cần thử nghiệm không thích hợp. Sau đó động vật có vú này có thể được lấy máu, và huyết thanh được thử nghiệm về hiệu giá kháng thể beta klotho. Nếu muốn, động vật có vú có thể được dùng liều tăng cường cho đến khi hiệu giá kháng thể tăng lên hoặc ổn định. Ngoài ra hoặc theo cách khác, có thể thu được các lympho bào từ động vật được tạo miễn dịch để dung hợp và điều chế kháng thể đơn dòng từ tế bào lai như được mô tả dưới đây.

2. Kháng thể đơn dòng

Theo cách khác, kháng thể theo sáng chế có thể là kháng thể đơn dòng. Kháng thể đơn dòng có thể được tạo ra bằng cách sử dụng phương pháp lai tế bào đầu tiên được mô tả trong Kohler *et al.,* Nature, 256:495 (1975), hoặc có thể được tạo ra bằng phương pháp ADN tái tổ hợp (xem, ví dụ, Patent Mỹ số 4,816,567).

Trong phương pháp lai tế bào, chuột nhắt hoặc động vật chủ thích hợp khác, như chuột túi má, được tạo miễn dịch như được mô tả ở trên để tạo ra lympho bào sản sinh hoặc có khả năng sản sinh kháng thể gắn kết đặc hiệu với protein được sử dụng để tạo miễn dịch. Theo cách khác, lympho bào có thể được tạo miễn dịch *in vitro*. Sau khi tạo miễn dịch, các lympho bào được phân lập và sau đó được dung hợp với dòng tế bào u tủy bằng cách sử dụng tác nhân dung hợp thích hợp, như polyetylen glycol, để tạo ra tế bào lai (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, trang 59-103 (Academic Press, 1986)).

Do đó, các tế bào lai đã được tạo ra được nuôi cấy và sinh trưởng trong môi trường nuôi cấy thích hợp, môi trường này tốt hơn là chứa một hoặc nhiều chất ức chế sự sinh trưởng hoặc sống sót của tế bào u tủy ban đầu (còn được gọi là thành phần dung hợp) không được dung hợp. Ví dụ, nếu các tế bào u tủy ban đầu thiếu enzym hypoxanthin guanin phosphoribosyl transferaza (HGPRT hoặc HPRT), thì môi trường nuôi cấy chọn lọc đối với các tế bào lai thường bao gồm hypoxanthin, aminopterin, và thymidin (môi trường HAT), các chất này ngăn chặn sự sinh trưởng của các tế bào thiếu hụt HGPRT.

Tế bào u tủy dung hợp được ưu tiên là tế bào dung hợp một cách có hiệu quả, hỗ trợ việc sản sinh kháng thể ổn định ở mức độ cao bởi các tế bào sản sinh kháng thể được chọn, và nhạy với môi trường chọn lọc mà chọn lọc dựa vào các tế bào không được dung hợp ban đầu. Dòng tế bào u tủy được ưu tiên là dòng u tủy ở chuột, như SP-2 và các dẫn xuất, ví dụ, tế bào X63-Ag8-653 khả dụng từ Trung tâm lưu giữ giống

chuẩn Hoa Kỳ (American Type Culture Collection, Manassas, Virginia, USA) và các tế bào có nguồn gốc từ khối u chuột nhắt MOPC-21 và MPC-11 khả dụng từ Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California USA. Dòng tế bào u tủy người và dòng tế bào u tủy dị tính chuột nhắt-người cũng được mô tả đối với quá trình sản sinh kháng thể đơn dòng người (Kozbor, J., *Immunol.*, 133:3001 (1984); và Brodeur *et al.*, *Monoclonal Production Techniques and Applications*, trang 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)).

Môi trường nuôi cấy trong đó các tế bào lai đang sinh trưởng được thử nghiệm về quá trình sản sinh kháng thể đơn dòng được định hướng dựa trên kháng nguyên. Độ đặc hiệu gắn kết của kháng thể đơn dòng được sản sinh bởi các tế bào lai được xác định bằng cách kết tủa miễn dịch hoặc bằng thử nghiệm gắn kết *in vitro*, như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA) hoặc thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzym (ELISA). Ái lực gắn kết của kháng thể đơn dòng có thể, ví dụ, được xác định bằng kỹ thuật phân tích Scatchard được mô tả trong Munson *et al.*, *Anal. Biochem.*, 107:220 (1980).

Một khi tế bào lai sản sinh kháng thể có độ đặc hiệu, ái lực, và/hoặc hoạt tính mong muốn được nhận biết, các dòng vô tính có thể được tái tạo dòng bằng các quy trình pha loãng giới hạn và sinh trưởng bằng các phương pháp chuẩn (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, trang 59-103 (Academic Press, 1986)). Môi trường nuôi cấy thích hợp cho mục đích này bao gồm, ví dụ, môi trường D-MEM hoặc RPMI-1640. Ngoài ra, các tế bào lai có thể được sinh trưởng *in vivo* như khối u cổ trướng ở động vật, ví dụ, bằng cách tiêm các tế bào qua đường i.p. vào chuột nhắt.

Kháng thể đơn dòng được tiết ra bởi dòng tái tạo được tách một cách thích hợp khỏi môi trường nuôi cấy, dịch cổ trướng, hoặc huyết thanh bằng quy trình tinh chế kháng thể thông thường như, ví dụ, sắc ký ái lực (ví dụ, sử dụng protein A hoặc protein G-Sepharoza) hoặc sắc ký trao đổi ion, sắc ký hydroxylapatit, điện di gel, thẩm tách, v.v..

ADN mã hóa kháng thể đơn dòng dễ dàng được phân lập và giải trình tự bằng cách sử dụng các quy trình thông thường (ví dụ, bằng cách sử dụng đoạn dò oligonucleotit có khả năng gắn kết đặc hiệu với các gen mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể chuột). Các tế bào lai nhằm làm nguồn được ưu tiên của ADN này. Một khi được phân lập, ADN này có thể được đặt vào vectơ biểu hiện, sau đó được

chuyển nhiễm vào tế bào vật chủ như tế bào *E. coli*, tế bào COS khỉ, tế bào buồng trứng chuột túi má Trung Quốc (CHO), hoặc tế bào u tủy mà theo một cách khác không sản sinh protein kháng thể, để có được sự tổng hợp kháng thể đơn dòng trong tế bào vật chủ tái tổ hợp. Các tài liệu nhận xét về sự biểu hiện tái tổ hợp trong vi khuẩn của ADN mã hóa kháng thể bao gồm Skerra *et al.*, *Curr. Opinion in Immunol.*, 5:256-262 (1993) và Plückthun, *Immunol. Revs.* 130:151-188 (1992).

Theo một số phương án, kháng thể gắn kết epitop beta klotho bao gồm trình tự axit amin của miền VH và/hoặc trình tự axit amin của miền VL được mã hóa bởi trình tự nucleotit lai với (1) thể bổ trợ của trình tự nucleotit mã hóa miền bất kỳ trong số miền VH và/hoặc miền VL được mô tả trong bản mô tả này trong các điều kiện nghiêm ngặt (ví dụ, lai với ADN liên kết với bộ lọc trong 6x natri clorua/natri xitrat (SSC) ở nhiệt độ khoảng 45°C sau đó rửa một hoặc nhiều lần trong 0,2xSSC/0,1% SDS ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50 đến 65°C) trong các điều kiện nghiêm ngặt cao (ví dụ, lai với axit nucleic liên kết với bộ lọc trong 6xSSC ở nhiệt độ khoảng 45°C sau đó rửa một hoặc nhiều lần trong 0,1xSSC/0,2% SDS ở nhiệt độ khoảng 68°C), hoặc trong các điều kiện lai nghiêm ngặt khác mà đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này (xem, ví dụ, Ausubel, F.M. *et al.*, eds., 1989, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. I, Green Publishing Associates, Inc. và John Wiley & Sons, Inc., New York ở trang 6.3.1-6.3.6 và 2.10.3).

Theo một số phương án, kháng thể gắn kết epitop beta klotho bao gồm trình tự axit amin của CDR VH hoặc trình tự axit amin của CDR VL được mã hóa bởi trình tự nucleotit lai với thể bổ trợ của trình tự nucleotit mã hóa bất kỳ trong số CDR VH và/hoặc CDR VL được mô tả trong các Bảng 1-10 trong các điều kiện nghiêm ngặt (ví dụ, lai với ADN liên kết với bộ lọc trong 6X SSC ở nhiệt độ khoảng 45°C sau đó rửa một hoặc nhiều lần trong 0,2X SSC/0,1% SDS ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50 đến 65°C), trong các điều kiện nghiêm ngặt cao (ví dụ, lai với axit nucleic liên kết với bộ lọc trong 6X SSC ở nhiệt độ khoảng 45°C sau đó rửa một hoặc nhiều lần trong 0,1X SSC/0,2% SDS ở nhiệt độ khoảng 68°C), hoặc trong các điều kiện lai nghiêm ngặt khác đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này (xem, ví dụ, Ausubel, F.M. *et al.*, eds., 1989, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. I, Green Publishing Associates, Inc. và John Wiley & Sons, Inc., New York ở trang 6.3.1-6.3.6 và 2.10.3)

Theo một phương án khác, kháng thể đơn dòng hoặc mảnh kháng thể có thể được phân lập từ thư viện thực khuẩn thể của kháng thể được tạo ra bằng cách sử dụng các kỹ thuật được mô tả trong, ví dụ, *Antibody Phage Display: Methods and Protocols*, P.M. O'Brien and R. Aitken, eds, Humana Press, Totawa N.J., 2002. Về mặt nguyên tắc, dòng kháng thể tổng hợp được chọn lọc bằng cách sàng lọc thư viện thực khuẩn thể chứa thực khuẩn thể biểu hiện các mảnh khác nhau của vùng biến đổi kháng thể (Fv) được dung hợp với protein vỏ thực khuẩn thể. Các thư viện thực khuẩn thể này được sàng lọc để kháng kháng nguyên mong muốn. Các dòng vô tính biểu hiện mảnh Fv có khả năng gắn kết với kháng nguyên mong muốn được hấp phụ lên kháng nguyên và do đó được tách khỏi các dòng vô tính không gắn kết trong thư viện. Các dòng vô tính gắn kết sau đó được giải hấp từ kháng nguyên, và có thể còn được làm giàu bằng các chu kỳ hấp phụ/giải hấp kháng nguyên bổ sung.

Miền biến đổi có thể được biểu hiện về mặt chức năng trên thực khuẩn thể, dưới dạng mảnh Fv chuỗi đơn (scFv), trong đó VH và VL được liên kết cộng hóa trị thông qua peptit ngắn linh hoạt, hoặc dưới dạng mảnh Fab, trong đó mỗi miền trong số chúng được dung hợp với miền hằng định (miền ổn định) và tương tác không cộng hóa trị, như được mô tả, ví dụ, trong Winter *et al.*, *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994).

Kho gen VH và VL có thể được tách dòng riêng rẽ bằng phản ứng chuỗi sử dụng polymeraza (PCR) và được tái tổ hợp ngẫu nhiên trong các thư viện thực khuẩn thể, sau đó có thể được tìm dòng vô tính gắn kết kháng nguyên như được mô tả trong Winter *et al.*, trên đây. Các thư viện từ nguồn được tạo miễn dịch tạo ra kháng thể ái lực cao với chất kháng nguyên mà không cần phải tạo cấu trúc tế bào lai. Theo cách khác, kho chưa tiếp xúc kháng nguyên có thể được tách dòng để tạo ra nguồn kháng thể người đơn lẻ đối với phạm vi rộng kháng nguyên không tự thân và cả kháng nguyên tự thân mà không tạo ra miễn dịch bất kỳ như được mô tả trong Griffiths *et al.*, *EMBO J*, 12: 725-734 (1993). Cuối cùng, các thư viện chưa tiếp xúc kháng nguyên còn có thể được tạo ra theo phương pháp tổng hợp bằng cách tách dòng các đoạn gen V chưa tái sắp xếp từ tế bào gốc, và sử dụng mồi PCR chứa trình tự ngẫu nhiên để mã hóa vùng CDR3 biến đổi ở mức độ cao và để hoàn thành việc tái sắp xếp *in vitro* như được mô tả, ví dụ, trong Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992).

Quá trình sàng lọc các thư viện có thể được hoàn thành bằng các kỹ thuật khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, beta klotho, (ví dụ, polypeptit beta klotho, mảnh hoặc epitop) có thể được sử dụng để phủ các lỗ của đĩa hấp phụ, được

biểu hiện trên các tế bào chủ được cố định vào đĩa hấp phụ hoặc được sử dụng để phân loại tế bào, hoặc được liên hợp với biotin để bắt bằng chuỗi hạt được phủ streptavidin, hoặc được sử dụng trong phương pháp bất kỳ khác để sàng lọc các thư viện biểu hiện. Việc chọn lọc kháng thể có động học phân ly chậm (ví dụ, ái lực gắn kết tốt) có thể được thúc đẩy bằng cách sử dụng kỹ thuật rửa lâu và biểu hiện thực khuẩn thể hóa trị một như được mô tả trong Bass *et al.*, *Proteins*, 8: 309-314 (1990) và trong WO 92/09690, và mật độ phủ kháng nguyên thấp như được mô tả trong Marks *et al.*, *Biotechnol.*, 10: 779-783 (1992).

Kháng thể kháng beta klotho có thể thu được bằng cách thiết kế quy trình sàng lọc kháng nguyên thích hợp để chọn lọc dòng vô tính thực khuẩn thể đang nghiên cứu sau đó tạo cấu trúc dòng vô tính của kháng thể kháng beta klotho có chiều dài đầy đủ bằng cách sử dụng trình tự VH và/hoặc VL (ví dụ, mảnh Fv), hoặc các trình tự CDR khác nhau từ trình tự VH và VL, từ dòng vô tính thực khuẩn thể đang nghiên cứu và các trình tự vùng hằng định (ví dụ, Fc) thích hợp được mô tả trong Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3.

3. Mảnh kháng thể

Sáng chế đề xuất kháng thể và mảnh kháng thể gắn kết với beta klotho. Trong một số trường hợp, có ưu điểm khi sử dụng mảnh kháng thể, thay vì toàn bộ kháng thể. Kích cỡ mảnh nhỏ hơn cho phép thanh thải nhanh, và có thể dẫn đến việc cải thiện sự xâm nhập vào tế bào, mô hoặc cơ quan. Để hiểu kỹ hơn về một số mảnh kháng thể, xem Hudson *et al.* (2003) *Nat. Med.* 9:129-134.

Các kỹ thuật khác nhau đã được phát triển để sản xuất mảnh kháng thể. Thông thường, các mảnh này thu được bằng cách phân hủy protein phân giải các kháng thể nguyên vẹn (xem, ví dụ, Morimoto *et al.*, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 24:107-117 (1992); và Brennan *et al.*, *Science*, 229:81 (1985)). Tuy nhiên, các mảnh này có thể được sản sinh trực tiếp từ các tế bào chủ tái tổ hợp. Tất cả các mảnh kháng thể Fab, Fv và ScFv đều có thể được biểu hiện trong và được tiết ra từ tế bào *E. coli* hoặc tế bào nấm men, từ đó cho phép dễ dàng sản sinh ra một lượng lớn các mảnh này. Mảnh kháng thể có thể được phân lập từ thư viện thực khuẩn thể của kháng thể nêu trên. Theo cách khác, mảnh Fab'-SH có thể được thu hồi trực tiếp từ *E. coli* và được liên hợp hóa học để tạo ra mảnh $F(ab')_2$ (Carter *et al.*, *Bio/Technology* 10:163-167 (1992)). Theo một phương pháp khác, mảnh $F(ab')_2$ có thể được phân lập

trực tiếp từ môi trường nuôi cấy tế bào chủ tái tổ hợp. Mảnh Fab và $F(ab')_2$ có chu kỳ bán rã *in vivo* tăng lên bao gồm gốc epitop gắn kết thụ thể cứu chữa được mô tả, ví dụ, Patent Mỹ số 5,869,046. Các kỹ thuật khác để sản xuất mảnh kháng thể sẽ rõ ràng đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này. Theo một số phương án nhất định, kháng thể là mảnh Fv chuỗi đơn (scFv) (xem, ví dụ, WO 93/16185; Patent Mỹ số 5,571,894; và 5,587,458). Fv và scFv có các vị trí kết hợp nguyên vẹn mà không có vùng hằng định; do đó, chúng có thể thích hợp để làm giảm gắn kết không đặc hiệu trong khi sử dụng *in vivo*. Protein dung hợp scFv có thể được tạo cấu trúc để thu được sự dung hợp của protein tác động ở đầu tận cùng amino hoặc đầu tận cùng carboxy của scFv. (xem, ví dụ, Antibody Engineering, ed. Borrebaeck, trên đây*)*. Mảnh kháng thể còn có thể là "kháng thể mạch thẳng", ví dụ, như được mô tả, ví dụ, trong các tài liệu tham khảo được trích dẫn trên đây. Các kháng thể mạch thẳng này có thể là một đặc hiệu hoặc nhiều đặc hiệu, như hai đặc hiệu.

Cấu trúc gắn kết có nguồn gốc từ kháng thể nhỏ hơn là các miền biến đổi riêng rẽ (miền V) còn được gọi là kháng thể miền biến đổi đơn (SdAb). Một số loại sinh vật nhất định, lạc đà và cá sụn, có miền giống V đơn lẻ có ái lực cao được bố trí trên cấu trúc miền tương đương Fc như một phần hệ miễn dịch của chúng. (Woolven *et al.*, *Immunogenetics* 50: 98-101, 1999; Streltsov *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA.* 101:12444-12449, 2004). Miền giống V (được gọi là VhH ở lạc đà và V-NAR ở cá mập) thường biểu hiện các vòng bề mặt dài, cho phép thâm nhập vào các khoang chứa kháng nguyên đích. Chúng cũng làm ổn định miền VH được phân lập bằng cách giấu đi các mảnh vá trên bề mặt kỵ nước.

Các miền VhH và V-NAR này được sử dụng để thao tác sdAb. Các biến thể miền V của người được thiết kế bằng cách sử dụng kỹ thuật chọn lọc từ các thư viện thực khuẩn thể và các phương pháp khác để thu được miền có nguồn gốc từ VL và VH gắn kết ổn định ở mức độ cao.

Kháng thể gắn kết với beta klotho như nêu trong bản mô tả này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, kháng thể tổng hợp, kháng thể đơn dòng, kháng thể được tạo ra bằng phương pháp tái tổ hợp, kháng thể đa đặc hiệu (bao gồm kháng thể hai đặc hiệu), kháng thể người, kháng thể được nhân hóa, kháng thể được làm tương thích với lạc đà, kháng thể khảm, kháng thể nội bào, kháng thể kháng idiotyp (kháng Id), và các mảnh chức năng, (ví dụ, mảnh gắn kết beta klotho) của kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể nêu trên. Ví dụ không giới hạn về các mảnh chức năng (ví dụ, mảnh gắn kết

với beta klotho) bao gồm Fv chuỗi đơn (scFv) (ví dụ, bao gồm một đặc hiệu, hai đặc hiệu, v.v..), mảnh Fab, mảnh F(ab'), mảnh F(ab)2, mảnh F(ab')2, Fv liên kết disulfua (sdFv), mảnh Fd, mảnh Fv, kháng thể thể hai, kháng thể thể ba, kháng thể thể bốn và kháng thể nhỏ.

Kháng thể được đề xuất trong bản mô tả này, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phân tử globulin miễn dịch và các phần có hoạt tính miễn dịch của phân tử globulin miễn dịch, ví dụ, phân tử chứa vị trí gắn kết kháng nguyên mà gắn kết với epitop beta klotho. Phân tử globulin miễn dịch đề xuất trong bản mô tả này có thể là loại bất kỳ (ví dụ, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA và IgY), nhóm bất kỳ (ví dụ, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 và IgA2) hoặc phân nhóm bất kỳ của phân tử globulin miễn dịch.

Các biến thể và dẫn xuất của kháng thể bao gồm các mảnh kháng thể chức năng giữ được khả năng gắn kết với epitop beta klotho. Các mảnh chức năng được lấy làm ví dụ bao gồm các mảnh Fab (ví dụ, mảnh kháng thể chứa miền gắn kết kháng nguyên và bao gồm chuỗi nhẹ và một phần của chuỗi nặng được liên kết bằng liên kết disulfua); Fab' (ví dụ, mảnh kháng thể chứa miền kháng gắn kết đơn gồm Fab và phần bổ sung của chuỗi nặng thông qua vùng bản lề); F(ab')2 (ví dụ, hai phân tử Fab' được liên kết bằng liên kết disulfua giữa các chuỗi trong vùng bản lề của chuỗi nặng; phân tử Fab' có thể hướng về (kháng) các epitop giống hoặc khác nhau); Fab hai đặc hiệu (ví dụ, phân tử Fab có hai miền gắn kết kháng nguyên, mỗi miền có thể được hướng về (kháng) một epitop khác nhau); chuỗi Fab chuỗi đơn chứa vùng biến đổi, còn được biết đến là, sFv (ví dụ, vùng xác định gắn kết kháng nguyên, biến đổi của chuỗi đơn nhẹ và nặng của kháng thể cùng liên kết với nhau bằng chuỗi gồm 10-25 axit amin); Fv liên kết disulfua, hoặc dsFv (ví dụ, vùng xác định gắn kết kháng nguyên, biến đổi của chuỗi đơn nhẹ và nặng cùng liên kết với nhau bằng liên kết disulfua); VH được làm tương thích với lạc đà (ví dụ, vùng xác định gắn kết kháng nguyên, biến đổi của chuỗi đơn nhẹ của kháng thể trong đó một số axit amin ở bề mặt chung VH là các axit amin tìm thấy trong chuỗi nặng của kháng thể lạc đà có trong tự nhiên); sFv hai đặc hiệu (ví dụ, phân tử sFv hoặc phân tử dsFv có hai miền gắn kết kháng nguyên, mỗi miền có thể hướng về một epitop khác nhau); kháng thể thể hai (ví dụ, sFv được dime hóa được tạo ra khi miền VH của sFv thứ nhất lắp ráp với miền VL của sFv thứ hai và miền VL của sFv thứ nhất lắp ráp với miền VH của sFv thứ hai; hai vùng gắn kết kháng nguyên của kháng thể thể hai có thể hướng về các epitop giống hoặc khác nhau); và kháng thể thể ba (ví dụ, sFv được trime hóa, được tạo ra theo cách tương tự với

kháng thể thể hai, nhưng trong đó ba miền gắn kết kháng nguyên được tạo ra trong phức hợp duy nhất; ba miền gắn kết kháng nguyên này có thể hướng về các epitop giống hoặc khác nhau). Các dẫn xuất của kháng thể còn bao gồm một hoặc nhiều trình tự CDR của vị trí kết hợp kháng thể. Các trình tự CDR này có thể được liên kết với nhau trên giá đỡ khi có mặt hai hoặc nhiều trình tự CDR. Theo một số phương án nhất định, kháng thể này bao gồm Fv chuỗi đơn ("scFv"). scFv là mảnh kháng thể bao gồm miền VH và miền VL của kháng thể, trong đó các miền này có mặt trong chuỗi polypeptit đơn lẻ. Polypeptit của scFv còn có thể bao gồm chất liên kết polypeptit giữa miền VH và miền VL mà khiến cho scFv tạo ra cấu trúc mong muốn để gắn kết kháng nguyên. Để hiểu thêm về scFv, xem Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, trang 269-315 (1994).

4. Kháng thể được nhân hóa

Sáng chế đề xuất kháng thể được nhân hóa gắn kết với beta klotho, bao gồm beta klotho của người và/hoặc của khỉ cyno. Kháng thể được nhân hóa theo sáng chế có thể bao gồm một hoặc nhiều CDR như được thể hiện trong các bảng 1-10. Các phương pháp khác nhau để nhân hóa kháng thể không phải của người đã được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, kháng thể được nhân hóa có thể có một hoặc nhiều gốc axit amin được đưa vào nó từ nguồn không phải người. Các gốc axit amin không phải của người này thường được gọi là gốc "nhập", thường được lấy từ miền biến đổi "nhập". Quá trình nhân hóa có thể được thực hiện, ví dụ, theo phương pháp của Winter và các cộng sự (Jones *et al.* (1986) *Nature* 321:522-525; Riechmann *et al.* (1988) *Nature* 332:323-327; Verhoeyen *et al.* (1988) *Science* 239:1534-1536), bằng cách thay thế trình tự vùng siêu biến cho các trình tự tương ứng của kháng thể người.

Trong một số trường hợp, kháng thể được nhân hóa được cấu trúc bằng cách ghép CDR, trong đó trình tự axit amin của sáu vùng quyết định tính bổ trợ (CDR) của kháng thể không phải của người ban đầu (ví dụ, loài gặm nhấm) được ghép lên trên khung của kháng thể người. Ví dụ, Padlan *et al.* (*FASEB J.* 9:133-139, 1995) xác định rằng chỉ có khoảng một phần ba gốc trong CDR thực sự tiếp xúc với kháng nguyên, và chúng được gọi là "gốc xác định tính đặc hiệu," hoặc SDR. Trong kỹ thuật ghép SDR, chỉ có gốc SDR được ghép lên trên khung của kháng thể người (xem, ví dụ, Kashmiri *et al.*, *Methods* 36: 25-34, 2005).

Việc lựa chọn các miền biến đổi của người, cả nhẹ và nặng, để sử dụng để tạo ra kháng thể được nhân hóa có thể là việc quan trọng để làm giảm tính kháng nguyên. Ví dụ, theo phương pháp còn gọi là phương pháp "thích hợp nhất", trình tự của miền biến đổi của kháng thể không phải của người (ví dụ, loài gặm nhấm) được sàng lọc dựa trên toàn bộ thư viện của các trình tự miền biến đổi của người đã biết. Trình tự người giống nhất với trình tự loài gặm nhấm có thể được chọn làm khung của người đối với kháng thể được nhân hóa (Sims *et al.* (1993) *J. Immunol.* 151:2296; Chothia *et al.* (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901. Một phương pháp khác sử dụng khung cụ thể có nguồn gốc từ trình tự liên ứng của tất cả các kháng thể người thuộc phân nhóm chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng cụ thể. Cùng một khung có thể được sử dụng cho một vài kháng thể được nhân hóa khác nhau (Carter *et al.* (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285; Presta *et al.* (1993) *J. Immunol.*, 151:2623. Trong một số trường hợp, khung có nguồn gốc từ trình tự liên ứng của phân nhóm người phong phú nhất, phân nhóm V_L6 I (V_L6I) và phân nhóm V_H III (V_HIII). Trong một phương pháp khác, gen dòng mầm của người được sử dụng làm nguồn tạo vùng khung.

Trong một mô hình thay thế dựa trên việc so sánh giữa các CDR, gọi là siêu nhân tính hóa, độ tương đồng FR là không thích đáng. Phương pháp này bao gồm bước so sánh trình tự không phải của người với kho gen dòng mầm chức năng của người. Các gen mã hóa cấu trúc chính tắc giống hoặc cấu trúc chính tắc liên quan gần nhất với trình tự của chuột này sau đó được chọn. Tiếp theo, trong các gen có chung cấu trúc chính tắc với kháng thể không phải của người, các gen có độ tương đồng trong CDR cao nhất được chọn làm đối tượng cho FR. Cuối cùng, các CDR không phải của người được ghép lên trên các FR này (xem, ví dụ, Tan *et al.*, *J. Immunol.* 169: 1119-1125, 2002).

Nói chung, mong muốn hơn nữa là kháng thể được nhân hóa đồng thời giữ lại ái lực của nó với kháng nguyên và các tính chất sinh học có lợi khác. Để đạt được mục đích này, theo một phương pháp, kháng thể được nhân hóa được điều chế bằng quy trình phân tích các trình tự ban đầu và các sản phẩm được nhân hóa khái niệm khác nhau bằng cách sử dụng mô hình ba chiều của trình tự ban đầu và trình tự được nhân hóa. Mô hình globulin miễn dịch ba chiều thường có sẵn và quen thuộc với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Các chương trình máy tính sẵn có minh họa và biểu hiện cấu dạng ba chiều có thể có của trình tự globulin miễn dịch dự tuyển được chọn. Các chương trình này bao gồm, ví dụ, WAM (Whitelegg and Rees, *Protein Eng.*

13: 819-824, 2000), Modeller (Sali and Blundell, *J. Mol. Biol.* 234: 779-815, 1993), và Swiss PDB Viewer (Guex and Peitsch, Electrophoresis 18: 2714-2713, 1997). Việc kiểm duyệt các biểu hiện này cho phép phân tích vai trò tương tự của các gốc trong quá trình thực hiện chức năng của trình tự globulin miễn dịch dự tuyển, ví dụ, phân tích các gốc ảnh hưởng đến khả năng của globulin miễn dịch dự tuyển trong việc liên kết với kháng nguyên của nó. Bằng cách này, các gốc FR có thể được chọn và kết hợp từ đối tượng nhận và trình tự nhập sao cho đạt được đặc tính kháng thể mong muốn, như tăng cường ái lực với (các) kháng nguyên đích. Nhìn chung, các gốc vùng siêu biến liên quan trực tiếp và liên quan nhiều nhất đến việc làm ảnh hưởng khả năng gắn kết kháng nguyên.

Một phương pháp khác để nhân hóa kháng thể là dựa trên số đo độ nhân hóa kháng thể gọi là mật độ chuỗi ở người (Human String Content-HSC). Phương pháp này so sánh trình tự của chuột nhắt với kho gen dòng mầm của người và các chênh lệch được ghi điểm dưới dạng HSC. Trình tự đích sau đó được nhân hóa bằng cách tối đa hóa HSC của nó thay vì sử dụng phép đo đồng nhất toàn cục để tạo ra các biến thể được nhân hóa khác nhau. (Lazar *et al.*, *Mol. Immunol.* 44: 1986-1998, 2007).

Ngoài các phương pháp được mô tả trên đây, các phương pháp theo kinh nghiệm có thể được sử dụng để tạo ra và chọn lọc kháng thể được nhân hóa. Các phương pháp này bao gồm các phương pháp dựa trên việc tạo ra các thư viện lớn bao gồm các biến thể được nhân hóa và việc chọn lọc dòng vô tính tốt nhất bằng cách sử dụng các công nghệ làm giàu hoặc kỹ thuật sàng lọc với công suất cao. Các biến thể kháng thể có thể được phân lập từ thư viện biểu hiện thực khuẩn thể, ribosom và nấm men cũng như bằng cách sàng lọc khuẩn lạc (xem, ví dụ, Hoogenboom, *Nat. Biotechnol.* 23: 1105-1116, 2005; Dufner *et al.*, *Trends Biotechnol.* 24: 523-529, 2006; Feldhaus *et al.*, *Nat. Biotechnol.* 21: 163-70, 2003; Schlapschy *et al.*, *Protein Eng. Des. Sel.* 17: 847-60, 2004).

Trong phương pháp thư viện FR, tập hợp các biến thể gốc được đưa vào các vị trí đặc hiệu trong FR sau đó chọn lọc thư viện để chọn lọc FR mà hỗ trợ tốt nhất cho CDR được ghép. Các gốc cần được thay thế có thể bao gồm một số hoặc tất cả các gốc "vec-nê" được nhận biết là đóng góp hiệu lực vào cấu trúc CDR (xem, ví dụ, Foote and Winter, *J. Mol. Biol.* 224: 487-499, 1992), hoặc từ tập hợp hạn chế hơn chứa các gốc đích được nhận biết bởi Baca *et al.* (*J. Biol. Chem.* 272: 10678-10684, 1997).

Trong quá trình xáo trộn FR, toàn bộ FR được kết hợp với CDR không phải của người thay vì tạo ra các thư viện tổ hợp của các biến thể gốc được chọn (xem, ví dụ, Dall'Acqua *et al.*, *Methods* 36: 43-60, 2005). Các thư viện này có thể được sàng lọc để liên kết trong quy trình chọn lọc hai bước, trước tiên nhân hóa VL, sau đó là VH. Theo cách khác, quy trình xáo trộn FR một bước có thể được sử dụng. Quy trình này đã cho thấy là hiệu quả hơn so với quy trình sàng lọc hai bước, do kháng thể thu được biểu hiện các tính chất sinh hóa và lý hóa cải thiện bao gồm mức độ biểu hiện gia tăng, ái lực và độ ổn định nhiệt gia tăng (xem, ví dụ, Damschroder *et al.*, *Mol. Immunol.* 44: 3049-60, 2007).

Phương pháp "thao tác nhân hóa" dựa trên sự nhận biết thực nghiệm của các thể xác định độ đặc hiệu tối thiểu tất yếu (MSD) và dựa trên việc thay thế trình tự các mảnh không phải của người vào thư viện bao gồm các FR người và đánh giá khả năng gắn kết. Nó bắt đầu bằng các vùng chứa CDR3 của chuỗi VH và VL không phải của người và thay thế dần dần các vùng khác chứa kháng thể không phải của người thành FR người, bao gồm CDR1 và CDR2 của cả VH và VL. Phương pháp này thường dẫn đến việc giữ lại epitop và nhận biết kháng thể từ các phân nhóm vơi CDR đoạn V khác biệt của người. Việc thao tác nhân hóa cho phép phân lập kháng thể mà giống hệt 91 đến 96% với kháng thể gen dòng mầm của người. (xem, ví dụ, Alfenito, Cambridge Healthtech Institute's Third Annual PEGS, protein Engineering Summit, 2007).

Phương pháp "thao tác để tương thích với người" bao gồm bước làm thay đổi kháng thể không phải của người hoặc mảnh kháng thể không phải của người, như kháng thể chuột nhắt hoặc kháng thể khảm hoặc mảnh kháng thể, bằng cách tạo các thay đổi cụ thể cho trình tự axit amin của kháng thể sao cho để tạo ra kháng thể được cải biến có khả năng gây miễn dịch giảm ở người mà dù sao vẫn giữ được các tính chất gắn kết mong muốn của kháng thể không phải của người ban đầu. Nhìn chung, kỹ thuật này bao gồm bước phân loại các gốc axit amin của kháng thể không phải của người (ví dụ, chuột nhắt) là gốc "nguy cơ thấp", "nguy cơ trung bình", hoặc "nguy cơ cao". Việc phân loại được thực hiện bằng cách sử dụng phép tính nguy cơ/lợi ích tổng quát mà đánh giá lợi ích được dự đoán khi tạo ra thay thế cụ thể (ví dụ, đối với khả năng gây miễn dịch ở người) dựa trên nguy cơ là thay thế này ảnh hưởng đến việc gập của kháng thể thu được và/hoặc được thay thế bằng các gốc của người. Gốc axit amin của người cụ thể cần được thay thế ở vị trí cho trước (ví dụ, nguy cơ thấp hoặc trung bình) của trình tự kháng thể không phải của người (ví dụ, chuột nhắt) có thể được chọn

lọc bằng cách sắp hàng trình tự axit amin từ vùng biến đổi của kháng thể không phải của người với vùng tương ứng của trình tự kháng thể người đặc hiệu hoặc liên ứng. Các gốc axit amin ở vị trí nguy cơ thấp hoặc vừa phải trong trình tự không phải của người có thể được thay thế cho các gốc tương ứng trong trình tự kháng thể người theo quá trình sắp hàng. Kỹ thuật tạo ra protein được thao tác để tương thích với người được mô tả chi tiết hơn trong Studnicka *et al.*, Protein Engineering, 7: 805-814 (1994), Patent Mỹ số 5,766,886, 5,770,196, 5,821,123, và 5,869,619, và công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế quốc tế WO 93/11794.

5. Kháng thể người

Kháng thể kháng beta klotho của người có thể được tạo cấu trúc bằng cách kết hợp (các) trình tự miền biến đổi dòng vô tính Fv được chọn từ thư viện biểu hiện thực khuẩn thể có nguồn gốc từ người với (các) trình tự miền hằng định của người đã biết. Theo cách khác, kháng thể đơn dòng kháng beta klotho của người theo sáng chế có thể được tạo ra bằng phương pháp lai tế bào. Dòng tế bào u tủy người và dòng tế bào u tủy dị tính chuột nhắt-người dùng để sản xuất kháng thể đơn dòng người đã được mô tả, ví dụ, trong Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur *et al.*, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, trang 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); và Boerner *et al.*, *J. Immunol.*, 147: 86 (1991).

Cũng có thể tạo ra động vật chuyển gen (ví dụ, chuột nhắt) có khả năng, khi tạo miễn dịch, tạo ra kho đầy đủ kháng thể người khi không có sự sản sinh globulin miễn dịch nội sinh. Chuột nhắt chuyển gen biểu hiện kho kháng thể người được sử dụng để tạo ra kháng thể đơn dòng trình tự người có ái lực cao kháng nhiều đích dược chất có hiệu lực khác nhau (xem, ví dụ, Jakobovits, A., *Curr. Opin. Biotechnol.* 1995, 6(5):561-6; Brüggemann and Taussing, *Curr. Opin. Biotechnol.* 1997, 8(4):455-8; Patent Mỹ số 6,075,181 và 6,150,584; và Lonberg *et al.*, *Nature Biotechnol.* 23: 1117-1125, 2005).

Theo cách khác, kháng thể người có thể được điều chế thông qua quá trình làm bất tử lympho bào B của người sản sinh kháng thể được định hướng kháng kháng nguyên đích (ví dụ, lympho bào B này có thể được thu hồi từ cá thể hoặc có thể đã được tạo miễn dịch *in vitro*) (xem, ví dụ, Cole *et al.*, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner *et al.*, *J. Immunol.*, 147 (1):86-95 (1991); và Patent Mỹ số 5,750,373).

Kỹ thuật xáo trộn gen còn có thể được sử dụng để thu được kháng thể người từ kháng thể không phải của người, ví dụ, kháng thể loài gặm nhấm, trong đó kháng thể người có ái lực và độ đặc hiệu tương tự với kháng thể không phải của người ban đầu. Theo phương pháp này, còn được gọi là "in dấu epitop" hoặc "chọn lọc theo hướng dẫn", vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của mảnh kháng thể không phải của người thu được bằng kỹ thuật biểu hiện thực khuẩn thể như được mô tả trong bản mô tả này được thay thế bằng kho gồm các gen miền V của người, tạo ra tập hợp thể khảm scFv hoặc Fab chuỗi không phải của người/chuỗi của người. Việc chọn lọc bằng kháng nguyên dẫn đến việc phân lập scFv hoặc Fab khảm chuỗi không phải của người/chuỗi của người trong đó chuỗi của người khôi phục vị trí gắn kết kháng nguyên bị phá hủy khi loại bỏ chuỗi không phải của người tương ứng trong dòng vô tính biểu hiện thực khuẩn thể sơ cấp, (ví dụ, epitop (đóng dấu) chỉ dẫn việc lựa chọn chuỗi đi kèm với chuỗi của người). Khi quy trình này lặp lại để thay thế chuỗi không phải của người còn lại, thu được kháng thể người (xem, ví dụ, PCT WO 93/06213; và Osbourn *et al.*, Methods., 36, 61-68, 2005). Không giống quy trình nhân hóa truyền thống kháng thể không phải của người bằng cách ghép CDR, kỹ thuật này tạo ra kháng thể người hoàn toàn, không có gốc FR hoặc CDR có nguồn gốc không phải của người. Các ví dụ về việc chọn lọc theo hướng dẫn để nhân hóa kháng thể chuột nhắt hướng về kháng nguyên bề mặt tế bào bao gồm protein gắn kết folat có trên tế bào ung thư buồng trứng (xem, ví dụ, Figini *et al.*, *Cancer Res.*, 58, 991-996, 1998) và CD147, được biểu hiện ở mức độ cao trên caxinôm tế bào gan (xem, ví dụ, Bao *et al.*, *Cancer Biol. Ther.*, 4, 1374-1380, 2005).

Nhược điểm có thể có của phương pháp chọn lọc theo hướng dẫn là việc xáo trộn một chuỗi kháng thể trong khi giữ chuỗi còn lại cố định có thể dẫn đến việc epitop bị trôi đi. Để giữ epitop được nhận diện bởi kháng thể không phải của người, có thể áp dụng việc giữ CDR (xem, ví dụ, Klimka *et al.*, *Br. J. Cancer*., 83, 252-260, 2000; VH CDR2 Beiboer *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 296, 833-49, 2000). Trong phương pháp này, CDR3 của VH không phải của người thường được giữ lại, do CDR này có thể nằm ở tâm của vị trí gắn kết kháng nguyên và có thể là vùng quan trọng nhất của kháng thể để nhận diện kháng nguyên. Tuy nhiên, trong một số trường hợp, CDR3 của VH và CDR3 của VL, cũng như CDR3 của VH, CDR3 của VL và CFR1 của VL, của kháng thể không phải của người có thể được giữ lại.

6. Kháng thể hai đặc hiệu

Kháng thể hai đặc hiệu là kháng thể đơn dòng có đặc hiệu gắn kết đối với ít nhất hai kháng nguyên khác nhau. Theo một số phương án nhất định, kháng thể hai đặc hiệu là kháng thể người hoặc kháng thể được nhân hóa. Theo một số phương án nhất định, một trong số các đặc hiệu gắn kết là đặc hiệu đối với beta klotho và đặc hiệu gắn kết còn lại là đối với kháng nguyên còn lại bất kỳ. Theo một số phương án, một trong số các đặc hiệu gắn kết là đặc hiệu đối với beta klotho, và đặc hiệu gắn kết còn lại là đối với kháng nguyên bề mặt khác được biểu hiện trên các tế bào biểu hiện beta klotho và thụ thể FGF (ví dụ, FGFR1c, FGFR2c, FGFR3c, FGFR4). Theo một số phương án nhất định, kháng thể hai đặc hiệu có thể gắn kết với hai epitop khác nhau của beta klotho. Kháng thể hai đặc hiệu có thể được điều chế dưới dạng kháng thể có chiều dài đầy đủ hoặc mảnh kháng thể (ví dụ, kháng thể hai đặc hiệu $F(ab')_2$).

Phương pháp tạo ra kháng thể hai đặc hiệu là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, như, ví dụ, bằng cách đồng biểu hiện hai cặp chuỗi nặng-chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch, trong đó hai chuỗi nặng có đặc hiệu khác nhau (xem, ví dụ, Milstein and Cuello, *Nature*, 305: 537 (1983)). Để có thông tin chi tiết hơn về việc tạo ra kháng thể hai đặc hiệu, xem, ví dụ, *Bispecific Antibodies*, Kontermann, ed., Springer-Verlag, Hiedelberg (2011).

7. Kháng thể đa trị

Kháng thể đa trị có thể được nội hấp (và/hoặc dị hóa) nhanh hơn so với kháng thể hóa trị hai bởi tế bào biểu hiện kháng nguyên mà kháng thể gắn kết với. Kháng thể theo sáng chế có thể là kháng thể đa trị (khác với lớp IgM) có ba hoặc nhiều vị trí gắn kết kháng nguyên (ví dụ, kháng thể hóa trị bốn), có thể dễ được tạo ra bằng cách biểu hiện tái tổ hợp axit nucleic mã hóa chuỗi polypeptit của kháng thể. Kháng thể đa trị có thể bao gồm miền dime hóa và ba hoặc nhiều hơn vị trí gắn kết kháng nguyên. Theo một số phương án nhất định, miền dime hóa bao gồm (hoặc gồm có) vùng Fc hoặc vùng bản lề. Trong ngữ cảnh này, kháng thể sẽ bao gồm vùng Fc và ba hoặc nhiều hơn vị trí gắn kết kháng nguyên đầu tận cùng amino đối với vùng Fc. Theo một số phương án nhất định, kháng thể đa trị bao gồm (hoặc gồm có) ba đến khoảng tám vị trí gắn kết kháng nguyên. Theo một phương án như vậy, kháng thể đa trị bao gồm (hoặc gồm có) bốn vị trí gắn kết kháng nguyên. Kháng thể đa trị bao gồm ít nhất một chuỗi polypeptit (ví dụ, hai chuỗi polypeptit), trong đó (các) chuỗi polypeptit bao gồm hai hoặc nhiều miền biến đổi. Ví dụ, (các) chuỗi polypeptit có thể bao gồm VD1-(X1)n -VD2-(X2)n -Fc, trong đó VD1 là miền biến đổi thứ nhất, VD2 là miền biến đổi thứ hai, Fc là một

chuỗi polypeptit của vùng Fc, X1 và X2 là axit amin hoặc polypeptit, và n bằng 0 hoặc 1. Ví dụ, (các) chuỗi polypeptit có thể bao gồm: chuỗi VH-CH1-chất liên kết linh hoạt-VH-CH1-vùng Fc; hoặc chuỗi VH-CH1-VH-CH1-vùng Fc. Kháng thể đa trị trong bản mô tả này còn có thể bao gồm ít nhất hai (ví dụ, bốn) polypeptit của miền biến đổi chuỗi nhẹ. Kháng thể đa trị trong bản mô tả này có thể, ví dụ, bao gồm từ khoảng hai đến khoảng tám polypeptit của miền biến đổi chuỗi nhẹ. Polypeptit của miền biến đổi chuỗi nhẹ được dự định trong bản mô tả này bao gồm miền biến đổi chuỗi nhẹ và, tùy ý, còn bao gồm miền CL.

8. Thao tác Fc

Có thể mong muốn cải biến kháng thể kháng beta klotho thông qua việc thao tác Fc, bao gồm, đối với chức năng tác động, ví dụ, sao cho để làm giảm hoặc loại bỏ tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc vào kháng thể (ADCC) và/hoặc tính gây độc tế bào phụ thuộc vào bổ thể (CDC) của kháng thể. Mục đích này có thể đạt được bằng cách đưa vào một hoặc nhiều thay thế axit amin trong vùng Fc của kháng thể. Ví dụ, các thay thế vào IgG1 người sử dụng gốc IgG2 ở vị trí 233-236 và gốc IgG4 ở vị trí 327, 330 và 331 cho thấy là làm giảm mạnh ADCC và CDC (xem, ví dụ, Armour *et al.*, *Eur. J. Immunol.* 29:(8):2613-24 (1999); Shields *et al.*, *J. Biol..Chem.* 276(9): 6591-604 (2001).

Để làm tăng chu kỳ bán rã trong huyết thanh của kháng thể, chuyên gia trong lĩnh vực có thể kết hợp epitop gắn kết thụ thể cứu chữa vào kháng thể (đặc biệt là mảnh kháng thể), ví dụ, như được mô tả trong Patent Mỹ số 5,739,277. Thuật ngữ "epitop gắn kết thụ thể cứu chữa" đề cập đến epitop của vùng Fc của phân tử IgG (ví dụ, IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4) chịu trách nhiệm về việc làm tăng chu kỳ bán rã trong huyết thanh *in vivo* của phân tử IgG.

9. Chất gắn kết thay thế

Sáng chế bao gồm chất gắn kết không phải globulin miễn dịch gắn kết đặc hiệu với cùng một epitop như kháng thể kháng beta klotho được bộc lộ trong bản mô tả này. Theo một số phương án, chất gắn kết không phải globulin miễn dịch được định nghĩa là chất di chuyển hoặc bị di chuyển bởi kháng thể kháng beta klotho theo sáng chế trong thử nghiệm gắn kết cạnh tranh. Các chất gắn kết thay thế này có thể bao gồm, ví dụ, bất kỳ trong số các giá đỡ protein được thao tác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các giá đỡ này có thể bao gồm một hoặc nhiều CDR như được thể hiện trong các bảng

1-10. Các giá đỡ này bao gồm, ví dụ, kháng calin, dựa trên giá đỡ lipocalin, cấu trúc protein đặc trưng bởi tấm beta cứng đỡ bốn vòng siêu biến mà tạo ra vị trí gắn kết phối tử. Các đặc hiệu gắn kết mới có thể được thao tác bằng kỹ thuật đột biến ngẫu nhiên hướng đích trong vùng chứa vòng, kết hợp với việc biểu hiện chức năng và chọn lọc có hướng dẫn (xem, ví dụ, Skerra (2008) *FEBS J.* 275: 2677-2683). Các giá đỡ thích hợp khác có thể bao gồm, ví dụ, adnectin, hoặc kháng thể thể đơn, dựa trên miền ngoại bào thứ mười của fibronectin III của người (xem, ví dụ, Koide and Koide (2007) *Methods Mol. Biol.* 352: 95-109); kháng thể có ái lực, dựa trên miền Z của protein A tụ cầu khuẩn (xem, ví dụ, Nygren *et al.* (2008) *FEBS J.* 275: 2668-2676)); DARPins, dựa trên protein lặp ankyrin (xem, ví dụ, Stumpp *et al.* (2008) *Drug. Discov. Today* 13: 695-701); fynome, dựa trên miền SH3 của Fyn protein kinaza của người Grabulovski *et al.* (2007) *J. Biol. Chem.* 282: 3196-3204); affitin, dựa trên Sac7d từ Sulfolobus acidolarius (xem, ví dụ, Krehenbrink *et al.* (2008) *J. Mol. Biol.* 383: 1058-1068); affilin, dựa trên y-B-crystallin của người (xem, ví dụ, Ebersbach *et al.* (2007) *J. Mol. Biol.* 372: 172-185); avime, dựa trên miền A của protein của thụ thể màng (xem, ví dụ, Silverman *et al.* (2005) *Biotechnol.* 23: 1556-1561); peptit knottin giàu xystein (xem, ví dụ, Kolmar (2008) *FEBS J.* 275: 2684-2690); và chất ức chế kiểu Kunitz được thiết kế (xem, ví dụ, Nixon and Wood (2006) *Curr. Opin. Drug. Discov. Dev.* 9: 261-268). Để hiểu thêm, xem, ví dụ, Gebauer and Skerra (2009) *Curr. Opin. Chem. Biol.* 13: 245-255.

Biến thể kháng thể

Theo một số phương án, (các) cải biến trình tự axit amin của kháng thể gắn kết với beta klotho hoặc được mô tả trong bản mô tả này được dự định. Ví dụ, có thể mong đợi là cải thiện ái lực gắn kết và/hoặc các tính chất sinh học khác của kháng thể, bao gồm, nhưng không giới hạn ở độ đặc hiệu, độ ổn định nhiệt, mức độ biểu hiện, chức năng tác động, glycosyl hóa, khả năng gây miễn dịch giảm hoặc độ hòa tan. Về vấn đề này, ngoài kháng thể kháng beta klotho được mô tả trong bản mô tả này, dự định là biến thể kháng thể kháng beta klotho có thể được tạo ra. Ví dụ, biến thể kháng thể kháng beta klotho có thể được điều chế bằng cách đưa các thay đổi nucleotit thích hợp vào ADN mã hóa, và/hoặc bằng cách tổng hợp kháng thể hoặc polypeptit mong muốn. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu được rằng các thay đổi axit amin có thể làm thay đổi các quá trình sau dịch mã của kháng thể kháng beta klotho,

như thay đổi số lượng hoặc vị trí của vị trí glycosyl hóa hoặc thay đổi các đặc tính neo màng.

Theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này được cải biến hóa học, ví dụ, bằng cách gắn cộng hóa trị loại phân tử bất kỳ với kháng thể. Các dẫn xuất kháng thể có thể bao gồm kháng thể đã được cải biến hóa học, ví dụ, bằng cách glycosyl hóa, axetyl hóa, pegyl hóa, phosphoryl hóa, amit hóa, tạo dẫn xuất bằng nhóm bảo vệ/nhóm phong bế đã biết, phân tách protein phân giải, liên kết với phối tử tế bào hoặc protein khác, v.v.. Cải biến bất kỳ trong các cải biến hóa học khác nhau có thể được tiến hành bằng các kỹ thuật đã biết, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, phân tách hóa học đặc hiệu, axetyl hóa, phối trộn, tổng hợp chuyển hóa tunicamyxin, v.v.. Ngoài ra, kháng thể có thể chứa một hoặc nhiều axit amin không bình thường.

Các cải biến có thể là cải biến thay thế, làm khuyết hoặc xen vào của một hoặc nhiều codon mã hóa kháng thể hoặc polypeptit mà dẫn đến việc thay đổi trình tự axit amin so với kháng thể hoặc polypeptit trình tự tự nhiên. Cải biến thay thế axit amin có thể là kết quả của việc thay thế một axit amin bằng một axit amin khác có tính chất cấu trúc và/hoặc tính chất hóa học tương tự, như thay thế leuxin bằng serin, ví dụ, thay thế axit amin bảo toàn. Cải biến xen vào hoặc làm khuyết có thể tùy ý nằm trong khoảng từ 1 đến 5 axit amin. Theo một số phương án nhất định, cải biến thay thế, làm khuyết hoặc xen vào bao gồm thay thế ít hơn 25 axit amin, thay thế ít hơn 20 axit amin, thay thế ít hơn 15 axit amin, thay thế ít hơn 10 axit amin, thay thế ít hơn 5 axit amin, thay thế ít hơn 4 axit amin, thay thế ít hơn 3 axit amin, hoặc thay thế ít hơn 2 axit amin so với phân tử ban đầu. Theo một phương án cụ thể, cải biến thay thế là thay thế axit amin bảo toàn được thực hiện ở một hoặc nhiều gốc axit amin không thiết yếu được dự đoán. Cải biến cho phép có thể được xác định bằng cách tạo ra các cải biến xen vào, làm khuyết hoặc thay thế axit amin theo hệ thống trong trình tự và thử nghiệm các biến thể thu được về hoạt tính được biểu hiện bởi trình tự có chiều dài đầy đủ hoặc trình tự tự nhiên trưởng thành.

Cải biến xen vào trình tự axit amin bao gồm dung hợp đầu tận cùng amino và/hoặc carboxyl nằm trong khoảng độ dài từ một gốc đến polypeptit chứa hàng trăm gốc hoặc nhiều hơn, cũng như cải biến xen vào trình tự bên trong gồm một hoặc nhiều gốc axit amin. Các ví dụ về cải biến xen vào tận cùng bao gồm kháng thể với gốc methionyl đầu tận cùng N. Các cải biến xen vào khác của phân tử kháng thể bao gồm dung hợp với đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của kháng thể với enzym (ví dụ, đối

với liệu pháp tiền dược chất enzym được định hướng bằng kháng thể) hoặc polypeptit làm tăng chu kỳ bán rã trong huyết thanh của kháng thể.

Các cải biến chủ yếu về tính chất sinh học của kháng thể được hoàn thành bằng cách chọn lọc các cải biến thay thế làm thay đổi một cách đáng kể tác động của chúng đến việc duy trì (a) cấu trúc của mạch chính polypeptit trong vùng thay thế, ví dụ, dưới dạng tấm hoặc cấu dạng xoắn, (b) điện tích hoặc tính kỵ nước của phân tử ở vị trí đích, hoặc (c) khối mạch bên. Theo cách khác, các cải biến thay thế bảo toàn (ví dụ, trong nhóm axit amin có các tính chất và/hoặc mạch bên tương tự) có thể được tạo ra, sao cho để duy trì hoặc không làm thay đổi đáng kể các tính chất. Axit amin có thể được chia nhóm theo độ tương đồng về tính chất mạch bên của chúng (xem, ví dụ, A. L. Lehninger, in *Biochemistry*, 2nd Ed., trang 73-75, Worth Publishers, New York (1975)): (1) không phân cực: Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I), Pro (P), Phe (F), Trp (W), Met (M); (2) phân cực không tích điện: Gly (G), Ser (S), Thr (T), Cys (C), Tyr (Y), Asn (N), Gln (Q); (3) axit: Asp (D), Glu (E); và (4) bazơ: Lys (K), Arg (R), His(H).

Theo cách khác, các gốc có trong tự nhiên có thể được chia nhóm dựa trên tính chất mạch bên chung: (1) kỵ nước: Norleuxin, Met, Ala, Val, Leu, Ile; (2) ưa nước trung tính: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln; (3) axit: Asp, Glu; (4) bazơ: His, Lys, Arg; (5) gốc làm ảnh hưởng đến việc định hướng mạch: Gly, Pro; và (6) thơm: Trp, Tyr, Phe.

Các cải biến thay thế không bảo toàn gây ra sự trao đổi thành viên của một trong các nhóm này với một nhóm khác. Các gốc được thay thế này cũng có thể được đưa vào các vị trí thay thế bảo toàn hoặc, đưa vào vị trí (không được bảo toàn) còn lại. Do đó, theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh kháng thể gắn kết với epitop beta klotho bao gồm trình tự axit amin giống hệt ít nhất 35%, ít nhất 40%, ít nhất 45%, ít nhất 50%, ít nhất 55%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% với trình tự axit amin của kháng thể đơn dòng chuột được mô tả trong bản mô tả này. Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh kháng thể gắn kết với epitop beta klotho bao gồm trình tự axit amin giống hệt ít nhất 35%, ít nhất 40%, ít nhất 45%, ít nhất 50%, ít nhất 55%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% với trình tự axit amin được mô tả trong các Bảng 1-10. Theo một phương án khác nữa, kháng thể hoặc mảnh kháng thể gắn kết với epitop beta klotho bao gồm trình tự axit amin CDR của VH và/hoặc CDR của VL giống hệt ít nhất 35%, ít nhất

40%, ít nhất 45%, ít nhất 50%, ít nhất 55%, ít nhất 60%, ít nhất 65%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% với trình tự axit amin CDR của VH được mô tả trong các Bảng 1-10 và/hoặc trình tự axit amin CDR của VL được mô tả trong các Bảng 1-10. Các cải biến có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này như đột biến (được định hướng điểm) qua trung gian oligonucleotit, quét alanin, và đột biến PCR. Đột biến định hướng điểm (xem, ví dụ, Carter *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 13:4331 (1986); Zoller *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 10:6487 (1987)), đột biến cát-xét (xem, ví dụ, Wells *et al.*, *Gene*, 34:315 (1985)), đột biến chọn lọc giới hạn (xem, ví dụ, Wells *et al.*, *Philos. Trans. R. Soc. London SerA*, 317:415 (1986)) hoặc các kỹ thuật đã biết khác có thể được thực hiện trên ADN được tách dòng để tạo ra ADN biến thể kháng thể kháng beta klotho.

Gốc xystein bất kỳ không liên quan đến việc duy trì cấu dạng hoàn chỉnh của kháng thể kháng beta klotho cũng có thể được thay thế, ví dụ, bằng một axit amin khác như alanin hoặc serin, để cải thiện độ ổn định oxy hóa của phân tử và ngăn chặn liên kết ngang khác thường. Ngược lại, (các) liên kết xystein có thể được bổ sung vào kháng thể kháng beta klotho để cải thiện độ ổn định của nó (ví dụ, khi kháng thể là mảnh kháng thể như mảnh Fv).

Theo một số phương án, phân tử kháng thể kháng beta klotho theo sáng chế là kháng thể "được khử miễn dịch". Kháng thể kháng beta klotho "được khử miễn dịch" là kháng thể có nguồn gốc từ kháng thể kháng beta klotho được nhân hóa hoặc khảm, có một hoặc nhiều thay đổi trong trình tự axit amin của nó dẫn đến việc làm giảm khả năng gây miễn dịch của kháng thể, so với kháng thể không được khử miễn dịch ban đầu tương ứng. Một trong số các quy trình tạo ra đột biến kháng thể này bao gồm quy trình nhận biết và loại bỏ epitop tế bào T của phân tử kháng thể. Trong bước thứ nhất, khả năng gây miễn dịch của phân tử kháng thể có thể được xác định bằng một vài phương pháp, ví dụ, bằng cách xác định *in vitro* epitop tế bào T hoặc dự đoán *in silico* các epitop này, như đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Một khi các gốc mang tính quyết định đối với chức năng của epitop tế bào T được nhận biết, thì các đột biến có thể được tạo ra để loại bỏ khả năng gây miễn dịch và giữ lại hoạt tính kháng thể. Để tìm hiểu thêm, xem, ví dụ, Jones *et al.*, *Methods in Molecular Biology* 525: 405-423, 2009.

1. Trưởng thành (thuần thục) ái lực *in vitro*

Theo một số phương án, biến thể kháng thể có tính chất cải thiện như ái lực, độ ổn định, hoặc mức độ biểu hiện so với kháng thể ban đầu có thể được điều chế bằng cách làm trưởng thành ái lực *in vitro*. Giống như nguyên mẫu tự nhiên, việc làm trưởng thành ái lực *in vitro* là dựa trên nguyên tắc đột biến và chọn lọc. Các thư viện kháng thể được biểu hiện dưới dạng các mảnh của miền Fab, scFv hoặc V trên bề mặt của sinh vật (ví dụ, thực khuẩn thể, vi khuẩn, nấm men hoặc tế bào động vật có vú) hoặc kết hợp (ví dụ, cộng hóa trị hoặc không cộng hóa trị) với ARN thông tin hoặc ADN mã hóa của chúng. Việc chọn lọc ái lực các kháng thể được biểu hiện cho phép phân lập các sinh vật hoặc phức hợp mang thông tin di truyền mã hóa các kháng thể này. Hai hoặc ba chu kỳ đột biến và chọn lọc sử dụng phương pháp biểu hiện như biểu hiện thực khuẩn thể thường thu được mảnh kháng thể có ái lực nằm trong khoảng nanomol thấp. Kháng thể trưởng thành ái lực được ưu tiên có ái lực tính theo nanomol hoặc thậm chí là picomol đối với kháng nguyên đích.

Phương pháp biểu hiện thực khuẩn thể là phương pháp phổ biến để biểu hiện và chọn lọc kháng thể. Kháng thể được biểu hiện trên bề mặt của thể thực khuẩn Fd hoặc M13 dưới dạng dung hợp với protein phủ thể thực khuẩn. Quá trình chọn lọc bao gồm bước tiếp xúc với kháng nguyên để cho phép kháng thể được biểu hiện bởi thực khuẩn thể gắn kết với đích của chúng, quy trình này được gọi là "sàng lọc." Thực khuẩn thể gắn kết với kháng nguyên được thu hồi và lây nhiễm trong vi khuẩn để sản sinh thực khuẩn thể dùng cho các chu kỳ chọn lọc khác. Để tìm hiểu thêm, xem, ví dụ, Hoogenboom, *Methods. Mol. Biol.* 178: 1-37, 2002; Bradbury and Marks, *J. Immuno. Methods* 290: 29-49, 2004).

Trong hệ biểu hiện nấm men (xem, ví dụ, Boder *et al.*, *Nat. Biotech.* 15: 553–57, 1997; Chao *et al.*, *Nat. Protocols* 1:755-768, 2006), kháng thể có thể được biểu hiện dưới dạng thể dung hợp biến đổi chuỗi đơn (scFv) trong đó chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được nối bằng chất liên kết linh hoạt. scFv được dung hợp với cấu trúc dưới phân tử bám dính của protein nấm men agglutinin Aga2p, gắn vào vách tế bào nấm men thông qua liên kết disulfua với Aga1p. Việc biểu hiện protein thông qua Aga2p hướng protein này cách xa bề mặt tế bào, tối thiểu hóa tương tác tiềm tàng với các phân tử khác trên vách tế bào nấm men. Kỹ thuật tách từ và đếm tế bào dòng chảy được sử dụng để sàng lọc thư viện để chọn lọc kháng thể có ái lực hoặc độ ổn định cải thiện. Việc gắn kết với kháng nguyên hòa tan nghiên cứu được xác định bằng cách đánh dấu nấm men bằng kháng nguyên được biotin hóa và chất phản ứng thứ cấp như

streptavidin được liên hợp với chất huỳnh quang. Các biến đổi về biểu hiện bề mặt của kháng thể có thể được xác định bằng cách đánh dấu huỳnh quang miễn dịch thẻ hemagglutinin hoặc c-Myc epitop ở bên sườn scFv. Mức độ biểu hiện cho thấy là liên quan đến độ ổn định của protein được biểu hiện, và do đó kháng thể có thể được chọn lọc về độ ổn định cũng như ái lực cải thiện (xem, ví dụ, Shusta *et al.*, *J. Mol. Biol.* 292: 949-956, 1999). Một ưu điểm nữa khi biểu hiện nấm men là protein được biểu hiện được gập trong lưới nội bào của tế bào nấm men nhân chuẩn, tận dụng lưới nội bào đi kèm và cơ chế kiểm soát chất lượng. Mỗi khi kết thúc quá trình trưởng thành, ái lực của kháng thể có thể được 'chuẩn độ' một cách thuận lợi trong khi được biểu hiện trên bề mặt của nấm men, bỏ được yêu cầu biểu hiện và tinh chế của từng dòng vô tính. Việc biểu hiện bề mặt nấm men có hạn chế về mặt lý thuyết là kích cỡ thư viện chức năng nhỏ hơn xét về hiệu lực so với kích cỡ thư viện chức năng của các phương pháp biểu hiện khác; tuy nhiên, phương pháp này sử dụng hệ ghép đôi tế bào nấm men để tạo ra tính đa dạng nhờ tổ hợp được ước tính là có kích cỡ 10^{14} (xem, ví dụ, công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 2003/0186,374; Blaise *et al.*, *Gene* 342: 211–218, 2004).

Khi biểu hiện ribosom, phức hợp kháng thể-ribosom-ARN thông tin (ARM) được tạo ra để chọn lọc trong hệ vô bào. Thư viện ADN mã hóa thư viện kháng thể cụ thể được dung hợp về mặt di truyền với trình tự đoạn đệm thiếu codon kết thúc. Trình tự đoạn đệm này, khi được dịch mã, vẫn được gắn vào peptidyl tARN và chiếm đường hầm ribosom, và do đó cho phép protein nghiên cứu nhô ra ngoài ribosom và gập lại. Phức hợp của ARN thông tin, ribosom, và protein thu được có thể gắn kết với phối tử gắn kết bề mặt, cho phép phân lập cùng lúc kháng thể và ARN thông tin mã hóa của nó bằng cách bắt ái lực với phối tử. ARN thông tin gắn kết ribosom sau đó được phiên mã ngược trở lại thành ADN bổ trợ, sau đó có thể trải qua quá trình đột biến và được sử dụng trong chu kỳ chọn lọc tiếp theo (xem, ví dụ, Fukuda *et al.*, *Nucleic acids Res.* 34, e127, 2006). Khi biểu hiện ARN thông tin, liên kết cộng hóa trị giữa kháng thể và ARN thông tin được thiết lập bằng cách sử dụng puromyxin làm phân tử khớp nối (Wilson *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 3750–3755, 2001).

Do các phương pháp này được thực hiện hoàn toàn *in vitro*, chúng tạo ra hai ưu điểm chính so với các công nghệ chọn lọc khác. Thứ nhất, tính đa dạng của thư viện không bị giới hạn bởi hiệu quả biến nạp của tế bào vi khuẩn, mà chỉ bị giới hạn bởi số lượng ribosom và phân tử ARN thông tin khác nhau có trong ống thử nghiệm. Thứ

hai, các đột biến ngẫu nhiên có thể dễ dàng được đưa vào sau mỗi chu kỳ chọn lọc, ví dụ, bằng polymeraza không đọc sửa, do không thư viện nào cần phải được biến nạp sau bước đa dạng hóa bất kỳ.

Độ đa dạng có thể được đưa vào CDR hoặc gen V nguyên vẹn của thư viện kháng thể theo cách được hướng đích hoặc thông qua quá trình đưa vào ngẫu nhiên. Phương pháp hướng đích bao gồm bước hướng đích tuần tự tất cả các CDR của kháng thể thông qua đột biến ở mức độ cao hoặc mức độ thấp hoặc hướng đích các điểm tới hạn được phân lập của siêu đột biến soma (xem, ví dụ, Ho, *et al.*, *J. Biol. Chem.* 280: 607–617, 2005) hoặc các gốc bị nghi là ảnh hưởng đến ái lực trên cơ sở thử nghiệm hoặc nguyên nhân cấu trúc. Đột biến ngẫu nhiên có thể được đưa vào khắp gen V nguyên vẹn bằng cách sử dụng chủng gây đột biến *E. coli*, sao chép tạo lỗi ngẫu nhiên với ADN polymeraza (xem, ví dụ, Hawkins *et al.*, *J. Mol. Biol.* 226: 889-896, 1992) hoặc ARN replicaza. Độ đa dạng còn có thể được đưa vào bằng cách thay thế các vùng khác nhau về mặt tự nhiên thông qua kỹ thuật xáo trộn ADN hoặc các kỹ thuật tương tự (xem, ví dụ, Lu *et al.*, *J. Biol. Chem.* 278: 43496-43507, 2003; Patent Mỹ số 5,565,332; Patent Mỹ số 6,989,250). Các kỹ thuật thay thế hướng đích vòng siêu biến kéo dài vào các gốc vùng khung (xem, ví dụ, Bond *et al.*, *J. Mol. Biol.* 348: 699-709, 2005) bằng cách sử dụng cải biến làm khuyết và xen vào vòng trong CDR hoặc sử dụng kỹ thuật đa dạng hóa dựa trên quy trình lai (xem, ví dụ, công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 2004/0005709). Các phương pháp bổ sung để tạo ra độ đa dạng trong CDR được bộc lộ, ví dụ, trong Patent Mỹ số 7,985,840.

Bước sàng lọc thư viện có thể được hoàn thành bằng các kỹ thuật khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, beta klotho có thể được cố định lên trên giá đỡ dạng rắn (giá thể rắn), cột, trục hoặc màng xenluloza/poly(vinyliden florua)/các bộ lọc khác, được biểu hiện trên tế bào chủ được cố định vào đĩa hấp phụ hoặc được sử dụng để phân loại tế bào, hoặc được liên hợp với biotin để bắt hạt được phủ streptavidin, hoặc được sử dụng trong phương pháp bất kỳ khác để sàng lọc các thư viện biểu hiện.

Để tìm hiểu thêm về phương pháp trưởng thành ái lực *in vitro*, xem, ví dụ, Hoogenboom, *Nature Biotechnology* 23: 1105-1116, 2005 và Quiroz and Sinclair, Revista Ingeneria Biomedia 4: 39-51, 2010 và các tài liệu tham khảo trong đó.

2. Các cải biến của kháng thể kháng beta klotho

Cải biến cộng hóa trị của kháng thể kháng beta klotho nằm trong phạm vi của sáng chế. Các cải biến cộng hóa trị bao gồm cho các gốc axit amin được hướng đích của kháng thể kháng beta klotho phản ứng với chất dẫn xuất hữu cơ có khả năng phản ứng với mạch bên được chọn hoặc các gốc đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của kháng thể kháng beta klotho. Các cải biến khác bao gồm lần lượt khử amit hóa gốc glutaminyl và asparaginyl thành gốc glutamyl và aspartyl tương ứng, hydroxyl hóa prolin và lysin, phosphoryl hóa nhóm hydroxyl của gốc seryl hoặc threonyl, metyl hóa nhóm α-amino của mạch bên lysin, arginin, và histidin (xem, ví dụ, T.E. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W.H. Freeman & Co., San Francisco, trang 79-86 (1983)), axetyl hóa amin đầu tận cùng N, và amit hóa nhóm carboxyl đầu tận cùng C bất kỳ.

Các loại cải biến cộng hóa trị khác của kháng thể kháng beta klotho nằm trong phạm vi của sáng chế bao gồm thay đổi mô hình glycosyl hóa tự nhiên của kháng thể hoặc polypeptit (xem, ví dụ, Beck *et al.*, *Curr. Pharm. Biotechnol.* 9: 482-501, 2008; Walsh, *Drug Discov. Today* 15: 773-780, 2010), và liên kết kháng thể này với một trong nhiều polyme không có protein khác nhau, ví dụ, polyetylen glycol (PEG), polypropylen glycol, hoặc polyoxyalkylen, theo cách nêu trong, ví dụ, Patent Mỹ số 4,640,835; 4,496,689; 4,301,144; 4,670,417; 4,791,192 hoặc 4,179,337.

Kháng thể kháng beta klotho theo sáng chế còn có thể được cải biến để tạo ra phân tử khảm chứa kháng thể kháng beta klotho được dung hợp với một kháng thể khác, polypeptit hoặc trình tự axit amin khác loại, ví dụ, thẻ epitop (xem, ví dụ, Terpe, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60: 523-533, 2003) hoặc vùng Fc của phân tử IgG (xem, ví dụ, Aruffo, "Immunoglobulin fusion proteins" trong Antibody Fusion Proteins, S.M. Chamow and A. Ashkenazi, eds., Wiley-Liss, New York, 1999, trang 221-242).

Sáng chế còn đề cập đến protein dung hợp chứa kháng thể nêu trong bản mô tả này mà gắn kết với kháng nguyên beta klotho và polypeptit khác loại. Theo một số phương án, polypeptit khác loại mà kháng thể được dung hợp với hữu ích trong việc hướng đích kháng thể đến các tế bào có beta klotho được biểu hiện trên bề mặt tế bào.

Sáng chế còn đề cập đến nhóm kháng thể gắn kết với kháng nguyên beta klotho. Theo các phương án cụ thể, nhóm kháng thể có các hằng số tốc độ kết hợp khác nhau, hằng số tốc độ phân ly khác nhau, ái lực với kháng nguyên beta klotho khác nhau, và/hoặc độ đặc hiệu với kháng nguyên beta klotho khác nhau. Theo một số phương án, các nhóm này bao gồm hoặc gồm có khoảng 10, khoảng 25, khoảng 50, khoảng 75,

khoảng 100, khoảng 125, khoảng 150, khoảng 175, khoảng 200, khoảng 250, khoảng 300, khoảng 350, khoảng 400, khoảng 450, khoảng 500, khoảng 550, khoảng 600, khoảng 650, khoảng 700, khoảng 750, khoảng 800, khoảng 850, khoảng 900, khoảng 950, hoặc khoảng 1000 kháng thể hoặc nhiều hơn. Nhóm kháng thể này có thể được sử dụng, ví dụ, trong đĩa 96 lỗ hoặc 384 lỗ, như đối với thử nghiệm như ELISA.

Điều chế kháng thể kháng beta klotho

Kháng thể kháng beta klotho có thể được tạo ra bằng cách nuôi cấy các tế bào được biến nạp hoặc được chuyển nhiễm bằng vectơ chứa axit nucleic mã hóa kháng thể kháng beta klotho. Trình tự polynucleotit mã hóa các thành phần polypeptit của kháng thể theo sáng chế có thể thu được bằng cách sử dụng kỹ thuật tái tổ hợp chuẩn. Trình tự polynucleotit mong muốn có thể được phân lập và giải trình tự từ tế bào sản sinh kháng thể như tế bào lai. Theo cách khác, polynucleotit có thể được tổng hợp bằng cách sử dụng máy tổng hợp nucleotit hoặc kỹ thuật PCR. Một khi thu được, trình tự mã hóa polypeptit này được xen vào vectơ tái tổ hợp có khả năng sao chép và biểu hiện các polynucleotit khác loại trong tế bào chủ. Nhiều vectơ được bán trên thị trường và đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể được sử dụng nhằm mục đích của sáng chế. Việc chọn vectơ thích hợp chủ yếu phụ thuộc vào kích cỡ axit nucleic cần được xen vào vectơ và tế bào chủ cụ thể cần được biến nạp bằng vectơ này. Tế bào chủ thích hợp để biểu hiện kháng thể theo sáng chế bao gồm sinh vật nhân nguyên thủy như vi khuẩn Archaebacteria và Eubacteria, bao gồm sinh vật Gram âm hoặc Gram dương, vi sinh vật nhân chuẩn như nấm sợi hoặc nấm men, tế bào của động vật không xương sống như tế bào côn trùng hoặc tế bào thực vật, và tế bào của động vật có xương sống như dòng tế bào chủ của động vật có vú. Tế bào chủ được biến nạp bằng vectơ biểu hiện nêu trên và được nuôi cấy trong môi trường dinh dưỡng thông thường được cải biến thích hợp để cảm ứng gen khởi đầu, chọn lọc tế bào biến nạp, hoặc khuếch đại gen mã hóa trình tự mong muốn. Các kháng thể được sản sinh bởi tế bào chủ được tinh chế bằng cách sử dụng phương pháp tinh chế protein tiêu chuẩn như đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Phương pháp sản xuất kháng thể bao gồm bước tạo cấu trúc vectơ, biểu hiện và tinh chế còn được mô tả, trong Plückthun *et al.*, (1996) in *Antibody Engineering: Producing antibodies in Escherichia coli: From PCR to fermentation* (McCafferty, J., Hoogenboom, H. R., và Chiswell, D. J., eds), 1 Ed., trang 203-252, IRL Press, Oxford; Kwong, K. & Rader, C., *E. coli* expression and purification of Fab antibody fragments,

Current protocols in protein science editorial board John E Coligan *et al.*, Chapter 6, Unit 6.10 (2009); Tachibana and Takekoshi, "Production of Antibody Fab Fragments in Escherischia coli," trong *Antibody Expression and Production*, M. Al-Rubeai, Ed., Springer, New York, 2011; *Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic* (ed Z. An), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.

Đương nhiên, được dự định là các phương pháp thay thế, đã được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này, có thể được sử dụng để tạo ra kháng thể kháng beta klotho. Ví dụ, trình tự axit amin thích hợp, hoặc các phần của nó, có thể được tạo ra bằng cách tổng hợp trực tiếp peptit bằng cách sử dụng kỹ thuật pha rắn (xem, ví dụ, Stewart *et al.*, *Solid-Phase Peptide Synthesis*, W.H. Freeman Co., San Francisco, CA (1969); Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.*, 85:2149-2154 (1963)). Quá trình tổng hợp protein *in vitro* có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các kỹ thuật thủ công hoặc tự động hóa. Các phần khác nhau của kháng thể kháng beta klotho có thể được tổng hợp bằng phương pháp hóa học riêng rẽ và được kết hợp bằng cách sử dụng phương pháp hóa học hoặc enzym để tạo ra kháng thể kháng beta klotho mong muốn. Theo cách khác, kháng thể có thể được tinh chế từ tế bào hoặc dịch thể, như sữa, của động vật chuyển gen được thao tác để biểu hiện kháng thể, như được bộc lộ, ví dụ, trong Patent Mỹ số 5,545,807 và Patent Mỹ số 5,827,690.

Thể liên hợp miễn dịch

Sáng chế cũng đề xuất thể liên hợp chứa một kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể kháng beta klotho theo sáng chế liên kết cộng hóa trị bằng liên kết tổng hợp với một hoặc nhiều chất không phải kháng thể.

Các chất đồng vị hoạt tính phóng xạ khác nhau là có sẵn để tạo ra kháng thể được liên hợp phóng xạ. Ví dụ bao gồm At^{211}, I4, I4, Y4, Re4, Re4, Sm4, Bi4, P4, Pb4 và các chất đồng vị hoạt tính phóng xạ của Lu. Khi thể liên hợp được sử dụng để dò tìm, nó có thể bao gồm nguyên tử có hoạt tính phóng xạ để nghiên cứu xạ hình, ví dụ tc4 hoặc I4, hoặc nhãn đánh dấu spin để chụp hình cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) (còn được gọi là chụp hình cộng hưởng từ, MRI), như iot-123 một lần nữa, iot-131, indi-111, flo-19, cacbon-13, nitơ-15, oxy-17, gadolini, mangan hoặc sắt. Các đồng vị phóng xạ có thể được kết hợp trong thể liên hợp theo các cách đã biết như được mô tả, ví dụ, trong Reilly, "The radiochemistry of monoclonal antibodies and peptides," trong Monoclonal and Peptide-Targeted Radiotherapy of Cancer, R.M. Reilly, ed., Wiley, Hoboken N.J., 2010.

Theo một số phương án, kháng thể nêu trong bản mô tả này được liên hợp hoặc được dung hợp bằng phương pháp tái tổ hợp với chất chẩn đoán, phát hiện hoặc điều trị hoặc phân tử bất kỳ khác. Kháng thể được liên hợp hoặc được dung hợp bằng phương pháp tái tổ hợp có thể hữu ích, ví dụ, để theo dõi hoặc tiên lượng sự khởi phát, phát triển, tiến triển và/hoặc mức độ nghiêm trọng của bệnh qua trung gian beta klotho như một phần của quy trình thử nghiệm lâm sàng, như xác định hiệu quả của liệu pháp cụ thể.

Việc chẩn đoán và phát hiện này có thể được hoàn thành, ví dụ, bằng cách kết hợp kháng thể với chất phát hiện bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các enzym khác nhau, như, nhưng không giới hạn ở, peroxidaza cải ngựa, phosphataza kiềm, beta-galactosidaza, hoặc axetylcholinesteraza; nhóm phụ gia, như, nhưng không giới hạn ở, streptavidin/biotin và avidin/biotin; vật liệu huỳnh quang, như, nhưng không giới hạn ở, umbelliferon, floresxein, floresxein isothioxynat, rodamin, diclotriazinylamin floresxein, dansyl clorua hoặc phycoerythrin; vật liệu phát quang, như, nhưng không giới hạn ở, luminol; vật liệu phát quang sinh học, như nhưng không giới hạn ở, luxiferaza, luxiferin, và aequorin; vật liệu phát quang hóa học, như nhưng không giới hạn ở, hợp chất dựa trên acridini hoặc HALOTAG; vật liệu có hoạt tính phóng xạ, như, nhưng không giới hạn ở, iot (^{131}I, ^{125}I, ^{123}I, và ^{121}I,), cacbon (^{14}C), lưu huỳnh (^{35}S), triti (^{3}H), indi (^{115}In, ^{113}In, ^{112}In, và ^{111}In,), techneti (^{99}Tc), thali (^{201}Ti), gali (^{68}Ga, ^{67}Ga), paladi (^{103}Pd), molypden (^{99}Mo), xenon (^{133}Xe), flo (^{18}F), ^{153}Sm, ^{177}Lu, ^{159}Gd, ^{149}Pm, ^{140}La, ^{175}Yb, ^{166}Ho, ^{90}Y, ^{47}Sc, ^{186}Re, ^{188}Re, ^{142}Pr, ^{105}Rh, ^{97}Ru, ^{68}Ge, ^{57}Co, ^{65}Zn, ^{85}Sr, ^{32}P, ^{153}Gd, ^{169}Yb, ^{51}Cr, ^{54}Mn, ^{75}Se, ^{113}Sn, và ^{117}Sn; và kim loại phát positron sử dụng các phương pháp chụp cắt lớp phát positron khác nhau, và ion kim loại thuận từ không có hoạt tính phóng xạ.

Sáng chế còn đề cập đến kháng thể được liên hợp hoặc được dung hợp bằng phương pháp tái tổ hợp với gốc điều trị (hoặc một hoặc nhiều gốc điều trị), cũng như cách sử dụng chúng. Kháng thể này có thể được liên hợp hoặc được dung hợp bằng phương pháp tái tổ hợp với gốc điều trị, bao gồm độc tố gây hại tế bào như chất kìm tế bào hoặc diệt tế bào, chất điều trị bệnh hoặc ion kim loại có hoạt tính phóng xạ như nguồn phát xạ alpha. Độc tố gây hại tế bào hoặc chất gây độc tế bào bao gồm chất bất kỳ gây hại cho tế bào.

Hơn nữa, kháng thể nêu trong bản mô tả này có thể được liên hợp hoặc được dung hợp bằng phương pháp tái tổ hợp với gốc điều trị hoặc gốc dược chất cải biến

phản ứng sinh học cho trước. Gốc điều trị hoặc gốc dược chất không cần được hiểu là chỉ giới hạn ở các chất hóa trị cổ điển. Ví dụ, gốc dược chất có thể là protein, peptit, hoặc polypeptit có hoạt tính sinh học mong muốn. Protein này có thể bao gồm, ví dụ, độc tố như abrin, rixin A, ngoại độc tố của vi khuẩn hình que pseudomonas, độc tố dịch tả, hoặc độc tố bệnh bạch hầu; protein như tác nhân hoại tử khối u, γ-interferon, α-interferon, tác nhân sinh trưởng thần kinh, tác nhân sinh trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu, chất hoạt hóa plasminogen mô, chất gây chết tế bào theo chương trình, ví dụ, TNF-γ, TNF-γ, AIM I (xem, ví dụ, công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 97/33899), AIM II (xem, ví dụ, công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 97/34911), phối tử Fas (xem, ví dụ,Takahashi *et al.*, 1994, J. Immunol., 6:1567-1574), và VEGF (xem, ví dụ, công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 99/23105), chất chống hình thành mạch, bao gồm, ví dụ, angiostatin, endostatin hoặc thành phần của con đường đông tụ (ví dụ, tác nhân mô); hoặc, chất cải biến phản ứng sinh học như, ví dụ, lymphokin (ví dụ, interferon gama, interleukin-1 ("IL-1"), interleukin-2 ("IL-2"), interleukin-5 ("IL-5"), interleukin-6 ("IL-6"), interleukin-7 ("IL-7"), interleukin 9 ("IL-9"), interleukin-10 ("IL-10"), interleukin-12 ("IL-12"), interleukin-15 ("IL-15"), interleukin-23 ("IL-23"), tác nhân kích thích cụm đại thực bào - bạch cầu hạt ("GM-CSF"), và tác nhân kích thích cụm bạch cầu hạt ("G-CSF")), hoặc tác nhân sinh trưởng (ví dụ, hormon sinh trưởng ("GH")), hoặc chất làm đông tụ (ví dụ, canxi, vitamin K, tác nhân mô, như nhưng không giới hạn ở, tác nhân Hageman (tác nhân XII), kininogen cao phân tử (HMWK), prekallikrein (PK), tác nhân protein đông tụ II (prothrombin), tác nhân V, XIIa, VIII, XIIIa, XI, XIa, IX, IXa, X, phospholipit, và fibrin monome).

Sáng chế còn đề cập đến kháng thể được dung hợp bằng phương pháp tái tổ hợp hoặc được liên hợp bằng phương pháp hóa học (liên hợp cộng hóa trị hoặc không cộng hóa trị) với protein khác loại hoặc polypeptit (hoặc mảnh của nó, ví dụ, polypeptit có khoảng 10, khoảng 20, khoảng 30, khoảng 40, khoảng 50, khoảng 60, khoảng 70, khoảng 80, khoảng 90 hoặc khoảng 100 axit amin) để tạo ra protein dung hợp, cũng như cách sử dụng protein này. Cụ thể là, sáng chế đề cập đến protein dung hợp chứa mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể nêu trong bản mô tả này (ví dụ, mảnh Fab, mảnh Fd, mảnh Fv, mảnh $F(ab)_2$, miền VH, CDR của VH, miền VL hoặc CDR của VL) và protein, polypeptit hoặc peptit khác loại. Theo một phương án, protein, polypeptit hoặc peptit khác loại mà kháng thể được dung hợp với hữu ích trong việc hướng đích kháng thể đến loại tế bào cụ thể, như tế bào biểu hiện beta klotho hoặc thụ

thể beta klotho. Ví dụ, kháng thể gắn kết với thụ thể bề mặt tế bào được biểu hiện bởi loại tế bào cụ thể (ví dụ, tế bào miễn dịch) có thể được dung hợp hoặc được liên hợp với kháng thể được cải biến được đề cập trong bản mô tả này.

Ngoài ra, kháng thể nêu trong bản mô tả này có thể được liên hợp với gốc điều trị như ion kim loại có hoạt tính phóng xạ, như nguồn phát xạ alpha như ^{213}Bi hoặc chất tạo chelat vòng lớn hữu ích để liên hợp ion kim loại phóng xạ, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ^{131}In, ^{131}LU, ^{131}Y, ^{131}Ho, ^{131}Sm, với polypeptit. Theo một số phương án nhất định, chất tạo chelat vòng lớn là axit 1,4,7,10-tetraazaxyclododecan-N,N',N'',N'''-tetraxetic (DOTA) có thể được gắn vào kháng thể thông qua phân tử liên kết. Phân tử liên kết này thường đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và được mô tả, ví dụ, trong Denardo *et al.*, 1998, *Clin Cancer Res.* 4(10):2483-90; Peterson *et al.*, 1999, *Bioconjug. Chem.* 10(4):553-7; và Zimmerman *et al.*, 1999, *Nucl. Med. Biol.* 26(8):943-50.

Hơn nữa, kháng thể nêu trong bản mô tả này có thể được dung hợp với chỉ thị hoặc trình tự "thẻ", như peptit để tạo điều kiện thuận lợi cho việc tinh chế. Theo các phương án cụ thể, chỉ thị hoặc trình tự axit amin của thẻ là hexa-histidin peptit, như thẻ có trong vectơ pQE (xem, ví dụ, QIAGEN, Inc.), trong số các thẻ khác, nhiều thẻ có thể mua được trên thị trường. Ví dụ, như được mô tả trong Gentz *et al.*, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824, hexa-histidin tạo thuận lợi cho việc tinh chế protein dung hợp. Các thẻ peptit khác hữu ích trong việc tinh chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, thẻ hemagglutinin ("HA"), tương ứng với epitop có nguồn gốc từ protein hemagglutinin của virut cúm (Wilson *et al.*, 1984, Cell 37:767), và thẻ "FLAG".

Phương pháp dung hợp hoặc liên hợp gốc điều trị (bao gồm polypeptit) với kháng thể là đã được biết rõ, (xem, ví dụ, Arnon *et al.*, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", trong Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Reisfeld *et al.* (eds.), trang 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom *et al.*, "Antibodies For Drug Delivery", trong Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson *et al.* (eds.), trang 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", trong Monoclonal Antibodies 84: Biological and Clinical Applications, Pinchera *et al.* (eds.), trang 475-506 (1985); "Analysis, Results, and Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", trong Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin *et al.* (eds.), trang 303-16

(Academic Press 1985), Thorpe *et al.*, 1982, Immunol. Rev. 62:119-58; Patent Mỹ số 5,336,603, 5,622,929, 5,359,046, 5,349,053, 5,447,851, 5,723,125, 5,783,181, 5,908,626, 5,844,095, và 5,112,946; EP 307,434; EP 367,166; EP 394,827; công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 91/06570, WO 96/04388, WO 96/22024, WO 97/34631, và WO 99/04813; Ashkenazi *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88: 10535-10539, 1991; Traunecker *et al.*, Nature, 331:84-86, 1988; Zheng *et al.*, J. Immunol., 154:5590-5600, 1995; Vil *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:11337-11341, 1992).

Protein dung hợp có thể được tạo ra, ví dụ, nhờ các kỹ thuật xáo trộn gen, xáo trộn mô-típ, xáo trộn exon, và/hoặc xáo trộn codon (được gọi chung là "xáo trộn ADN"). Kỹ thuật xáo trộn ADN có thể được sử dụng để làm thay đổi các hoạt tính của kháng thể kháng beta klotho như được nêu trong bản mô tả này, bao gồm, ví dụ, kháng thể có ái lực cao hơn và tốc độ phân ly thấp hơn (xem, ví dụ, Patent Mỹ số 5,605,793, 5,811,238, 5,830,721, 5,834,252, và 5,837,458; Patten *et al.*, 1997, Curr. Opinion Biotechnol. 8:724-33; Harayama, 1998, Trends Biotechnol. 16(2):76-82; Hansson *et al.*, 1999, J. Mol. Biol. 287:265-76; và Lorenzo and Blasco, 1998, Biotechniques 24(2):308- 313). Các kháng thể, hoặc kháng thể được mã hóa, có thể được làm thay đổi bằng cách đưa vào đột biến ngẫu nhiên bằng PCR tạo lỗi ngẫu nhiên, cải biến xen vào nucleotit ngẫu nhiên hoặc các phương pháp khác trước khi tái tổ hợp. Polynucleotit mã hóa kháng thể nêu trong bản mô tả này có thể được tái tổ hợp với một hoặc nhiều thành phần, mô-típ, đoạn, phần, miền, mảnh, *v.v.*. của một hoặc nhiều phân tử khác loại.

Kháng thể nêu trong bản mô tả này còn có thể được liên hợp với kháng thể thứ hai để tạo ra liên hợp kháng thể khác loại như được mô tả, ví dụ, trong Patent Mỹ số 4,676,980.

Gốc điều trị hoặc dược chất được liên hợp hoặc được dung hợp bằng phương pháp tái tổ hợp với kháng thể nêu trong bản mô tả này mà gắn kết với beta klotho (ví dụ, polypeptit beta klotho, mảnh, epitop) nên được chọn để đạt được (các) tác dụng phòng ngừa hoặc điều trị bệnh mong muốn. Theo một số phương án nhất định, kháng thể này là kháng thể được cải biến. Nhà lâm sàng học hoặc chuyên viên y tế khác có thể cân nhắc, ví dụ, các yếu tố sau khi quyết định gốc điều trị hoặc dược chất để liên hợp hoặc dung hợp bằng phương pháp tái tổ hợp với kháng thể nêu trong bản mô tả này: bản chất của bệnh, mức độ nghiêm trọng của bệnh, và tình trạng của đối tượng.

Kháng thể gắn kết với beta klotho như nêu trong bản mô tả này còn có thể được gắn vào giá đỡ dạng rắn (giá thể rắn), đặc biệt hữu ích cho thử nghiệm miễn dịch hoặc tinh chế kháng nguyên đích. Giá đỡ dạng rắn này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, thủy tinh, xenluloza, polyacrylamit, nylon, polystyren, polyvinyl clorua hoặc polypropylen.

Chất liên kết có thể là "chất liên kết phân tách được" tạo điều kiện cho việc giải phóng chất được liên hợp trong tế bào, nhưng chất liên kết không phân tách được cũng được dự định trong bản mô tả này. Chất liên kết để sử dụng trong thể liên hợp theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chất liên kết không bền axit (ví dụ, chất liên kết hydrazon), chất liên kết chứa disulfua, chất liên kết nhạy peptidaza (ví dụ, chất liên kết peptit chứa axit amin, ví dụ, valin và/hoặc xitrulin như xitrulin-valin hoặc phenylalanin-lysin), chất liên kết nhạy quang, chất liên kết dimetyl (xem, ví dụ, Chari *et al.*, *Cancer Research* 52:127-131 (1992); Patent Mỹ số 5,208,020), chất liên kết thioete, hoặc chất liên kết ưa nước được thiết kế để tránh sự kháng qua trung gian chất vận chuyển nhiều dược chất (xem, ví dụ, Kovtun *et al.*, *Cancer Res.* 70: 2528-2537, 2010).

Thể liên hợp của kháng thể và chất có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các chất kết hợp protein hai chức năng khác nhau như BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, sulfo-EMCS, sulfo-GMBS, sulfo-KMUS, sulfo-MBS, sulfo-SIAB, sulfo-SMCC, và sulfo-SMPB, và SVSB (sucxinimidyl-(4-vinylsulfon)benzoat). Sáng chế còn đề cập đến thể liên hợp của kháng thể và chất có thể được điều chế bằng cách sử dụng phương pháp thích hợp bất kỳ như được bộc lộ trong lĩnh vực kỹ thuật này, (xem, ví dụ, trong *Bioconjugate Techniques*, 2nd Ed., G.T. Hermanson, ed., Elsevier, San Francisco, 2008).

Các chiến lược liên hợp thông thường cho kháng thể và chất dựa trên hóa học liên hợp ngẫu nhiên bao gồm nhóm ε-amino của gốc Lys hoặc nhóm thiol của gốc Cys, thu được các thể liên hợp khác loại. Các kỹ thuật phát triển gần đây cho phép liên hợp đặc hiệu điểm với kháng thể, dẫn đến việc tải nạp đồng nhất và tránh liên hợp các quần thể con có khả năng gắn kết với kháng nguyên hoặc dược động học thay đổi. Các kỹ thuật này bao gồm thao tác "thiomab" chứa các cải biến thay thế xystein ở các vị trí trên chuỗi nặng và chuỗi nhẹ tạo ra nhóm thiol phản ứng và không phá vỡ việc gập (gấp nếp) và lắp ráp globulin miễn dịch hoặc thay đổi khả năng gắn kết kháng nguyên (xem, ví dụ, Junutula *et al.*, *J. Immunol. Meth.* 332: 41-52 (2008); Junutula *et al.*, *Nat.*

Biotechnol. 26: 925-932, 2008). Trong một phương pháp khác, selenoxystein được xen vào trình tự kháng thể theo cách dịch mã đồng thời bằng cách mã hóa lại codon kết thúc UGA từ đầu tận cùng để xen selenoxystein vào, cho phép liên hợp cộng hóa trị đặc hiệu điểm ở nhóm selenol ưa nhân của selenoxystein khi có mặt các axit amin tự nhiên khác (xem, ví dụ, Hofer *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 12451-12456 (2008); Hofer *et al.*, *Biochemistry* 48(50): 12047-12057, 2009).

Dược phẩm

Kháng thể kháng beta klotho theo sáng chế có thể được dùng theo đường bất kỳ thích hợp với tình trạng bệnh lý cần điều trị. Kháng thể này thường được dùng ngoài đường tiêu hóa, ví dụ, truyền, dưới da, trong cơ, trong tĩnh mạch, trong da, nội tủy mạc và ngoài màng cứng. Liều kháng thể sẽ thay đổi, phụ thuộc vào bản chất và/hoặc mức độ nghiêm trọng của bệnh cũng như tình trạng bệnh lý của đối tượng, có thể bao gồm liều nằm trong khoảng từ 1mg đến 100mg. Các liều này cũng có thể nằm trong khoảng từ 1mg/kg đến 15mg/kg. Theo một số phương án, liều này nằm trong khoảng từ 5mg/kg đến 7,5mg/kg. Theo một số phương án, liều này khoảng 5mg/kg. Theo một số phương án, liều này khoảng 7,5mg/kg. Liều lượng đồng loạt được chọn từ nhóm bao gồm: (a) 375-400 mg mỗi hai tuần và (b) 550-600 mg mỗi ba tuần. Theo một số phương án, liều lượng đồng loạt là 375-400 mg mỗi hai tuần. Theo một số phương án, liều lượng đồng loạt là 550-600 mg mỗi ba tuần. Theo một số phương án, liều lượng đồng loạt là 400 mg mỗi hai tuần. Theo một số phương án, liều lượng đồng loạt là 600 mg mỗi ba tuần. Theo một số phương án về việc định liều tuần tự, mỗi liều thứ nhất và liều thứ hai nằm trong khoảng từ 1mg/kg đến 15mg/kg với liều thứ hai sau liều thứ nhất từ 1 đến 4 tuần. Theo một số phương án, mỗi liều thứ nhất và liều thứ hai nằm trong khoảng từ 5mg/kg đến 7,5mg/kg và liều thứ hai sau liều thứ nhất từ 2 đến 3 tuần. Theo một số phương án, mỗi liều thứ nhất và liều thứ hai bằng 5mg/kg và liều thứ hai sau liều thứ nhất 2 tuần. Theo một số phương án, mỗi liều thứ nhất và liều thứ hai bằng 7,5mg/kg và liều thứ hai sau liều thứ nhất 3 tuần.

Để điều trị bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý, kháng thể theo một số phương án được dùng bằng cách truyền trong tĩnh mạch. Liều lượng được dùng bằng cách truyền nằm trong khoảng từ 1μg/m^2 đến khoảng 10.000μg/m^2 mỗi liều, thường là một liều trong mỗi tuần đối với tổng cộng một, hai, ba hoặc bốn liều. Theo cách khác, liều lượng nằm trong khoảng từ 1μg/m^2 đến khoảng 1000μg/m^2, khoảng 1μg/m^2 đến khoảng 800μg/m^2, khoảng 1μg/m^2 đến khoảng 600μg/m^2, khoảng 1μg/m^2 đến khoảng

400µg/m^2; theo cách khác, khoảng 10µg/m^2 đến khoảng 500µg/m^2, khoảng 10µg/m^2 đến khoảng 300µg/m^2, khoảng 10µg/m^2 đến khoảng 200µg/m^2, và khoảng 1µg/m^2 đến khoảng 200µg/m^2. Liều này có thể được dùng một lần mỗi ngày, một lần mỗi tuần, nhiều lần mỗi tuần, nhưng ít hơn một lần mỗi ngày, nhiều lần mỗi tháng nhưng ít hơn một lần mỗi ngày, nhiều lần mỗi tháng nhưng ít hơn một lần mỗi tuần, một lần mỗi tháng hoặc không liên tục để làm dịu hoặc làm giảm các triệu chứng của bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh lý. Có thể tiếp tục dùng ở khoảng cách bất kỳ trong các khoảng cách được bộc lộ cho đến khi cải thiện được bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý, hoặc cải thiện được các triệu chứng của bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý được điều trị. Có thể tiếp tục dùng sau khi đạt được hiệu quả làm giảm hoặc làm dịu các triệu chứng khi việc làm giảm hoặc làm dịu này được kéo dài do tiếp tục dùng như vậy.

Theo một khía cạnh, sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa ít nhất một kháng thể kháng beta klotho theo sáng chế. Theo một số phương án, dược phẩm chứa 1) kháng thể kháng beta klotho, và 2) chất mang dược dụng. Theo một số phương án, dược phẩm chứa 1) kháng thể kháng beta klotho và/hoặc thể liên hợp miễn dịch của nó, và tùy ý, 2) ít nhất một chất điều trị bệnh bổ sung.

Dược phẩm chứa kháng thể được bào chế để bảo quản bằng cách trộn kháng thể có độ tinh khiết mong muốn với chất mang, tá dược hoặc chất ổn định chấp nhận được về mặt sinh lý tùy ý (xem, ví dụ, Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)) dưới dạng dung dịch chứa nước hoặc dược phẩm được làm khô lạnh chân không hoặc được làm khô khác. Các dược phẩm trong bản mô tả này còn có thể chứa nhiều hơn một hợp chất hoạt tính nếu cần cho chỉ định cụ thể được điều trị, tốt hơn là các hợp chất có hoạt tính bổ sung mà không gây ảnh hưởng bất lợi cho nhau. Ví dụ, ngoài kháng thể kháng beta klotho, có thể muốn có trong một dược phẩm, kháng thể bổ sung, ví dụ, kháng thể kháng beta klotho thứ hai gắn kết epitop khác trên polypeptit beta klotho, hoặc kháng thể với một số đích khác. Theo cách khác, hoặc ngoài ra, dược phẩm còn có thể chứa một chất khác, bao gồm, ví dụ, chất hóa trị, chất gây độc tế bào, xytokin, chất ức chế sinh trưởng, chất kháng hormon, và/hoặc chất bảo vệ tim. Theo một số phương án, dược phẩm chứa chất alkyl hóa (ví dụ, clorambuxil, bendamustin hydroclorua hoặc xyclophosphamit), chất tương tự nucleosit (ví dụ, fludurabin, pentostatin, cladribin hoặc xytarabin), corticosteroit (ví dụ, prednison, prednisolon hoặc metylprednisolon), chất điều biến miễn dịch (ví dụ,

lenalidomit), kháng sinh (ví dụ, doxorubixin, daunorubixin idarubixin hoặc mitoxentron), flavon tổng hợp (ví dụ, flavopiridol), chất đối kháng Bcl2, (ví dụ, oblimersen hoặc ABT-263), chất hypometyl hóa (ví dụ, azaxytidin hoặc dexitabin), chất ức chế FLT3 (ví dụ, midostaurin, sorafenib và AC220). Các phân tử này có mặt một cách thích hợp trong tổ hợp với lượng hữu hiệu cho mục đích dự định.

Kháng thể theo sáng chế có thể được phối trộn ở dạng thích hợp bất kỳ để phân phối đến tế bào đích/mô đích, ví dụ, dưới dạng vi nang hoặc đại nhũ tương (Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 16th edition, Osol, A. Ed. (1980); Park *et al.*, *Molecules* 10: 146-161 (2005); Malik *et al.*, *Curr. Drug. Deliv.* 4: 141-151 (2007)); ở dạng dược phẩm giải phóng duy trì (Putney and Burke, *Nature Biotechnol.* 16: 153-157, (1998)) hoặc trong liposom (Maclean *et al.*, *Int. J. Oncol.* 11: 235-332 (1997); Kontermann, *Curr. Opin. Mol. Ther.* 8: 39-45 (2006)).

Kháng thể nêu trong bản mô tả này còn có thể được bẫy trong vi nang được điều chế, ví dụ, bằng kỹ thuật tụ giọt hoặc bằng cách polyme hóa bề mặt chung, ví dụ, vi nang hydroxymetylxenluloza hoặc gelatin và vi nang poly-(metylmetacylat), một cách tương ứng, trong hệ phân phối thuốc dạng keo (ví dụ, liposom, vi cầu albumin, vi nhũ tương, hạt nano và nang nano) hoặc trong đại nhũ tương. Các kỹ thuật này được bộc lộ, ví dụ, trong Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA.

Các hệ phân phối khác nhau đã được biết và có thể được sử dụng để dùng chất phòng ngừa hoặc chất điều trị bệnh (ví dụ, kháng thể gắn kết với beta klotho như được mô tả trong bản mô tả này), bao gồm, nhưng không giới hạn ở, bao nang trong liposom, vi hạt, vi nang, tế bào tái tổ hợp có khả năng biểu hiện kháng thể, nhập bào qua trung gian thụ thể (xem, ví dụ, Wu and Wu, J. Biol. Chem. 262:4429-4432 (1987)), tạo cấu trúc axit nucleic dưới dạng một phần của retrovirut hoặc vectơ khác, v.v.. Theo một phương án khác, chất phòng ngừa hoặc chất điều trị bệnh, hoặc dược phẩm nêu trong bản mô tả này có thể được phân phối trong hệ giải phóng có kiểm soát hoặc giải phóng duy trì. Theo một phương án, bơm có thể được sử dụng để có được sự giải phóng có kiểm soát hoặc giải phóng duy trì (xem, ví dụ, Langer, trên đây; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:20; Buchwald *et al.*, 1980, Surgery 88:507; Saudek *et al.*, 1989, N. Engl. J. Med. 321:574). Theo một phương án khác, vật liệu polyme có thể được sử dụng để có được sự giải phóng có kiểm soát hoặc giải phóng duy trì của chất phòng ngừa hoặc chất điều trị bệnh (ví dụ, kháng thể gắn kết với beta klotho như được

mô tả trong bản mô tả này) hoặc dược phẩm theo sáng chế (xem, ví dụ, Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Florida (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, 1983, J., Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61; xem cả trong *Levy et al.*, 1985, Science 228:190; During et al., 1989, Ann. Neurol. 25:351; Howard et al., 1989, J. Neurosurg. 7 1:105); Patent Mỹ số 5,679,377; Patent Mỹ số 5,916,597; Patent Mỹ số 5,912,015; Patent Mỹ số 5,989,463; Patent Mỹ số 5,128,326; công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 99/15154; và công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 99/20253). Các ví dụ về polyme được sử dụng trong dược phẩm giải phóng duy trì bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, poly(2-hydroxy etyl metacrylat), poly(metyl metacrylat), poly(axit acrylic), poly(etylen-co-vinyl axetat), poly(axit metacrylic), polyglycolit (PLG), polyanhydrit, poly(N-vinyl pyrolidon), poly(rượu vinylic), polyacrylamit, poly(etylen glycol), polylactit (PLA), poly(lactit-co-glycolit) (PLGA), và polyorthoeste. Theo một phương án, polyme được sử dụng trong dược phẩm giải phóng duy trì là polyme trơ, không có tạp chất ngâm chiết được, ổn định khi bảo quản, vô trùng, và thoái biến sinh học (được vi sinh vật phân hủy).

Theo một phương án khác nữa, hệ giải phóng có kiểm soát hoặc giải phóng duy trì có thể được đặt ở gần đích điều trị, ví dụ, hốc mũi hoặc phổi, do đó chỉ cần một phần liều lượng toàn thân (xem, ví dụ, Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, trên đây, vol. 2, trang 115-138 (1984)). Hệ giải phóng có kiểm soát được mô tả, ví dụ, bởi Langer (1990, Science 249:1527-1533). Kỹ thuật bất kỳ đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể được sử dụng để sản xuất dược phẩm giải phóng duy trì chứa một hoặc nhiều kháng thể gắn kết với beta klotho như được mô tả trong bản mô tả này. (xem, ví dụ, Patent Mỹ số 4,526,938, công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế số WO 91/05548, công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế số WO 96/20698, Ning et al., 1996, "Intratumoral Radioimmunotherapy of a Human Colon Cancer Xenograft Using a Sustained-Release Gel," Radiotherapy & Oncology 39:179- 189, Song et al., 1995, "Antibody Mediated Lung Targeting of Long-Circulating Emulsions," PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology 50:372-397, Cleek et al., 1997, "Biodegradable Polymeric Carriers for a bFGF Antibody for Cardiovascular Application," Pro. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 24:853-854, và Lam et al., 1997, "Microencapsulation of

Recombinant Humanized Monoclonal Antibody for Local Delivery," Proc. Int'l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater. 24:759-760).

Phương pháp điều trị

Kháng thể theo sáng chế có thể được sử dụng trong phương pháp điều trị, ví dụ, *in vitro*, *ex vivo*, và *in vivo*. Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh lý, *in vivo* hoặc *in vitro*, phương pháp này bao gồm bước cho tế bào tiếp xúc với kháng thể kháng beta klotho.

Theo một khía cạnh, kháng thể theo sáng chế được sử dụng để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh lý, bao gồm, ví dụ, bệnh đái tháo đường typ 2, bệnh béo phì, rối loạn mỡ máu, NASH, bệnh tim mạch, hội chứng chuyển hóa hoặc nói chung là bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý bất kỳ trong đó mong muốn bắt chước hoặc làm tăng tác dụng *in vivo* của FGF19 và/hoặc FGF21.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý bao gồm bước cho cá thể dùng lượng hữu hiệu của kháng thể kháng beta klotho hoặc mảnh của nó. Theo một số phương án nhất định, phương pháp điều trị bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh lý bao gồm bước cho cá thể dùng lượng hữu hiệu của dược phẩm chứa kháng thể kháng beta klotho và, tùy ý, ít nhất một chất điều trị bệnh bổ sung, như các chất được mô tả trong bản mô tả này.

Kháng thể kháng beta klotho hoặc mảnh của nó có thể được dùng cho người nhằm mục đích điều trị. Hơn nữa, kháng thể kháng beta klotho hoặc mảnh của nó có thể được dùng cho động vật có vú không phải người biểu hiện beta klotho phản ứng chéo với kháng thể (ví dụ, động vật linh trưởng, lợn, chuột cống, hoặc chuột nhắt) nhằm mục đích thú y hoặc ở dạng mô hình động vật đối với bệnh ở người. Liên quan đến bệnh ở người, mô hình động vật như vậy có thể hữu ích để đánh giá hiệu quả điều trị của kháng thể theo sáng chế (ví dụ, thử nghiệm về liều lượng và khoảng thời gian dùng).

Kháng thể theo sáng chế có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với các chế phẩm khác trong liệu pháp. Ví dụ, kháng thể kháng beta klotho theo sáng chế có thể được dùng đồng thời với ít nhất một chất điều trị bệnh bổ sung và/hoặc chất bổ trợ. Theo một số phương án, hợp chất bổ sung là kháng thể điều trị khác với kháng thể kháng beta klotho.

Các liệu pháp kết hợp được lưu ý trên đây bao gồm việc dùng kết hợp (trong đó hai hoặc nhiều chất điều trị bệnh được bao gồm trong cùng một dược phẩm hoặc các dược phẩm riêng rẽ), và dùng riêng rẽ, trong trường hợp này, việc dùng kháng thể kháng beta klotho hoặc mảnh của nó theo sáng chế có thể xảy ra trước khi, đồng thời, và/hoặc sau khi, dùng chất điều trị bệnh bổ sung và/hoặc chất bổ trợ. Kháng thể theo sáng chế còn có thể được sử dụng kết hợp với chế độ điều trị bổ sung bao gồm, nhưng không giới hạn, các chế độ được mô tả trong bản mô tả này.

Kháng thể theo sáng chế (và chất điều trị bệnh bổ sung hoặc chất bổ trợ bất kỳ) có thể được dùng bằng cách thích hợp bất kỳ, bao gồm dùng ngoài đường tiêu hóa, dưới da, trong màng bụng, trong phổi, và trong mũi, và, nếu muốn để điều trị cục bộ, dùng trong thương tổn. Việc truyền ngoài đường tiêu hóa bao gồm dùng trong cơ, trong tĩnh mạch, trong động mạch, trong màng bụng, hoặc dưới da. Ngoài ra, kháng thể hoặc thể liên hợp được dùng một cách thích hợp bằng cách truyền trong mạch, đặc biệt là với liều kháng thể hoặc mảnh kháng thể giảm. Việc định liều có thể là bằng đường thích hợp bất kỳ, ví dụ, bằng cách tiêm, như tiêm trong tĩnh mạch hoặc tiêm dưới da, phụ thuộc một phần vào việc dùng là ngắn hạn hoặc lâu dài.

Kháng thể theo sáng chế được bào chế, định liều, và được dùng theo cách thích hợp với thực hành tốt khám chữa bệnh dành cho bác sỹ. Các yếu tố cần cân nhắc trong ngữ cảnh này bao gồm rối loạn được điều trị cụ thể, động vật có vú cụ thể được điều trị, tình trạng lâm sàng của bệnh nhân cụ thể, nguyên nhân rối loạn, vị trí phân phối chất, phương pháp dùng, chế độ dùng, và các yếu tố khác đã biết đối với bác sĩ. Kháng thể kháng beta klotho không cần thiết, nhưng tùy ý được phối trộn với một hoặc nhiều chất hiện được sử dụng để ngăn ngừa hoặc điều trị rối loạn đang quan tâm. Lượng hữu hiệu của các chất khác như vậy phụ thuộc vào lượng kháng thể hoặc thể liên hợp miễn dịch có trong dược phẩm, loại rối loạn hoặc điều trị, và các yếu tố khác nêu trên. Các chất này thường được sử dụng ở các liều lượng giống nhau và bằng các đường dùng như được mô tả trong bản mô tả này, hoặc nằm trong khoảng từ 1 đến 99% liều lượng được mô tả trong bản mô tả này, hoặc ở liều lượng bất kỳ và bằng đường dùng bất kỳ được xác định theo kinh nghiệm/lâm sàng là thích hợp.

Để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh lý, liều lượng thích hợp của kháng thể kháng beta klotho theo sáng chế (khi được sử dụng một mình hoặc kết hợp với một hoặc nhiều chất điều trị bệnh bổ sung khác, như các chất được mô tả trong bản mô tả này) sẽ phụ thuộc vào loại bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh

lý, cần được điều trị, loại kháng thể, mức độ nghiêm trọng và tiến trình của bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh lý, việc kháng thể được dùng nhằm mục đích ngăn ngừa hay điều trị bệnh, liệu pháp trước đó, tiền sử lâm sàng của bệnh nhân và đáp ứng với kháng thể, và sự thận trọng của bác sĩ chính. Kháng thể kháng beta klotho được dùng một cách thích hợp cho bệnh nhân tại một thời điểm hoặc trong hàng loạt lần điều trị. Phụ thuộc vào loại và mức độ nghiêm trọng của bệnh, kháng thể với lượng nằm trong khoảng từ 1µg/kg đến 100mg/kg (ví dụ, 0,1mg/kg-20mg/kg, 1mg/kg-15mg/kg, v.v..) có thể là liều lượng dự phòng ban đầu để dùng cho bệnh nhân, bất kể, ví dụ, bằng một hoặc nhiều lần dùng riêng rẽ, hoặc bằng cách truyền liên tục. Một liều lượng hằng ngày điển hình có thể nằm trong khoảng từ 1µg/kg đến 100mg/kg hoặc nhiều hơn, phụ thuộc vào các yếu tố nêu trên. Để dùng lặp lại trong một vài ngày hoặc lâu hơn, phụ thuộc vào tình trạng bệnh lý, việc điều trị thường được duy trì cho đến khi xuất hiện sự ức chế mong muốn các triệu chứng của bệnh. Liều lượng được lấy làm ví dụ của kháng thể có thể nằm trong khoảng từ 0,05mg/kg đến khoảng 10,0mg/kg. Do đó, một hoặc nhiều liều lượng bằng khoảng 0,5mg/kg, 1,0mg/kg, 2,0mg/kg, 3,0mg/kg, 4,0mg/kg, 5,0mg/kg, 6,0mg/kg, 7,0mg/kg, 8,0mg/kg, 9,0mg/kg, hoặc 10,0mg/kg (hoặc tổ hợp bất kỳ của chúng) của kháng thể có thể được dùng cho bệnh nhân. Các liều này có thể được dùng không liên tục, ví dụ, hằng tuần hoặc mỗi ba tuần (ví dụ, sao cho bệnh nhân nhận từ khoảng hai đến khoảng hai mươi, hoặc ví dụ, khoảng sáu liều kháng thể). Liều tải nạp ban đầu cao hơn, sau đó một hoặc nhiều liều thấp hơn có thể được dùng. Chế độ định liều được lấy làm ví dụ bao gồm việc dùng liều tải nạp ban đầu, sau đó là liều duy trì (ví dụ, hằng tuần) của kháng thể. Liều tải nạp ban đầu có thể lớn hơn so với liều duy trì. Tuy nhiên, các chế độ liều lượng khác có thể hữu ích. Tiến trình của liệu pháp này dễ dàng được theo dõi bởi các kỹ thuật và thử nghiệm thông thường.

Phương pháp chẩn đoán và phương pháp phát hiện

Theo một khía cạnh, kháng thể kháng beta klotho và các mảnh của nó theo sáng chế hữu ích để phát hiện sự có mặt của beta klotho trong mẫu sinh học. Kháng thể kháng beta klotho này có thể bao gồm kháng thể gắn kết với beta klotho của người và/hoặc của khỉ cyno, nhưng không tạo ra hoạt tính truyền tín hiệu giống FGF19 và/hoặc truyền tín hiệu giống FGF21. Thuật ngữ "phát hiện" như được sử dụng trong bản mô tả này bao gồm việc phát hiện về lượng hoặc về chất. Theo một số phương án nhất định, mẫu sinh học bao gồm tế bào hoặc mô.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp phát hiện sự có mặt của beta klotho trong mẫu sinh học. Theo một số phương án nhất định, phương pháp này bao gồm bước cho mẫu sinh học tiếp xúc với kháng thể kháng beta klotho trong các điều kiện cho phép kháng thể kháng beta klotho gắn kết với beta klotho, và phát hiện liệu phức hợp có được tạo ra giữa kháng thể kháng beta klotho và beta klotho hay không.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp chẩn đoán rối loạn liên quan đến sự biểu hiện beta klotho. Theo một số phương án nhất định, phương pháp này bao gồm bước cho tế bào thử nghiệm tiếp xúc với kháng thể kháng beta klotho; xác định mức độ biểu hiện (về lượng hoặc về chất) của beta klotho bởi tế bào thử nghiệm bằng cách phát hiện sự gắn kết của kháng thể kháng beta klotho với beta klotho; và so sánh mức độ biểu hiện của beta klotho bởi tế bào thử nghiệm với mức độ biểu hiện của beta klotho bởi tế bào đối chứng (ví dụ, tế bào bình thường của gốc mô giống như tế bào thử nghiệm hoặc tế bào biểu hiện beta klotho ở mức độ tương đương với tế bào bình thường này), trong đó mức độ biểu hiện của beta klotho bởi tế bào thử nghiệm cao hơn so với tế bào đối chứng chỉ ra sự có mặt của rối loạn liên quan đến mức độ biểu hiện gia tăng của beta klotho. Theo một số phương án nhất định, tế bào thử nghiệm thu được từ cá thể bị nghi ngờ có bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý liên quan đến sự biểu hiện beta klotho và/hoặc bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý trong đó mong muốn sao chép hoặc làm tăng tác dụng *in vivo* của FGF19 và/hoặc FGF21. Theo một số phương án nhất định, bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý là, ví dụ, bệnh đái tháo đường typ 2, bệnh béo phì, rối loạn mỡ máu, NASH, bệnh tim mạch hoặc hội chứng chuyển hóa. Các bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý được lấy làm ví dụ như vậy có thể được chẩn đoán bằng cách sử dụng kháng thể kháng beta klotho theo sáng chế.

Theo một số phương án nhất định, phương pháp chẩn đoán hoặc phát hiện, như các phương pháp được mô tả trên đây, bao gồm bước phát hiện kháng thể kháng beta klotho gắn kết với beta klotho được biểu hiện trên bề mặt của tế bào hoặc trong chế phẩm màng thu được từ tế bào biểu hiện beta klotho trên bề mặt của nó. Theo một số phương án nhất định, phương pháp này bao gồm bước cho tế bào này tiếp xúc với kháng thể kháng beta klotho trong các điều kiện cho phép kháng thể kháng beta klotho gắn kết với beta klotho, và phát hiện liệu rằng phức hợp giữa kháng thể kháng beta klotho và beta klotho trên bề mặt tế bào có được tạo ra hay không. Thử nghiệm được

lấy làm ví dụ để phát hiện sự gắn kết của kháng thể kháng beta klotho với beta klotho được biểu hiện beta klotho trên bề mặt của tế bào là thử nghiệm "FACS".

Một số phương án nhất định khác có thể được sử dụng để phát hiện ra sự gắn kết của kháng thể kháng beta klotho với beta klotho. Các phương pháp này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, thử nghiệm gắn kết kháng nguyên đã được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này, như thẩm tách tây, thử nghiệm miễn dịch phóng xạ, ELISA (thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzym), thử nghiệm miễn dịch "kẹp giữa", thử nghiệm kết tủa miễn dịch, thử nghiệm miễn dịch huỳnh quang, thử nghiệm miễn dịch protein A, và hóa mô miễn dịch (IHC).

Theo một số phương án nhất định, kháng thể kháng beta klotho được đánh dấu. Các nhãn đánh dấu bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các nhãn đánh dấu hoặc gốc được phát hiện trực tiếp (như nhãn đánh dấu huỳnh quang, mang màu, đặc electron, phát quang hóa học, và có hoạt tính phóng xạ), cũng như các gốc, như enzym hoặc phối tử, được phát hiện gián tiếp, ví dụ, thông qua phản ứng enzym hoặc tương tác phân tử. Các nhãn đánh dấu được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, đồng vị phóng xạ ^{32}P, ^{14}C, ^{125}I, ^{3}H, và ^{131}I, chất huỳnh quang như chelat đất hiếm hoặc floresxein và các dẫn xuất của nó, rodamin và các dẫn xuất của nó, dansyl, umbeliferon, luxeriferaza, ví dụ, luxiferaza đom đóm và luxiferaza vi khuẩn (xem, ví dụ, Patent Mỹ số 4,737,456), luxiferin, 2,3-dihydrophtalazindion, peroxidaza cải ngựa (HRP), kiềm phosphataza, β-galactosidaza, glucoamylaza, lysozym, sacarit oxidaza, ví dụ, glucoza oxidaza, galactoza oxidaza, và glucoza-6-phosphat dehydrogenaza, oxidaza dị vòng như uricaza và xanthin oxidaza, được kết hợp với enzym sử dụng hydro peroxit để oxy hóa tiền chất nhuộm như HRP, lactoperoxidaza, hoặc microperoxidaza, biotin/avidin, nhãn đánh dấu spin, nhãn đánh dấu thực khuẩn thể, gốc tự do ổn định, và dạng tương tự.

Theo một số phương án nhất định, kháng thể kháng beta klotho được cố định trên chất nền không tan. Việc cố định gây ra việc tách kháng thể kháng beta klotho khỏi beta klotho bất kỳ vẫn tự do trong dung dịch. Quá trình này thường được hoàn thành bằng cách không hòa tan kháng thể kháng beta klotho trước quy trình thử nghiệm, như bằng cách hấp phụ lên chất nền hoặc bề mặt không tan trong nước (xem, ví dụ, Bennich *et al.*, U.S. 3,720,760), hoặc bằng cách liên hợp cộng hóa trị (ví dụ, sử dụng liên kết ngang glutaraldehyt), hoặc bằng cách không hòa tan kháng thể kháng

beta klotho sau khi tạo ra phức hợp giữa kháng thể kháng beta klotho và beta klotho, ví dụ, bằng cách kết tủa miễn dịch.

Phương án bất kỳ trong số các phương án về chẩn đoán hoặc phát hiện nêu trên có thể được tiến hành bằng cách sử dụng thể liên hợp miễn dịch theo sáng chế thay thế hoặc ngoài kháng thể kháng beta klotho.

Thử nghiệm

Kháng thể kháng beta klotho theo sáng chế có thể được xác định đặc điểm về tính chất vật lý/tính chất hóa học của nó và/hoặc hoạt tính sinh học bằng các thử nghiệm khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

1. Thử nghiệm hoạt tính

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất các thử nghiệm dùng để nhận biết kháng thể kháng beta klotho của nó có hoạt tính sinh học. Hoạt tính sinh học có thể bao gồm, ví dụ, thử nghiệm đo tác động đến sự chuyển hóa glucoza và/hoặc lipit. Ví dụ, thử nghiệm glucoza huyết có thể được sử dụng. Glucoza huyết (ví dụ, ở vết cắt ở đuôi chuột nhắt hoặc trong mẫu máu người) có thể được xác định bằng cách sử dụng băng mẫu thử ACCU-CHEK Active được đọc bởi máy đo ACCU-CHEK Active (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Ngoài ra, ví dụ, thử nghiệm profin lipit có thể được sử dụng. Máu toàn phần (ví dụ, từ vết cắt ở đuôi chuột nhắt hoặc từ mẫu máu người) có thể được gom vào ống mao dẫn phẳng (BD Clay Adams SurePrep, Becton Dickenson and Co. Sparks, MD). Huyết thanh và tế bào máu có thể được tách bằng cách ly tâm ống trong Autocrit Ultra 3 (Becton Dickinson and Co. Sparks, MD). Các mẫu huyết thanh có thể được thử nghiệm về profin lipit (triglyxerit, tổng cholesterol, HDL, và phi HDL) sử dụng máy phân tích lâm sàng Integra 400 Clinical Analyzer (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

2. Thử nghiệm gắn kết và các thử nghiệm khác

Theo một khía cạnh, kháng thể kháng beta klotho được thử nghiệm về hoạt tính gắn kết kháng nguyên của nó. Ví dụ, theo một số phương án nhất định, kháng thể kháng beta klotho được thử nghiệm về khả năng của nó trong việc gắn kết với beta klotho ngoại sinh hoặc nội sinh được biểu hiện trên bề mặt của tế bào. Thử nghiệm FACS có thể được sử dụng cho thử nghiệm như vậy.

Nhóm kháng thể đơn dòng sản sinh kháng beta klotho có thể được chia nhóm dựa trên các epitiop mà chúng nhận diện, quy trình đã biết là phân loại epitop. Việc phân loại epitop thường được tiến hành bằng cách sử dụng thử nghiệm cạnh tranh, đánh giá khả năng của kháng thể trong việc gắn kết với kháng nguyên khi có mặt một kháng thể khác. Trong thử nghiệm cạnh tranh được lấy làm ví dụ, beta klotho đã cố định được ủ trong dung dịch chứa kháng thể được đánh dấu thứ nhất gắn kết với beta klotho và kháng thể không được đánh dấu thứ hai được thử nghiệm về khả năng của nó trong việc cạnh tranh với kháng thể thứ nhất để gắn kết với beta klotho. Kháng thể thứ hai có thể có trong phần dịch nổi tế bào lai. Để làm đối chứng, beta klotho đã cố định được ủ trong dung dịch chứa kháng thể được đánh dấu thứ nhất nhưng không chứa kháng thể không được đánh dấu thứ hai. Sau khi ủ trong các điều kiện cho phép kháng thể thứ nhất gắn kết với beta klotho, kháng thể không gắn kết dư thừa được loại bỏ, và lượng nhãn đánh dấu liên quan đến beta klotho đã cố định được xác định. Nếu lượng nhãn đánh dấu liên quan đến beta klotho đã cố định hầu như giảm đi trong mẫu thử nghiệm so với mẫu đối chứng, thì chỉ ra rằng kháng thể thứ hai cạnh tranh với kháng thể thứ nhất để gắn kết với beta klotho. Theo một số phương án nhất định, beta klotho đã cố định có trên bề mặt của tế bào hoặc trong chế phẩm màng thu được từ tế bào biểu hiện beta klotho trên bề mặt của nó.

Phương pháp phân loại epitop với công suất cao cũng đã được biết trong lĩnh vực kỹ thuật này (xem, ví dụ, Jia *et al.*, *J. Immunol. Methods* 2004, 288(1-2):91-98, mô tả phương pháp phân loại kháng thể cạnh tranh nhiều thành phần để xác định đặc điểm kháng thể đơn dòng; và Miller *et al.*, *J. Immunol. Methods* 2011, 365(1-2):118-25, mô tả phân loại epitop của kháng thể đơn dòng chuột bằng thử nghiệm ghép cặp nhiều thành phần).

3. Lập bản đồ epitop

Lập bản đồ epitop là quy trình nhận biết vị trí gắn kết, hoặc epitop, của kháng thể trên kháng nguyên protein đích của nó. Epitop của kháng thể có thể là epitop mạch thẳng hoặc epitop có cấu dạng. Epitop mạch thẳng được tạo ra bởi trình tự liên tục của axit amin trong protein. Epitop có cấu dạng được tạo ra từ các axit amin không liên tục trong trình tự protein, nhưng được mang lại gần nhau khi gập protein thành cấu trúc ba chiều của nó.

Các phương pháp khác nhau là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này để lập bản đồ epitop của kháng thể trên kháng nguyên protein đích. Các phương pháp này bao

gồm phương pháp gây đột biến, phương pháp sàng lọc peptit, phương pháp biểu hiện, các phương pháp liên quan và phổ khối, và xác định cấu trúc.

Phương pháp gây đột biến định hướng điểm bao gồm đột biến định hướng điểm được hướng đích khi các axit amin quan trọng được nhận biết bằng cách đưa vào theo hệ thống các cải biến thay thế dọc theo trình tự protein và sau đó xác định tác động của từng cải biến thay thế đến khả năng gắn kết kháng thể. Quá trình này có thể được thực hiện bằng cách "đột biến quét alanin," như được mô tả, ví dụ, trong Cunningham and Wells (1989) *Science* 244: 1081-1085, hoặc một số dạng khác của đột biến điểm của gốc axit amin trong beta klotho của người. Tuy nhiên, các nghiên cứu đột biến còn có thể biểu hiện các gốc axit amin quan trọng đối với tổng thể cấu trúc ba chiều của beta klotho nhưng không liên quan trực tiếp trong tiếp xúc kháng thể-kháng nguyên, và do đó các phương pháp khác có thể cần thiết để xác nhận epitop chức năng được xác định bằng cách sử dụng phương pháp này.

Việc lập bản đồ đột biến bắn ngẫu nhiên sử dụng thư viện plasmit-đột biến toàn diện đối với gen đích, với mỗi dòng vô tính trong thư viện mang đột biến axit amin độc nhất và toàn bộ thư viện bao gồm mọi axit amin trong protein đích. Các dòng vô tính cấu thành thư viện đột biến được bố trí riêng rẽ trong vi đĩa, được biểu hiện trong tế bào động vật có vú sống, và được thử nghiệm khả năng phản ứng miễn dịch với kháng thể nghiên cứu. Axit amin quan trọng với epitop của kháng thể được nhận biết nhờ mất khả năng phản ứng và sau đó được lập bản đồ lên trên cấu trúc protein để quan sát epitop bằng mắt thường. Bằng cách phân tích tự động, bản đồ epitop mới có thể thu được trong vòng vài ngày đến vài tuần. Do nó sử dụng cấu trúc tự nhiên của protein trong tế bào động vật có vú, kỹ thuật này cho phép cả cấu trúc epitop mạch thẳng và có cấu dạng được lập bản đồ trên protein phức tạp. (xem, ví dụ, Paes *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 131(20): 6952-6954 (2009); Banik and Doranz, *Genetic Engineering and Biotechnology News* 3(2): 25-28 (2010)).

Epitop gắn kết với kháng thể kháng beta klotho còn có thể được xác định bằng cách sử dụng phương pháp sàng lọc peptit. Khi sàng lọc peptit, các thư viện của trình tự peptit ngắn từ các đoạn chồng lắp của protein đích, beta klotho, được thử nghiệm về khả năng của chúng trong việc gắn kết các kháng thể nghiên cứu. Peptit được tổng hợp và được sàng lọc để gắn kết, ví dụ, sử dụng ELISA hoặc BIACORE, hoặc trên chíp, bằng phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp sàng lọc pha rắn (xem, ví dụ, Reineke *et al.*, *Curr. Opin. Biotechnol.* 12: 59-64, 2001) như trong phương pháp

"sàng lọc peptit (pepscan)" (xem, ví dụ, WO 84/03564; WO 93/09872). Phương pháp sàng lọc peptit này có thể không có khả năng phát hiện một số epitop chức năng không liên tục, tức là epitop chức năng bao gồm gốc axit amin không liền kề dọc theo trình tự sơ cấp (bậc một) của chuỗi polypeptit beta klotho.

Công nghệ được nghiên cứu gần đây gọi là CLIPS (liên kết hóa học của peptit lên trên giá đỡ) có thể được sử dụng để lập bản đồ epitop có cấu dạng. Các đầu tự do của peptit được cố định lên trên giá đỡ tổng hợp, sao cho peptit được đỡ có thể có khả năng chấp nhận cùng cấu trúc không gian như trình tự tương ứng trong protein nguyên vẹn. Công nghệ CLIPS được sử dụng để cố định peptit mạch thẳng vào cấu trúc vòng (dạng 'một vòng'), và mang lại gần nhau các phần khác nhau của vị trí gắn kết protein (dạng 'hai vòng', 'ba vòng', v.v..), sao cho tạo ra epitop có cấu dạng có thể được thử nghiệm về khả năng gắn kết kháng thể (xem, ví dụ, Patent Mỹ số 7,972,993).

Epitop gắn với kháng thể theo sáng chế còn có thể được lập bản đồ bằng cách sử dụng kỹ thuật biểu hiện, bao gồm, ví dụ, biểu hiện thực khuẩn thể, biểu hiện vi sinh vật, và biểu hiện ribosom/ARN thông tin như được mô tả ở trên. Trong các phương pháp này, các thư viện mảnh peptit được biểu hiện trên bề mặt của thực khuẩn thể hoặc tế bào. Sau đó epitop được lập bản đồ bằng cách sàng lọc mAb kháng các mảnh này bằng cách sử dụng thử nghiệm gắn kết chọn lọc. Một số công cụ vận hành bằng máy tính được phát triển cho phép dự đoán các epitop có cấu dạng dựa trên peptit được chọn lọc ái lực mạch thẳng thu được bằng cách sử dụng kỹ thuật biểu hiện thực khuẩn thể (xem, ví dụ, Mayrose *et al.*, *Bioinformatics* 23: 3244-3246, 2007). Các phương pháp còn sẵn có để phát hiện epitop có cấu dạng bằng cách biểu hiện thực khuẩn thể. Hệ biểu hiện vi sinh vật còn có thể được sử dụng để biểu hiện các mảnh kháng nguyên được gập chính xác trên bề mặt tế bào để nhận biết epitop có cấu dạng (xem, ví dụ, Cochran *et al.*, *J. Immunol. Meth.* 287: 147-158, 2004; Rockberg *et al.*, *Nature Methods* 5: 1039-1045, 2008).

Phương pháp bao gồm phân giải protein và phổ khối còn có thể được sử dụng để xác định epitop của kháng thể (xem, ví dụ, Baerga-Ortiz *et al.*, *Protein Sci.* 2002 June; 11(6): 1300–1308). Trong quá trình phân giải protein hạn chế, kháng nguyên được phân tách bằng các proteaza khác nhau, khi có và khi không có kháng thể, và các mảnh được nhận biết bằng phổ khối. Epitop là vùng chứa kháng nguyên bắt đầu được bảo vệ từ quá trình phân giải protein khi gắn kết kháng thể (xem, ví dụ, Suckau *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:9848-9852, 1990). Phương pháp dựa trên việc phân giải

protein khác bao gồm, ví dụ, cải biến hóa học chọn lọc (xem, ví dụ, Fiedler *et al.*, *Bioconjugate Chemistry* 1998, 9(2): 236-234, 1998), cắt epitop (xem, ví dụ, Van de Water *et al.*, *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1997, 85(3): 229-235, 1997), và phương pháp được phát triển gần đây để trao đổi hydro-đoteri (H/D) (xem, ví dụ, Flanagan, N., *Genetic Engineering and Biotechnology News* 3(2): 25-28, 2010).

Epitop gắn kết với kháng thể theo sáng chế còn có thể được xác định bằng phương pháp cấu trúc, như xác định cấu trúc tinh thể tia X (xem, ví dụ, WO 2005/044853), tạo mô hình phân tử và phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR), bao gồm xác định NMR của tốc độ trao đổi H-D của amit hydro không bền khi tự do và khi được gắn kết trong phức hợp với kháng thể nghiên cứu (xem, ví dụ, Zinn-Justin *et al.* (1992) *Biochemistry* 31:11335-11347; Zinn-Justin *et al.* (1993) *Biochemistry* 32:6884-6891).

Các kháng thể bổ sung gắn kết với epitop giống như kháng thể theo sáng chế có thể thu được, ví dụ, bằng cách sàng lọc các kháng thể sản sinh kháng beta klotho để gắn kết với epitop, bằng cách tạo miễn dịch động vật bằng peptit chứa mảnh beta klotho của người bao gồm trình tự epitop, hoặc bằng cách chọn lọc kháng thể sử dụng kỹ thuật biểu hiện thực khuẩn thể để gắn kết với trình tự epitop. Kháng thể gắn kết với cùng một epitop chức năng có thể được mong đợi biểu hiện các hoạt tính sinh học tương tự, như phong bế hoạt tính sinh học của beta klotho, và các hoạt tính này có thể được xác nhận bằng các thử nghiệm chức năng của kháng thể.

Các thử nghiệm hoạt tính bổ sung

Theo một phương án, kháng thể kháng beta klotho theo sáng chế là kháng thể đối kháng ức chế hoạt tính sinh học của beta klotho. Kháng thể kháng beta klotho theo sáng chế có thể được thử nghiệm để xác định liệu chúng có ức chế hoạt tính sinh học của beta klotho hay không.

Theo một khía cạnh, kháng thể kháng beta klotho tinh khiết có thể được xác định đặc điểm hơn nữa bởi hàng loạt các thử nghiệm bao gồm, nhưng không giới hạn ở, giải trình tự đầu tận cùng N, phân tích axit amin, sắc ký lỏng cao áp loại trừ kích cỡ không biến tính (HPLC), phổ khối, sắc ký trao đổi ion và phân hủy bằng papain.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể được thay đổi có một số nhưng không phải tất cả các chức năng tác động, khiến nó trở thành ứng viên mong muốn cho nhiều ứng dụng trong đó chu kỳ bán rã của kháng thể *in vivo* là quan trọng

nhưng các chức năng tác động nhất định (như bổ thể và ADCC) là không cần thiết hoặc gây hại. Theo một số phương án nhất định, hoạt tính Fc của kháng thể được xác định để đảm bảo rằng chỉ có các tính chất mong muốn được duy trì. Thử nghiệm về tính gây độc tế bào *in vitro* và/hoặc *in vivo* có thể được thực hiện để xác nhận sự giảm/suy kiệt hoạt tính CDC và/hoặc ADCC. Ví dụ, thử nghiệm gắn kết thụ thể Fc (FcR) có thể được thực hiện để đảm bảo rằng kháng thể thiếu khả năng gắn kết FcγR (do đó có thể thiếu hoạt tính ADCC), nhưng vẫn giữ được khả năng gắn kết FcRn. Thử nghiệm *in vitro* để đánh giá hoạt tính ADCC của phân tử nghiên cứu được mô tả, ví dụ, trong Patent Mỹ số 5,500,362 hoặc 5,821,337. Các tế bào tác động hữu ích cho thử nghiệm này bao gồm tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC) và tế bào diệt tự nhiên (NK). Theo một cách khác, hoặc ngoài ra, hoạt tính ADCC của phân tử nghiên cứu có thể được đánh giá *in vivo*, ví dụ, trong mô hình động vật như mô hình được bộc lộ trong Clynes *et al.* PNAS (USA) 95:652-656 (1998). Thử nghiệm gắn kết C1q còn có thể được tiến hành để xác nhận rằng kháng thể không thể gắn kết C1q và do đó thiếu hoạt tính CDC. Để đánh giá mức độ hoạt hóa bổ thể, thử nghiệm CDC, ví dụ, như được mô tả trong Gazzano-Santoro *et al.*, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996), có thể được thực hiện. Việc xác định khả năng gắn kết FcRn và độ thanh thải/chu kỳ bán rã *in vivo* còn có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Mặc dù phần mô tả trên đây được mô tả chi tiết bằng cách minh họa và ví dụ nhằm mục đích hiểu rõ sáng chế, các phần mô tả và ví dụ không nên được hiểu là làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Phần mô tả tất cả các patent và các tài liệu khoa học được trích dẫn trong bản mô tả này được kết hợp toàn bộ chỉ để tham khảo.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây là các ví dụ về phương pháp và chế phẩm theo sáng chế.

Ví dụ 1: Tạo kháng thể đối với Beta Klotho

Kháng thể đối với beta klotho được tạo ra, ví dụ, bằng cách tạo (gây) miễn dịch chuột nhắt (i) bằng các tế bào biểu hiện beta klotho của người (HuKLB) và thụ thể FGF 1c (FGFRIc hoặc RIc) và (ii) bằng HuKLB và protein beta klotho của cynomolgus (cyno KLB).

Ví dụ, tế bào biểu hiện beta klotho được điều chế như sau. Các tế bào 293EXPI (Invitrogen) được đồng chuyển nhiễm tạm thời bằng trình tự axit nucleic mã hóa biến

thể của FGFR1c có đột biến ở vị trí axit amin 623 (xem, ví dụ, SEQ ID NO:308 nhưng có đột biến D623N) và HuKLB (SEQ ID NO:297). Các tế bào được phân tích về sự biểu hiện của R1c và HuKLB bởi các kháng thể đặc hiệu tương ứng bằng FACS. Các tế bào được rửa 2 lần trong PBS, tạo viên bằng cách ly tâm và làm đông trong các ống riêng rẽ ở mật độ 6 x 10^7 tế bào để tạo miễn dịch. Các con vật 129/B6 được tạo miễn dịch với mật độ 1 x 10^7 tế bào bằng chất bổ trợ (Ribi, CpG, và PolyIC). Các con này được tăng cường mỗi 2 tuần trong thời gian cần để kích thích hiệu giá thích hợp. Các con này được tăng cường với protein HuKLB và CyKLB sau 4 lần tăng cường với tế bào 293EXPI biểu hiện quá mức R1c và HuKLB. Các hiệu giá được xác định bằng ELISA và FACS. Các huyền phù tế bào đơn lẻ chứa lympho bào thu được từ lá lách và các hạch bạch huyết dẫn lưu của động vật có hiệu giá thích hợp. Các tế bào được dung hợp với tế bào u tủy SP2/0 với tỷ lệ 1:2 bằng kỹ thuật dung hợp điện. Các tế bào đã được dung hợp được dàn trên đĩa ở mật độ 2,5 x 10^6 tế bào trong mỗi đĩa trong 70µL vào hai mươi bốn đĩa có 384 lỗ khi có chọn lọc HAT. Sau 7 ngày, 50µL phần dịch nổi được loại bỏ và được thay thế bằng môi trường chứa HAT mới. Sau 10 đến 14 ngày nuôi cấy, các phần dịch nổi được gom và được đưa vào sàng lọc bằng FACS bằng cách sử dụng tế bào 293EXPI biểu hiện quá mức R1c và HuKLB hoặc bằng Biacore bằng cách sử dụng protein HuKLB để xác nhận sự gắn kết. Các dòng vô tính dương tiếp tục được chọn lọc và đưa vào tái tạo dòng.

Trong chiến dịch tạo miễn dịch và dung hợp thứ nhất, ít nhất 25 đến 30 đĩa có 384 lỗ được sàng lọc để gắn kết với HuKLB (ví dụ, protein HuKLB và/hoặc tế bào biểu hiện HuKLB). Trong chiến dịch tạo miễn dịch và dung hợp thứ hai, số lượng đĩa tương tự được sàng lọc như được mô tả cho chiến dịch thứ nhất. Hàng nghìn dòng vô tính được sàng lọc và hàng trăm dòng vô tính được chọn lọc để nghiên cứu thêm, bao gồm trong các thử nghiệm về khả năng gắn kết, ái lực và đặc hiệu epitop như được mô tả trong ví dụ 2 và 3. Hàng trăm phần dịch nổi tế bào lai cũng được thử nghiệm trong thử nghiệm chức năng như được mô tả, trong Ví dụ 4 và 5, bao gồm hoạt tính chủ vận tương tự với phối tử của thụ thể FGF FGF19 và/hoặc FGF21 (ví dụ, hoạt tính truyền tín hiệu giống FGF19 và/hoặc FGF21).

Ví dụ 2: Sàng lọc và chọn lọc kháng thể đối với beta klotho

Kháng thể đối với beta klotho được tạo ra từ tế bào lai, ví dụ, như được mô tả trong Ví dụ 1. Các phần dịch nổi tế bào lai được sàng lọc để gắn kết với beta klotho

(ví dụ, beta klotho của người và/hoặc của khỉ cyno) trong thử nghiệm dựa trên FACS và/hoặc thử nghiệm dựa trên Biacore.

Ví dụ, sau 2 tuần nuôi cấy, các phần dịch nổi tế bào lai được sàng lọc để kháng thể đơn dòng gắn kết với beta klotho của người bằng kỹ thuật sàng lọc khả năng gắn kết dựa trên FACS. Nói một cách ngắn gọn, các phần dịch nổi tế bào lai được ủ đồng thời với tế bào biểu hiện quá mức beta klotho của người trong thời gian 30 phút ở nhiệt độ 4°C. Sau khi rửa bằng PBS/1% BSA/0,1% azit, các tế bào biểu hiện quá mức beta klotho của người được ủ đồng thời với kháng Fc chuột nhắt được đánh dấu (Jackson Immunoresearch) trong thời gian 30 phút ở nhiệt độ 4°C. Sau khi rửa bằng PBS/1% BSA/0,1% azit, thu được các tế bào trên máy đếm tế bào theo dòng chảy (FACS Calibur) và được phân tích bằng phần mềm phân tích đếm tế bào (FlowJo). Kháng thể gắn kết là kháng thể cho thấy có sự dịch chuyển từ tế bào chỉ được ủ với kháng Fc chuột nhắt được đánh dấu.

Ví dụ, sau 2 tuần nuôi cấy, các phần dịch nổi tế bào lai được sàng lọc để kháng thể đơn dòng gắn kết với beta klotho của người bằng kỹ thuật sàng lọc khả năng gắn kết dựa trên Biacore. Nói một cách ngắn gọn, kháng thể kháng Fc chuột nhắt (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) được cố định trên tất cả bốn tế bào dòng chảy của chíp CM5 bằng cách sử dụng thuốc thử liên hợp amin (GE Healthcare LifeSciences, Piscataway, NJ). Các phần dịch nổi tế bào lai được pha loãng ba lần với dung dịch đệm PBS-P (PBS chứa P20 0,005%) và được tiêm trong 30 giây trên các tế bào dòng chảy 2, 3 và 4 để bắt kháng thể (tế bào dòng chảy 1 được sử dụng để đối chiếu). Sau quá trình này là quá trình tiêm ngắn beta klotho của người (25nM, R&D Systems, Minneapolis, MN) trong 60 giây ở tốc độ dòng chảy là 30µL/phút để thử nghiệm khả năng gắn kết với kháng thể được bắt trên từng tế bào dòng chảy.

Từ hai chiến dịch tạo miễn dịch và dung hợp như được mô tả trong Ví dụ 1, năm mươi đến sáu mươi đĩa có 384 lỗ chứa các phần dịch nổi tế bào lai được thử nghiệm về khả năng gắn kết bằng FACS và /hoặc Biacore. Từ các thử nghiệm này, khoảng 250 kháng thể được nhận biết là chất liên kết với beta klotho của người. Các kháng thể này được tinh chế và sau đó được thử nghiệm về ái lực gắn kết của chúng với beta klotho của người và beta klotho của khỉ cyno bằng Biacore và hoạt tính chức năng của chúng bằng thử nghiệm thông báo như được mô tả trong Ví dụ 3.

Ngoài ra, thử nghiệm gắn kết/sàng lọc dựa trên Biacore, ái lực gắn kết của kháng thể đối với beta klotho của người và của khỉ cyno được đo. Ví dụ, kháng thể được xếp

theo thứ tự dựa trên ái lực gắn kết của chúng với beta klotho của người và beta klotho của khỉ cyno bằng cách đo K_D phân giải thấp bằng Biacore. Nói một cách ngắn gọn, kháng thể kháng Fc chuột nhắt (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) được cố định trên tất cả bốn tế bào dòng chảy của chíp CM5 bằng cách sử dụng thuốc thử liên hợp amin (GE Healthcare LifeSciences, Piscataway, NJ). Kháng thể đã tinh chế được bắt (~100 RU) trên tế bào dòng chảy 2, 3 và 4 bằng cách sử dụng tế bào dòng chảy 1 để đối chiếu. Sau quá trình này là quá trình tiêm beta klotho của người hoặc khỉ cyno (25nM trong dung dịch đệm PBS-P) ở tốc độ dòng chảy bằng 70µL/phút và theo dõi động học gắn kết ở nhiệt độ 25°C.

Việc đo ái lực gắn kết cũng được thực hiện trong thử nghiệm dựa trên Biacore bổ sung. Ví dụ, việc đo hằng số phân ly (K_D) cân bằng được tiến hành với kháng thể đã tinh chế để đánh giá khả năng gắn kết của chúng với beta klotho của người và beta klotho của khỉ cyno. Như nêu trên, kháng thể kháng Fc chuột nhắt (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) được cố định trên tất cả bốn tế bào dòng chảy của chíp CM5 bằng cách sử dụng thuốc thử liên hợp amin (GE Healthcare LifeSciences, Piscataway, NJ). Kháng thể đã tinh chế được bắt (~100 RU) trên tế bào dòng chảy 2, 3 và 4 sử dụng tế bào dòng chảy 1 để đối chiếu. Sau quá trình này là quá trình tiêm beta klotho của người hoặc khỉ cyno với các nồng độ khác nhau (1,56nM đến 25nM, pha loãng gấp hai lần trong dung dịch đệm PBS-P) ở tốc độ dòng chảy bằng 70µL/phút và động học gắn kết được đánh giá ở nhiệt độ 25°C.

Các kết quả tiêu biểu được thông báo dưới dạng giá trị K_D (nM) như được thể hiện trong bảng 11 dưới đây.

Bảng 11

Ái lực K_D (nM)		
	HuKLB	Cyno KLB
5H23	~ pM	0,72
1C17	0,89	3,1
1D19	1,25	2,9
2L12	0,22	1,42
3L3	1,14	2,2
3N20	3,3	3,52
4P5	0,26	0,44
5F7	1,7	2,5
1G19	N/A	N/A
5C23	1,2	2,4

Ví dụ 3: Sàng lọc và chọn lọc kháng thể đối với beta klotho

Kháng thể được chọn lọc để gắn kết với beta klotho, ví dụ, như được mô tả trong Ví dụ 2, được đánh giá trong thử nghiệm gắn kết cạnh tranh và thử nghiệm phân loại epitop.

Ví dụ, đối với thử nghiệm gắn kết cạnh tranh bằng kỹ thuật phân tích FACS, các kháng thể chuẩn được tạo ra mà được liên hợp với chất nhuộm huỳnh quang bằng cách sử dụng kit đánh dấu kháng thể A488 hoặc A647 (Invitrogen) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Hiệu giá liều lượng của kháng thể chuẩn được liên hợp được đánh giá bằng cách sử dụng tế bào biểu hiện quá mức HuKLB. Trạng thái ổn định của tín hiệu gắn kết kháng thể tối đa là EC=100 và tín hiệu cơ sở là EC=0. Việc cạnh tranh bằng FACS dựa trên kháng thể được đánh dấu chất nhuộm huỳnh quang được thực hiện bằng cách ủ sơ bộ tế bào biểu hiện quá mức HuKLB với các phần dịch nổi tế bào lai trong thời gian 15 phút ở nhiệt độ trong phòng. Không rửa, nồng độ EC=10 của kháng thể chuẩn được đánh dấu A488 hoặc A647 được bổ sung. EC=10 đối với từng kháng thể riêng rẽ được xác định là bằng 10% tín hiệu bằng cách sử dụng tín hiệu tối đa là (100%) và tín hiệu cơ sở là (0%). Sau 30 phút ở nhiệt độ 4°C, các tế bào được rửa và được phân tích bằng FACS. Trong các thử nghiệm này, kháng thể cạnh tranh là kháng thể cho tín hiệu tương đương với quá trình cạnh tranh bằng 5H23. Kháng thể không cạnh tranh là kháng thể cho tín hiệu bằng với kháng thể được đánh dấu một mình. Kháng thể cạnh tranh một phần là một mẫu cho tín hiệu giữa kháng thể được đánh dấu một mình và nền. Kháng thể cho thấy sự cạnh tranh hoàn toàn dựa trên cùng một kháng thể chuẩn được coi là ở trong cùng một ngăn (thùng, nhóm).

Trong thử nghiệm gắn kết cạnh tranh được lấy làm ví dụ bằng FACS, kháng thể 5H23 hoặc 3I13 lần lượt được sử dụng làm kháng thể chuẩn cho đối chứng dương (kháng thể cạnh tranh) hoặc đối chứng âm (kháng thể không cạnh tranh). Các kết quả tiêu biểu được thể hiện trong bảng 12 dưới đây được thông báo dưới dạng cường độ huỳnh quang trung bình (MFI). Đối với các thử nghiệm này, tín hiệu tương đương với kháng thể được đánh dấu một mình là kháng thể không cạnh tranh, trong khi tín hiệu tương đương với quá trình cạnh tranh bởi 5H23 là kháng thể cạnh tranh.

Bảng 12

Kháng thể	Cường độ huỳnh quang trung bình (MFI)	
	5H23 – Alexa647	3I13 – Alexa488
5H23	2,3	29,8
1C17	2,4	26,7
1D19	2,5	30,6
2L12	3,1	30,9
3L3	4,2	28,7
3N20	2,4	30,5
4P5	2,4	30,1
5C23	2,4	29,3
5F7	2,3	28,5
1G19	2,2	29,0
3I13	9,4	7,4
Kháng thể được đánh dấu một mình	10,8	32,4

Để đánh giá thêm về các vị trí gắn kết của kháng thể trên beta klotho của người, các thử nghiệm cạnh tranh cũng được cài đặt trên Biacore. Ví dụ, hai kháng thể được cố định trên hai tế bào dòng chảy của chíp CM5. Phức hợp beta klotho của người-kháng thể được tạo ra với các kháng thể khác nhau (nồng độ kháng thể được chuẩn độ từ 0,1 đến 50nM trong khi duy trì nồng độ beta klotho cố định ở 5nM) trong vi đĩa 96 lỗ và được phun trên bề mặt kháng thể. Tín hiệu được đo (Đơn vị đáp ứng, RU) được vẽ biểu đồ dựa trên nồng độ kháng thể trong dung dịch [nM]. Nếu kháng thể trong dung dịch nhận diện cùng một epitop như kháng thể được cố định trên bề mặt chíp, thì quan sát được RU giảm cùng với nồng độ kháng thể trong dung dịch tăng (cho thấy sự cạnh tranh về vị trí gắn kết trên beta klotho). Tuy nhiên, nếu kháng thể trong dung dịch nhận diện một epitop khác so với kháng thể được cố định, quan sát thấy RU tăng lên. Trong trường hợp nhận diện epitop khác, phức hợp kháng thể-klotho có thể gắn kết với bề mặt kháng thể được cố định dẫn đến việc quan sát thấy tín hiệu gia tăng.

Trong các thử nghiệm gắn kết cạnh tranh bằng Biacore được lấy làm ví dụ, kháng thể 5H23 cạnh tranh với chính nó để gắn kết với HuKLB và các kháng thể bổ sung 1C17, 1D19, 2L12, 3L3, 3N20, 4P5, 5C23, 5F7 và 1G19 cạnh tranh với 5H23. Các kháng thể này được chỉ định là thành viên của ngăn (nhóm) epitop 5H23. Trình tự đối với các kháng thể liên quan đến epitop này được xếp thẳng hàng (sắp hàng) và

được thể hiện trên Fig.1 và Fig.2. Fig.2 cũng thể hiện trình tự axit amin bảo toàn đối với các CDR của các kháng thể liên quan này.

Ví dụ 4: Thử nghiệm chức năng

Kháng thể đối với beta klotho được tạo ra, ví dụ, như được mô tả trong Ví dụ 1, được thử nghiệm về hoạt tính chức năng của chúng trong thử nghiệm thông báo dựa trên tế bào.

Ví dụ, thử nghiệm thông báo ELK1-luxiferaza, xác định sự truyền tín hiệu FGFRIc/beta klotho, được tiến hành bằng cách sử dụng tế bào HEK293, HEK293T, hoặc L6 được chuyển nhiễm tạm thời (ATCC). Plasmit chuyển nhiễm gồm có hai plasmit thông báo Gal4-Elk1 và 5×UAS-Luc (hệ phiên mã-thông báo Agilent Technologies PathDetect Elk1 Cat# 219005), và plasmit mã hóa beta klotho của người (GeneCopoeia Cat# EX-E1104-MO2) hoặc beta klotho của khỉ cynomolgus (cyno beta klotho) và FGFR1c của người (GeneCopoeia Cat# EX-A0260-MO2). Trong các thử nghiệm này, việc hoạt hóa phức hợp thụ thể FGFR1c/beta klotho được biểu hiện tái tổ hợp trong tế bào cảm ứng việc dẫn truyền tín hiệu nội bào, dẫn đến việc phosphoryl hóa ERK và sau đó là Elk1. Một khi Gal4-Elk1 được phosphoryl hóa, Gal4-Elk1 gắn kết với vùng (gen) khởi động 5×UAS và khởi phát sự phiên mã gen thông báo luxiferaza. Sau đó hoạt tính của luxiferaza được xác định trong thử nghiệm enzym luxiferaza.

Đối với các thử nghiệm này, bốn plasmit nêu trên (ví dụ, 2 plasmit thông báo, beta klotho, R1c) được chuyển nhiễm vào các tế bào mới được thu hoạch trong huyền phù bằng cách sử dụng thuốc thử chuyển nhiễm FuGene6 hoặc Fugene HD (Promega). Mật độ tế bào và lượng thuốc thử chuyển nhiễm được tối ưu hóa đối với từng loại tế bào và từng mẻ Fugene. Tỷ lệ ADN giữa beta klotho và FGFR1c trong chuyển nhiễm được tối ưu hóa đối với từng dòng tế bào và thay đổi từ 6:1 đến 27:1. Các tế bào được chuyển nhiễm được nuôi cấy trong đĩa 96 lỗ (30000 tế bào/100µL/lỗ), hoặc đĩa 384 lỗ (7500 tế bào/25µL/lỗ) trong môi trường sinh trưởng bình thường. Sau khi ủ qua đêm ở nhiệt độ 37°C, các kháng thể đối với beta klotho khác nhau được bổ sung. Sau 6 giờ ủ ở nhiệt độ 37°C với kháng thể, thuốc thử Bright-Glo (Promega) với thể tích cân bằng được bổ sung và tín hiệu phát quang được ghi lại bằng cách sử dụng bộ đọc Enspire (Perkin Elmer).

Các kết quả tiêu biểu sử dụng beta klotho của người và beta klotho của khỉ cyno, được chuyển nhiễm vào tế bào HEK 293, được thông báo dưới dạng giá trị EC50 như lần lượt được thể hiện trong bảng 13 và bảng 14 dưới đây.

Bảng 13

	Thử nghiệm – A	Thử nghiệm – B
mAb	EC 50 của thử nghiệm thông báo huKLB/R1c của HEK293 (pM)	EC50 của thử nghiệm thông báo huKLB/R1c của HEK293 (pM)
đối chứng*	45,3	27,9
5H23	102	34,2
1D19	620	
2L12	373	
3L3	773	
3N20	527	
4P5	600	78,3
1G19	231	127

*mAB đối chứng bao gồm SEQ ID NO: 358 và SEQ ID NO: 360

Bảng 14

	Thử nghiệm – A	Thử nghiệm – B
mAb	EC50 của thử nghiệm thông báo cynoKLB/R1c của HEK293 (pM)	EC50 của thử nghiệm thông báo cynoKLB/R1c của HEK293 (pM)
đối chứng*	108 178	227
5H23	165	218
1D19		954
2L12	260	410
3L3	3576	1672
3N20	2464	>10000
4P5	347	465
1G19	2354	2447

*mAB đối chứng bao gồm SEQ ID NO: 358 và SEQ ID NO: 360

Các kết quả tiêu biểu sử dụng beta klotho của người, được chuyển nhiễm vào các tế bào L6, được thông báo dưới dạng giá trị EC50 như được thể hiện trong bảng 15 dưới đây.

Bảng 15

mAb	EC50 của thử nghiệm thông báo huKLB/R1c của L6 (nM)	EC50 của thử nghiệm thông báo huKLB/R2c của L6 (nM)	EC50 của thử nghiệm thông báo huKLB/R3c của L6 (nM)	EC50 của thử nghiệm thông báo huKLB/R4 của L6 (nM)
đối chứng	FGF19: 2,66	FGF19: 0,16	FGF19: 2,1	FGF19: 0,05
5H23	0,28	>67	>67	>67
2L12	4,65	>67	>67	>67
4P5	0,39	>67	>67	>67

Các tế bào L6 thiếu thụ thể nội sinh và thường được sử dụng để nghiên cứu đặc hiệu kháng thể với các phân nhóm thụ thể FGF được chuyển nhiễm khác nhau. Quan sát thấy sự hoạt hóa thụ thể thông qua quá trình truyền tín hiệu FGFR1c/beta klotho khi không có phối tử (ví dụ, FGF19 (ví dụ, SEQ ID NO: 304) hoặc FGF21 (ví dụ, SEQ ID NO: 429)) bởi kháng thể kháng beta klotho được lấy làm ví dụ theo sáng chế với các tế bào L6 được chuyển nhiễm bằng FGFR1c (R1c), nhưng không quan sát thấy sự hoạt hóa này với các tế bào L6 được chuyển nhiễm bằng FGFR2c (R2c), FGFR3c (R3c), hoặc FGFR4 (R4), trong khi đó quan sát thấy sự hoạt hóa bởi đối chứng FGF19 với các tế bào L6 được chuyển nhiễm bằng R1c, R2c, R3c và R4.

Ví dụ 5: Thử nghiệm chức năng bổ sung

Kháng thể đối với beta klotho được tạo ra, ví dụ, như được mô tả trong Ví dụ 1, được thử nghiệm về hoạt tính chức năng của chúng trong thử nghiệm dựa trên tế bào, như thử nghiệm tế bào tạo mỡ, đo mức độ truyền tín hiệu FGFR1c/beta klotho nội sinh. FGF19 hoặc FGF21 kích thích sự phosphoryl hóa ERK, làm tăng sự hấp thụ glucoza và phân giải lipit trong tế bào tạo mỡ được nuôi cấy. Tế bào tạo mỡ được coi là thích hợp về mặt sinh lý để biểu hiện hoạt tính chức năng của phối tử của thụ thể hoặc kháng thể chủ vận bắt chước chức năng của phối tử (ví dụ, chức năng truyền tín hiệu của thụ thể bởi phối tử).

Ví dụ, các tế bào tạo mỡ tiền thân được làm đông của người (Lonza Cat# PT-5005) được làm tan đông vào ngày 1, được biệt hóa vào ngày 3 và được duy trì trong môi trường biệt hóa trong khoảng hai tuần trước khi thử nghiệm (ví dụ, sau đó cho nhịn ăn vào ngày 17, và được thử nghiệm vào ngày 18). Môi trường nuôi cấy là 1:1

DMEM/F12K + 10% FBS. Mật độ tế bào nuôi cấy là 25000 tế bào/100µL/lỗ trong đĩa 96 lỗ. Vào ngày 3, môi trường được thay thế bằng môi trường biệt hóa tế bào tạo mỡ của người (Cell Applications Inc). Từ đó, môi trường biệt hóa mới được bổ sung lên trên các tế bào mỗi 2-3 ngày. Vào ngày 17 (ngày trước thử nghiệm), các tế bào được rửa hai lần và để yên với DMEM /0,1% BSA (Sigma cat# A3803 - axit béo thiết yếu không có BSA) qua đêm. Ngày tiếp theo, môi trường DMEM /0,1% BSA mới được bổ sung trong 1 giờ trước khi các tế bào này được xử lý bằng kháng thể kháng beta klotho thử nghiệm trong thời gian 15 phút ở nhiệt độ 37°C. (Bộ) kit thử nghiệm Cis-bio Cellul'erk (Cat# 64ERKPEH) được sử dụng để thử nghiệm mức độ phosphoryl hóa ERK theo quy trình của nhà sản xuất.

Các kết quả tiêu biểu sử dụng tế bào tạo mỡ của người được thông báo dưới dạng giá trị EC50 như được thể hiện trong bảng 16 dưới đây:

Bảng 16

	Thử nghiệm - A	Thử nghiệm - B
mAb	thử nghiệm hAdip pERK	EC50 của thử nghiệm hAdip pERK (nM)
Đối chứng	+++	FGF19 5,49
5H23	+++	1,66
1C17	++	>>67
1D19	+++	>67
2L12	+++	1,23
3L3	+++	~ 30
3N20	+++	>67
4P5	+++	0,89
5F7	++	>67
5C23	++	>>67
1G19	+++	1,3

Ví dụ 6: Cạnh tranh phối tử

Thử nghiệm cạnh tranh phối tử (FGF19 hoặc FGF21) được tiến hành để đánh giá liệu tương tác kháng thể-beta klotho của người có ảnh hưởng đến khả năng gắn kết của beta klotho với phối tử tự nhiên của nó, FGF19 hoặc FGF21, hay không.

Ví dụ, thử nghiệm cạnh tranh dựa trên Biacore được cài đặt trong đó FGF19 (ví dụ, SEQ ID NO: 304) hoặc FGF21 (ví dụ, SEQ ID NO: 429) được cố định trên tế bào dòng chảy (Fc2) của chíp CM5 (sử dụng Fc1 làm bề mặt đối chiếu). Phức hợp beta

klotho của người-kháng thể được tạo ra với kháng thể được lấy làm ví dụ theo sáng chế, như 5H23 (ví dụ, VH SEQ ID NO: 25 và VL SEQ ID NO: 26) hoặc 5H23 được nhân hóa (ví dụ, VH SEQ ID NO: 271 và VL SEQ ID NO: 276)). Ví dụ, nồng độ 5H23 và kháng thể đối chứng được chuẩn độ từ 0,1 đến 67nM trong khi duy trì nồng độ beta klotho cố định ở 5nM trong vi đĩa 96 lỗ và được phun trên bề mặt FGF19. Trong một ví dụ khác, nồng độ 5H23 được nhân hóa (ví dụ, VH SEQ ID NO: 271 và VL SEQ ID NO: 276) được chuẩn độ từ 0,001 đến 67nM trong khi duy trì nồng độ beta klotho cố định ở 2,5nM trong vi đĩa 96 lỗ và được phun trên bề mặt FGF 21. Tín hiệu được xác định (Đơn vị đáp ứng, RU) được vẽ biểu đồ dựa trên nồng độ kháng thể trong dung dịch [nM]. Nếu kháng thể trong dung dịch nhận biết cùng một epitop như phối tử FGF19 hoặc phối tử FGF21 được cố định trên bề mặt chíp, thì quan sát thấy RU giảm đi cùng với việc nồng độ kháng thể trong dung dịch tăng lên, chứng tỏ sự cạnh tranh với phối tử FGF19 hoặc phối tử FGF21 về vị trí gắn kết trên beta klotho. Tuy nhiên, nếu kháng thể trong dung dịch nhận biết epitop khác so với phối tử FGF19 hoặc phối tử FGF21 được cố định, quan sát thấy RU tăng lên. Trong trường hợp nhận biết epitop khác, phức hợp kháng thể-klotho có thể gắn kết với bề mặt phối tử FGF19 được cố định hoặc bề mặt phối tử FGF21 được cố định dẫn đến việc quan sát thấy sự gia tăng tín hiệu. Trong dữ liệu được lấy làm ví dụ được thể hiện dưới đây trong bảng 17A, kháng thể đối chứng cạnh tranh từng phần với phối tử FGF19 dẫn đến việc làm giảm đáng kể tín hiệu RU, khi 5H23 không cạnh tranh với phối tử FGF19 để gắn kết với beta klotho. Trong dữ liệu được lấy làm ví dụ được thể hiện dưới đây trong bảng 17B, kháng thể đối chứng cạnh tranh với phối tử FGF21 dẫn đến việc làm giảm đáng kể tín hiệu RU, khi 5H23 được nhân hóa không cạnh tranh với phối tử FGF21 để gắn kết với beta klotho.

Bảng 17A

Thử nghiệm 1	**RU**	**% thay đổi**	**Ghi chú**
Tín hiệu RU đối với 5nM β-Klotho (không phức hợp)	127	100%	Kháng thể đối chứng*
Tín hiệu RU đối với phức hợp klotho-kháng thể đối chứng	60	Giảm 47%	Cạnh tranh từng phần giữa kháng thể đối chứng* và FGF19 để gắn kết với β-klotho
Thử nghiệm 1	**RU**	**% thay đổi**	**Ghi chú**

Tín hiệu RU đối với 5nM β-Klotho (không phức hợp)	109	100%	Kháng thể đối chứng*
Tín hiệu RU đối với phức hợp klotho-5H23	125	Tăng 114%	phức hợp 5H23-klotho gắn kết với FGF19, do đó không có cạnh tranh

*Kháng thể đối chứng bao gồm SEQ ID NO:358 và SEQ ID NO:360

Bảng 17B

Thử nghiệm 1	**RU được chuẩn hóa**	**% thay đổi**	**Ghi chú**
Tín hiệu RU đối với 2,5nM β-Klotho (không phức hợp)	1	100%	Kháng thể đối chứng*
Tín hiệu RU đối với phức hợp klotho-FGF21	0,03	Giảm 97%	FGF21 cạnh tranh với chính nó để gắn kết với β-klotho
Thử nghiệm 1	**RU được chuẩn hóa**	**% thay đổi**	**Ghi chú**
Tín hiệu RU đối với 2,5nM β-Klotho (không phức hợp)	1	100%	Kháng thể đối chứng*
Tín hiệu RU đối với phức hợp klotho-5H23 được nhân hóa	1,1	Tăng 110%	Phức hợp 5H23 được nhân hóa-klotho gắn kết với FGF21, do đó không có cạnh tranh

*Kháng thể đối chứng bao gồm SEQ ID NO:358 và SEQ ID NO:360

Do 5H23 và kháng thể 5H23 được nhân hóa gắn kết với epitop khác của beta klotho so với phối tử nội sinh, như FGF19 và FGF21, các thử nghiệm được tiến hành để thử nghiệm liệu có tác dụng hiệp đồng giữa FGF21 và 5H23 hoặc kháng thể 5H23 được nhân hóa hay không. Trong thử nghiệm thông báo HEK293 (xem, ví dụ, Ví dụ 4), tổ hợp của FGF21 và kháng thể 5H23 được nhân hóa (ví dụ, VH SEQ ID NO: 271 và VL SEQ ID NO: 276) được thử nghiệm với tỷ số mol 1:1 hoặc cố định một thành phần và chuẩn độ nồng độ của thành phần còn lại. Không quan sát thấy dấu hiệu có tác dụng hiệp đồng; tác dụng tối đa của FGF21 không được tăng cường bởi kháng thể 5H23 được nhân hóa, và ngược lại.

Ví dụ 7: Nhân hóa

Kháng thể kháng beta klotho được nhân hóa được tạo ra, bao gồm từ các kháng thể được chọn lọc như được mô tả trong ví dụ 1-6.

Một số kháng thể kháng beta klotho được chọn lọc để giải trình tự và vùng VH và VL của chúng, bao gồm các CDR của chúng, được thể hiện trong các bảng 1-10 và trên Fig.1 và Fig.2. Kháng thể kháng beta klotho được lấy làm ví dụ, 5H23, được chọn lọc để nhân hóa. Một vài phương pháp nhân hóa được sử dụng. Đối với một số kháng thể được nhân hóa, phương pháp nhân hóa là dựa vào kinh nghiệm và dựa một phần vào thông tin cấu trúc liên quan đến vùng biến đổi globulin miễn dịch bao gồm mô hình phân tử và các yêu cầu về độ ổn định cấu trúc kháng thể (xem, ví dụ, Ewert et al., 2004, Methods 34:184-199; Honegger, 2008, Handb. Exp. Pharmacol. 181:47-68; Kügler et al., 2009, Protein Eng. Des. Sel. 22: 135-147). Phương pháp này cũng dựa một phần vào sự cân nhắc về các gốc tiếp xúc kháng nguyên và/hoặc gốc có độ ổn định khung. Ví dụ, cân nhắc về gốc tiếp xúc kháng nguyên điển hình phụ thuộc vào kích cỡ kháng nguyên đặc biệt là các gốc bên ngoài CDR mà có thể tiếp xúc với kháng nguyên, phần lõi trên, lõi giữa và lõi dưới, gốc bề mặt chung VH:VL, Pro/Gly được bảo toàn (góc phi dương) và cặp gốc liên quan với phân nhóm VH (xem, ví dụ, Ewert et al., trên đây; Honegger, trên đây; Kügler et al., trên đây).

Ví dụ, trình tự VH của người tương đồng với trình tự khung VH của 5H23 được tìm kiếm và trình tự VH được mã hóa bởi dòng mầm người IGHV1-3*01 (xem, ví dụ, Ehrenmann et al., 2011, Cold Spring Harbor Protoc. G:737-749) được chọn làm đối tượng nhận để nhân hóa. Đối với một số kháng thể được nhân hóa, các trình tự CDR của VH của 5H23 trước tiên được chuyển sang các vị trí tương ứng của IGHV1-3*01. Sau đó, một số gốc axit amin của VH của 5H23 được thay thế cho các gốc tương ứng của người riêng rẽ hoặc trong tổ hợp.

Tương tự, ví dụ, trình tự VL của người tương đồng với trình tự khung VL của 5H23, được tìm kiếm và vùng Vκ của người được mã hóa bởi IGKV4-1*01 (xem, ví dụ, Ehrennmann et al., trên đây) được chọn làm đối tượng nhận để nhân hóa. Đối với một số kháng thể được nhân hóa, trình tự CDR của VL của 5H23 trước tiên được chuyển sang các vị trí tương ứng của IGKV4-1*01. Sau đó, một số gốc axit amin của VL của 5H23 được thay thế cho các gốc tương ứng của người riêng rẽ hoặc trong tổ hợp.

Đối với một số kháng thể được nhân hóa, phương pháp nhân hóa sử dụng giải thuật (thuật toán) để tạo cấu trúc bản đồ ba chiều của vùng biến đổi của chuột nhắt. Phương pháp này cũng nhận biết axit amin của khung và các gốc quan trọng để tạo ra cấu trúc CDR hoặc cần để gắn kết với beta klotho. Ngoài ra, trình tự axit amin của VH

và VL của người có độ tương đồng cao với trình tự của chuột nhất được chọn lọc cho các trình tự khung có thể có để nhân hóa. Như được mô tả ở trên, trình tự CDR của kháng thể 5H23 có thể được chuyển sang trình tự khung của người bổ sung này. Các trình tự khung của người khác nhau, bao gồm trình tự dòng mầm (ví dụ, IGHV1-3, IGHV1-46, IGHV1-69, IGKV4-1, IGKV1-39 hoặc IGKV3-20) và trình tự cá thể trưởng thành, có thể thích hợp cho phương pháp nhân hóa. Tiếp theo, một số gốc axit amin của VH của 5H23 và/hoặc VL của 5H23 có thể được thay thế cho các gốc tương ứng của người riêng rẽ hoặc kết hợp.

Đối với một số chuỗi nhẹ được nhân hóa, công cụ tìm kiếm IG BLAST được sử dụng để nhận biết trình tự dòng mầm người là các cặp ghép đôi gần về trình tự với VL của 5H23 và/hoặc là các trình tự thường được sử dụng, bao gồm, ví dụ, IGKV1-39 và IGKV3-20. Đối với một số chuỗi nhẹ được nhân hóa, trình tự CDR của VL của 5H23 trước tiên được chuyển sang các vị trí tương ứng của IGKV1-39 hoặc IGKV3-20 và sau đó các axit amin nhất định được chọn lọc dựa vào kinh nghiệm để phân trạm.

Trình tự axit amin của trình tự VH (vH1-vH9) và VL (vL1 đến vL5, v1-39a đến v1-39p và v3-20a đến v3-20j) được nhân hóa thu được được thể hiện với trình tự VH và VL của 5H23 trên Fig.3A-3D. Ví dụ, bằng cách sử dụng các phương pháp nhân hóa khác nhau được mô tả trong Ví dụ này, một số gốc axit amin của VH và VL của 5H23 được thay thế cho gốc của người tương ứng để thu được các trình tự được nhân hóa như được thể hiện trên Fig.3A-3D.

Các kháng thể beta klotho được nhân hóa có thể được điều chế bằng cách sử dụng trình tự CDR bất kỳ trong số các trình tự CDR trong bảng 18 kết hợp với trình tự khung bất kỳ trong số các trình tự khung trong bảng 19.

Bảng 18

Trình tự CDR đối với kháng thể kháng beta klotho được nhân hóa

CDR1 của VH
SEQ ID NO:1 GYTFTSYDIN
SEQ ID NO:27 GYSITSGYYWN
SEQ ID NO:53 GYTFTRYDIN
SEQ ID NO:79 GYTFTRYDIN
SEQ ID NO:105 GYTFTSYDIN
SEQ ID NO:131 GYIFTNYGIS
SEQ ID NO:157 GYTFTRYDIN
SEQ ID NO:183 GYTFTRYDIN
SEQ ID NO:209 GYTFTRYDIN

SEQ ID NO:235 GYSITSGYYWN
CDR2 của VH
SEQ ID NO:2 WIYPGDGSTKYNEKFKG
SEQ ID NO:28 YINYDGNSNYTPSLKN
SEQ ID NO:54 WIYPGDSSTKFNENFKD
SEQ ID NO:80 WIYPGDDSTKYNEKFKG
SEQ ID NO:106 WIYPGDGSPKYDEKFKG
SEQ ID NO:132 EIYPRSGNTYYNEKFKG
SEQ ID NO:158 WIYPGDDSTKYNEKFKG
SEQ ID NO:184 WIYPGDGSTKYNEKFEG
SEQ ID NO:210 WIYPGDISTKYNEKFKG
SEQ ID NO:236 YINYGGSNNYNPSLKN
CDR3 của VH
SEQ ID NO:3 SDYYGSRSFAY
SEQ ID NO:29 KGAYYSNYDSFDV
SEQ ID NO:55 SDYYGSRSFTY
SEQ ID NO:81 SDYYGSRSFVY
SEQ ID NO:107 SDYYGSRSFVY
SEQ ID NO:133 HWDGVLDYFDY
SEQ ID NO:159 SDYYGSRSFVY
SEQ ID NO:185 SDYYGSRSFVY
SEQ ID NO:211 SDYYGSRSFVY
SEQ ID NO:237 RGAYYSNYDSFDV
CDR1 của VL
SEQ ID NO:4 RASKSVSTSGYVYMH
SEQ ID NO:30 KASQDINSYLS
SEQ ID NO:56 RASKSVSTSGYSYMH
SEQ ID NO:82 RASKSVSTSGYSYLH
SEQ ID NO:108 RASKSVSTSGYSYVH
SEQ ID NO:134 KSSQSLLNSGNQKNYLA
SEQ ID NO:160 RASKSVSTSGYSYMH
SEQ ID NO:186 RASKSVSTSGYSYMH
SEQ ID NO:212 RASKSVSTSGYSYMH
SEQ ID NO:238 KASQDINSYLS
CDR2 của VL
SEQ ID NO:5 LASYLES
SEQ ID NO:31 RANRLVD
SEQ ID NO:57 LASNLES
SEQ ID NO:83 LASNLES
SEQ ID NO:109 LASNLES
SEQ ID NO:135 GASTRES

SEQ ID NO:161 LASNLES
SEQ ID NO:187 LASNLES
SEQ ID NO:213 LASNLES
SEQ ID NO:239 RANRLVD
CDR3 của VL
SEQ ID NO:6 QHSRDLTFP
SEQ ID NO:32 LQYDEFPFT
SEQ ID NO:58 QHSRELPYT
SEQ ID NO:84 QHSGELPYT
SEQ ID NO:110 QHSGELPYT
SEQ ID NO:136 LNDHSYPFT
SEQ ID NO:162 HHSGELPYT
SEQ ID NO:188 QHSRELPYT
SEQ ID NO:214 QHSRELPYT
SEQ ID NO:240 LQYDEFPYT

Bảng 19

Trình tự khung đối với kháng thể kháng beta klotho được nhân hóa

VH
Khung 1 (FR1)
SEQ ID NO:278 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS
SEQ ID NO:279 QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKAS
SEQ ID NO:280 QVQLVQSGPEVKKPGASVKVSCKAS
SEQ ID NO:378 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS
Khung 2 (FR2)
SEQ ID NO:281 WVRQAPGQGLEWMG
SEQ ID NO:282 WVRQAPGQGLEWIG
SEQ ID NO:283 WVKQAPGQGLEWIG
Khung 3 (FR3)
SEQ ID NO:284 RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR
SEQ ID NO:285 KATITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYFCAR
SEQ ID NO:286 KATLTADTSASTAYMELSSLRSENTAVYFCAR
SEQ ID NO:287 KATLTADKSARTAYMELSSLRSENTAVYFCAR
SEQ ID NO:379 RATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR
SEQ ID NO:380 RATLTADKSTRTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR
SEQ ID NO:381 RATITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR
Khung 4 (FR4)
SEQ ID NO:288 WGQGTLVTVSS
VL
Khung 1 (FR1)
SEQ ID NO:289 DIVLTQSPDSLAVSLGERATINC
SEQ ID NO:290 DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC

SEQ ID NO:382 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
SEQ ID NO:383 DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC
SEQ ID NO:384 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC
Khung 2 (FR2)
SEQ ID NO:291 WNQQKPGQPPKLLIY
SEQ ID NO:292 WYQQKPGQPPKLLIY
SEQ ID NO:385 WYQQKPGKAPKLLIY
SEQ ID NO:386 WNQQKPGKAPKLLIY
SEQ ID NO:387 WYQQKPGKPPKLLIY
SEQ ID NO:388 WNQQKPGKPPKLLIY
SEQ ID NO:389 WYQQKPGQAPRLLIY
SEQ ID NO:390 WNQQKPGQAPRLLIY
SEQ ID NO:391 WYQQKPGQPPRLLIY
SEQ ID NO:392 WNQQKPGQPPRLLIY
Khung 3 (FR3)
SEQ ID NO:293 GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSVQAEDAAIYYC
SEQ ID NO:294 GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSVQAEDVAVYYC
SEQ ID NO:295 GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSVQAEDVAIYYC
SEQ ID NO:393 GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC
SEQ ID NO:394 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
SEQ ID NO:395 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYC
SEQ ID NO:396 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQEEDFATYYC
SEQ ID NO:397 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQEEDFATYYC
SEQ ID NO:398 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQEEDAATYYC
SEQ ID NO:399 GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC
SEQ ID NO:400 GIPARFSGSGSGTDFTLTISRVEPEDFAVYYC
SEQ ID NO:401 GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDAAVYYC
SEQ ID NO:402 GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEEEDFAVYYC
SEQ ID NO:403 GIPARFSGSGSGTDFTLTISRVEEEDFAVYYC
SEQ ID NO:404 GIPARFSGSGSGTDFTLTISRVEEEDAAVYYC
Khung 4 (FR4)
SEQ ID NO:296 FGGGTKLEIK
SEQ ID NO:405 FGGGTKVEIK
SEQ ID NO:406 FGQGTKLEIK
SEQ ID NO:407 FGGQTKLEIK

Ví dụ, kháng thể kháng beta klotho được nhân hóa có thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) chứa: FR1 (ví dụ, SEQ ID NO:278, 279, 280, hoặc 378); CDR1 (ví dụ, SEQ ID NO:1, 27, 53, 79, 105, 131, 157, 183, 209, 235); FR2 (ví dụ, SEQ ID NO:281, 282, hoặc 283); CDR2 (ví dụ, SEQ ID NO:2, 28, 54, 80, 106, 132, 158, 184, 210, hoặc 236); FR3 (ví dụ, SEQ ID NO:284, 285, 286, 287, 379, 380, hoặc 381); CDR3 (ví dụ, SEQ ID NO:3, 29, 55, 81, 107, 133, 159, 185, 211, hoặc 237); và/hoặc

FR4 (ví dụ, SEQ ID NO:288); và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ (VL) chứa: FR1 (ví dụ, SEQ ID NO:289, 290, 382, 383, hoặc 384); CDR1 (ví dụ, SEQ ID NO:4, 30, 56, 82, 108, 134, 160, 186, 212, hoặc 238); FR2 (ví dụ, SEQ ID NO:291, 292, hoặc 385-392); CDR2 (ví dụ, SEQ ID NO:5, 31, 57, 83, 109, 135, 161, 187, 213, hoặc 239); FR3 (ví dụ, SEQ ID NO:293, 294, 295, hoặc 393-404); CDR3 (ví dụ, SEQ ID NO:6, 32, 58, 84, 110, 136, 162, 188, 214, 240); và/hoặc FR4 (ví dụ, SEQ ID NO:296, 405, 406, hoặc 407).

Như được mô tả trong Ví dụ này, kháng thể kháng beta klotho được nhân hóa được thiết kế dựa vào kinh nghiệm và được biểu hiện dưới dạng protein gắn kết beta klotho, bao gồm chín biến thể được nhân hóa của vùng VH của kháng thể 5H23 và ba mươi mốt biến thể được nhân hóa của vùng VL của kháng thể 5H23 được tạo ra. Trình tự của các vùng VH và vùng VL của 5H23 được nhân hóa được lấy làm ví dụ này được thể hiện trên Fig.3A-3D.

Kháng thể được nhân hóa được tạo ra với vùng VH được nhân hóa và vùng VL được nhân hóa với các trình tự như được thể hiện trên Fig.3A-3D. Ví dụ, mười tám (6 X 3) tổ hợp của vH 1-6 và vL1-3 được tạo cấu trúc bằng cách sử dụng vùng hằng định IgG1 (ala-ala) (SEQ ID NO:316) và vùng hằng định kappa (SEQ ID NO:318): vH1-VL1, vH1-vL2, vH1-vL3, vH2-vL1, vH2-vL2, vH2-vL3, vH3-vL1, vH3-vL2, vH3-vL3, vH4-vL1, vH4-vL2, vH4-vL3, vH5-vL1, vH5-vL2, vH5-vL3, vH6-vL1, vH6-vL2, vH6-vL3, với các trình tự như được thể hiện trên Fig.3A-3D. Ngoài ra, kháng thể được nhân hóa được tạo cấu trúc với vùng VH được nhân hóa được lấy làm ví dụ (ví dụ, vH3) và hai mươi sáu vùng VL được nhân hóa (v1-39a đến v1-39p và v3-20a đến v3-20j) với các trình tự như được thể hiện trên Fig.3A-3D.

Kháng thể được nhân hóa được thử nghiệm về hoạt tính của chúng trong các thử nghiệm khác nhau, bao gồm, ví dụ, như được mô tả trong ví dụ 2-6. Mức độ biểu hiện của kháng thể được nhân hóa với chuỗi nhẹ chứa vL3 hoặc v1-39c là thấp và các kháng thể này không được thử nghiệm thêm. Các kết quả được lấy làm ví dụ với các kháng thể kháng beta klotho được nhân hóa khác nhau được thể hiện trong bảng 20A và 20B dưới đây.

Bảng 20A

Kháng thể	Biểu hiện (mg/L)	KD-huKLB (nM)	KD-cyKLB (nM)	EC50 của thử nghiệm thông báo (nM)	EC50-tế bào tạo mỡ (nM)
mAB đối chứng		0,08	0,7	0,2,0,54	3,4
5H23		0,05	0,7	0,27,0,51	3,4
vL1					
vH1	80	1,5	≥ 50	2,7	ND
vH2	80	1,7	≥ 50	3,2	ND
vH3	50	0,43	≥ 50	1,1	ND
vH4	80	2,26	≥ 50	3,0	ND
vH5	20	0,81	≥ 50	8,2	ND
vH6				NA	
vL2					
vH1	200	0,21	0,95	NA	8,4
vH2	66	0,41	0,75	1,3	13,3
vH3	50-60	0,23	0,59	0,68	5,5
vH4	66	0,33	0,61	3,5	16,4
vH5	30	0,19	0,61	1,1	8,1
vH6	20	0,4	0,83	1,7	15,3

Bảng 20B

Kháng thể	Hiệu giá được ước tính (mg/L)	KD-huKLB (nM)	EC50 của thử nghiệm thông báo (nM)	EC50 của tế bào tạo mỡ (nM)
h5H23 (Prep 1)	--	0,64	--	--
h5H23 (Prep 2)	--	0,58	0,6	11,2
vH3				
VL v1-39a	50	0,90	--	--
VL v1-39b	50	0,53	1,03	--
VL v1-39c	10	--	--	--
VL v1-39d	50	0,73	1,49	--
VL v1-39e	>100	1,00	--	--
VL v1-39f	>100	0,28	0,80	21,4
VL v1-39g	>100	1,10	--	--
VL v1-39h	10	2,10	--	--
VL v1-39i	50	0,63	1,12	--

VL v1-39j	100	0,70	--	--
VL v1-39k	100	1,50	--	--
VL v1-39l	100	--	--	--
VL v1-39m	50	<0,1	--	--
VL v1-39n	>100	<0,1	--	--
VL v1-39o	25	0,36	--	--
VL v1-39p	10	0,36	--	--
VL v3-20a	25	0,64	--	--
VL v3-20b	50	1,90	--	--
VL v3-20c	0	1,60	--	--
VL v3-20d	50	--	--	--
VL v3-20e	50	1,60	--	--
VL v3-20f	10	1,80	--	--
VL v3-20g	--	--	--	--
VL v3-20h	25	1,50	--	--
VL v3-20i	10	--	--	--
VL v3-20j	10	--	--	--

Prep 1 = chế phẩm kháng thể 5H23 được nhân hóa (ví dụ, VH SEQ ID NO: 271 và VL SEQ ID NO: 276) được biểu hiện ở cùng thời điểm như biến thể LC; Prep 2 = chế phẩm kháng thể 5H23 được nhân hóa (ví dụ, VH SEQ ID NO: 271 và VL SEQ ID NO: 276) được tinh chế. Kháng thể đối chứng = VH SEQ ID NO: 358 và VL SEQ ID NO: 360.

Trong các thử nghiệm bổ sung, ví dụ, thử nghiệm thông báo với tế bào HEK293T như được mô tả trong Ví dụ 4, trong đó các tế bào này được chuyển nhiễm với plasmit mã hóa beta klotho của chuột nhắt (ví dụ, SEQ ID NO: 301), beta klotho của chuột cống (ví dụ, SEQ ID NO: 356), beta klotho của chuột túi má (ví dụ, SEQ ID NO: 408), beta klotho của thỏ (ví dụ, SEQ ID NO: 410), hoặc beta klotho của chó (ví dụ, SEQ ID NO: 412) và cũng được chuyển nhiễm với plasmit mã hóa thụ thể khảm FGFR1-βIIIc của chuột nhắt (ví dụ, SEQ ID NO: 416), thụ thể khảm FGFR1-βIIIc của chuột cống (ví dụ, SEQ ID NO: 419), thụ thể khảm FGFR1-βIIIc của chuột túi má (ví dụ, SEQ ID NO: 417), thụ thể khảm FGFR1-βIIIc của thỏ (ví dụ, SEQ ID NO: 420), hoặc thụ thể FGFR1-βIIIc của chó (ví dụ, SEQ ID NO: 418), một cách tương ứng, khi được điều trị bằng kháng thể kháng beta klotho như kháng thể 5H23 được nhân hóa (ví dụ, VH SEQ ID NO: 271 và VL SEQ ID NO: 276), không hoạt hóa phức hợp thụ thể khảm beta klotho-FGFR1c của chuột nhắt, chuột cống, chuột túi má, thỏ hoặc chó, một cách tương ứng. Kháng thể kháng beta klotho như được mô tả trong bản mô tả

này, bao gồm kháng thể 5H23 và kháng thể 5H23 được nhân hóa, cũng như các kháng thể cạnh tranh với 5H23 (ví dụ, 1C17, 1D19, 2L12, 3L3, 3N20, 4P5, 5C23, 5F7 và 1G19 như được mô tả trong Ví dụ 3) với các trình tự CDR như được thể hiện trong các bảng 1-10, hoạt hóa phức hợp thụ thể beta klotho/FGF của người và của khỉ cyno, nhưng không hoạt hóa phức hợp thụ thể beta klotho /FGF của chuột nhắt, chuột cống, chuột túi má, thỏ, hoặc của chó như được thể hiện bởi các thử nghiệm thông báo được mô tả trên đây. Khi Fab hóa trị một của kháng thể kháng beta klotho được tạo ra từ quá trình phân hủy bằng papain đối với kháng thể kháng beta klotho, như kháng thể 5H23 được nhân hóa (ví dụ, VH SEQ ID NO: 271 và VL SEQ ID NO: 276), được thử nghiệm trong thử nghiệm thông báo HEK293 về khả năng của nó trong việc hoạt hóa phức hợp thụ thể FGFR1c/KLB của người, Fab này không thể hiện hoạt tính kháng thể lên đến 67nM, trong khi đó kháng thể 5H23 được nhân hóa cho thấy hoạt tính với nồng độ nanomol thấp tương tự với nồng độ được thể hiện trong bảng 20B.

Ví dụ 8: Nghiên cứu ở động vật

Tác dụng của kháng thể kháng beta klotho được đánh giá trong các nghiên cứu ở động vật, bao gồm khỉ cynomolgus.

Trong nghiên cứu ở khỉ cynomolgus béo phì, kháng thể kháng beta klotho được lấy làm ví dụ mà gắn kết với beta klotho của người và beta klotho của khỉ cyno (ví dụ, kháng thể 5H23 hoặc biến thể được nhân hóa của nó), cũng như kháng thể chứa một hoặc nhiều trong số các CDR của 5H23 như được thể hiện trong bảng 1 hoặc theo cách khác, kháng thể chứa một hoặc nhiều trong số các CDR của kháng thể hoặc biến thể được nhân hóa của nó được thể hiện trong các bảng 2-10 mà cạnh tranh về sự gắn kết của 5H23 với beta klotho của người như được mô tả trong Ví dụ 3, được sử dụng. Các tác động đến các thông số chuyển hóa khác nhau có thể được xác định. Các thông số được lấy làm ví dụ bao gồm lượng thức ăn nạp vào, trọng lượng cơ thể, chỉ số khối lượng cơ thể (BMI), chu vi vòng bụng (AC), độ dày nếp gấp da (SFT), thử nghiệm dung nạp glucoza đường uống (OGTT), nồng độ glucoza huyết (ví dụ, huyết thanh) khi đói và/hoặc khi no (ví dụ, sau bữa ăn), nồng độ insulin, và/hoặc nồng độ triglyxerit.

Trong một nghiên cứu thực tế, hai mươi khỉ cynomolgus béo phì tự nhiên có chỉ số khối lượng cơ thể bằng hoặc cao hơn 40 được chọn lọc và chia ngẫu nhiên vào

nhóm điều trị bằng chất dẫn thuốc (n = 10) và nhóm điều trị bằng kháng thể (n =10). Các con vật này nhận liều tiêm dưới da của chất dẫn thuốc hoặc kháng thể kháng beta klotho vào ngày 1 và 14. Lượng thức ăn nạp vào trong từng bữa ăn được ghi lại và trọng lượng cơ thể được xác định một lần mỗi tuần. Các mẫu máu được lấy một lần mỗi tuần trong 7 tuần để đo huyết tương (theo cách khác, huyết thanh) glucoza, insulin, lipit và các thông số nghiên cứu. Vào ngày 14, 28 và 49, thử nghiệm dung nạp glucoza đường uống được thực hiện.

Các tác dụng điều trị bệnh được lấy làm ví dụ có thể bao gồm giảm lượng thức ăn nạp vào, giảm trọng lượng cơ thể, giảm BMI, AC và/hoặc SFT, cải thiện sự dung nạp glucoza, giảm nồng độ insulin, giảm nồng độ glucoza huyết tương (theo cách khác, huyết thanh) khi đói và/hoặc khi no (ví dụ, sau bữa ăn), nồng độ insulin, và/hoặc giảm nồng độ triglyxerit. Các tác dụng này chỉ ra các thông số chuyển hóa được cải thiện khi điều trị bằng kháng thể kháng beta klotho.

Ví dụ, hai mươi con khỉ cynomolgus đực được chọn lọc để điều trị bằng kháng thể 5H23 được nhân hóa (ví dụ, VH SEQ ID NO: 271 và VL SEQ ID NO: 276) hoặc đối chứng dẫn thuốc dựa trên BMI (> 40) của chúng và được huấn luyện bị giam giữ trên ghế, tiêm dưới da, lấy máu, và đưa thức ăn bằng ống thông qua miệng vào dạ dày. Chế độ ăn uống thường ngày được thiết lập.

Các giá trị cơ sở của các thông số nghiên cứu khác nhau được đo trước khi điều trị. Ví dụ, vào ngày 7, trọng lượng cơ thể, BMI, chu vi vòng bụng, và độ dày nếp gấp da cơ sở được đo, và quy trình quét để đo độ hấp thụ tia X hai nguồn năng lượng ("DEXA") được tiến hành ở khỉ cynomolgus trong điều kiện gây mê bằng ketamin để xác định mật độ khoáng xương. Các mẫu máu được lấy vào ngày 3, sau khi nhịn ăn cả đêm. Nồng độ cơ bản của glucoza, insulin, tổng cholesterol, LDL, HDL, triglyxerit huyết thanh, và bảng thông số huyết học và hóa học lâm sàng được đo và được phân tích. Ngay sau các mẫu cơ sở, các con vật được đưa vào thử nghiệm dung nạp glucoza đường uống (OGTT) bằng cách nhận 4g/kg glucoza bằng ống thông vào dạ dày và được lấy mẫu ở 5, 15, 30, 60, 120 và 180 phút sau khi thử thách glucoza, và glucoza và insulin huyết thanh được đo. Dựa trên dữ liệu cơ sở, các con vật được phân chia thành hai nhóm với 10 con mỗi nhóm (ví dụ, một nhóm để điều trị bằng kháng thể và nhóm còn lại là nhóm đối chứng dẫn thuốc) để đạt được mức độ cơ sở tương tự của

các thông số khác nhau, ví dụ, trọng lượng cơ thể, BMI, và nồng độ glucoza huyết thanh, insulin, và triglyxerit.

Bắt đầu từ ngày 0, một nhóm con vật (n=10) nhận một liều tiêm 10mg/kg kháng thể kháng beta klotho dưới da, như kháng thể 5H23 được nhân hóa (ví dụ, VH SEQ ID NO: 271 và VL SEQ ID NO: 276) hai tuần một lần (ví dụ, vào ngày 0, 14, 28, và 42) trong 4 liều. Nhóm đối chứng dẫn thuốc nhận chất dẫn thuốc tương ứng vào cùng ngày. Việc điều trị được tiến hành trong 30 phút vào buổi sáng trước bữa ăn sáng, và liều lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,2 mL/kg.

Các thông số nghiên cứu, ví dụ, lượng thức ăn nạp vào, trọng lượng cơ thể, hóa học lâm sàng, và OGTT, được theo dõi trong suốt nghiên cứu. Ví dụ, lượng thức ăn nạp vào được xác định hằng ngày. Trọng lượng cơ thể, BMI, chu vi vòng bụng, và độ dày nếp gấp da được xác định hằng tuần, ví dụ, vào ngày 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77, 84, 91, và 98. Các mẫu máu được lấy hằng tuần, ví dụ, vào ngày 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, và 70, sau khi nhịn ăn cả đêm, để đo nồng độ glucoza, insulin, và lipit, như triglyxerit. Một mẫu máu bổ sung được lấy vào ngày 98, sau khi nhịn ăn cả đêm. OGTT được tiến hành sau khi bắt đầu nghiên cứu, ví dụ, vào ngày 14, 28, và 56, trong đó các con vật nhận 4g/kg glucoza được đưa bằng ống thông vào dạ dày và được lấy mẫu ở 5, 15, 30, 60, 120 và 180 phút sau thử thách glucoza, và glucoza và insulin huyết thanh được đo. Quy trình quét DEXA được thực hiện vào ngày 30 và 72. Ngoài ra, bảng huyết học và hóa học lâm sàng được phân tích vào ngày 28 và 70. Hai con khỉ từ nhóm chất dẫn thuốc và hai con từ nhóm kháng thể kháng beta klotho được an tử và tiến hành mổ tử thi vào ngày 50 để đánh giá mức độ an toàn. Trong suốt thử nghiệm, tất cả các con khỉ được theo dõi sát sao về sức khỏe của chúng.

Các kết quả thu được từ nghiên cứu này được thể hiện trong các bảng từ 21 đến 25 dưới đây. Như được thể hiện trong bảng 21, trọng lượng cơ thể của động vật được điều trị bằng chất dẫn thuốc giữ không đổi (tăng nhẹ trong quá trình nghiên cứu); trong khi trọng lượng cơ thể của động vật được điều trị bằng kháng thể kháng beta klotho giảm dần, và trọng lượng cơ thể không trở về mức cơ sở trong các tuần 8-14 (ví dụ, giai đoạn phục hồi). Tương tự, như được thể hiện trong bảng 22, động vật được điều trị bằng chất dẫn thuốc thể hiện BMI tương đối ổn định trong suốt nghiên cứu, trong khi động vật được điều trị bằng kháng thể kháng beta klotho thể hiện mức BMI giảm

trong quá trình nghiên cứu. Mức BMI cũng không trở về giá trị cơ sở (ví dụ, trong giai đoạn phục hồi). Các kết quả này đưa đến giả thuyết việc điều trị bằng kháng thể kháng beta klotho làm giảm khối lượng chất béo.

Như được thể hiện trong bảng 23, mức insulin huyết thanh ở động vật được điều trị bằng chất dẫn thuốc tăng lên trong quá trình nghiên cứu; trong khi mức insulin huyết thanh ở động vật được điều trị bằng kháng thể kháng beta klotho giảm đi đáng kể. Mức glucoza huyết thanh cũng giảm đi ở động vật được điều trị bằng kháng thể kháng beta klotho, như được thể hiện trong bảng 24. Tương tự, như được thể hiện trong bảng 25, mức triglyxerit ở động vật được điều trị bằng chất dẫn thuốc tăng lên trong quá trình nghiên cứu; trong khi mức triglyxerit ở động vật được điều trị bằng kháng thể kháng beta klotho giảm đi đáng kể.

Kết quả của OGTT chứng minh rằng trước khi điều trị, các mức insulin cơ sở là không khác biệt đáng kể giữa nhóm chất dẫn thuốc và nhóm kháng thể kháng beta klotho. Ngược lại, sau khi điều trị, có xu hướng giảm lượng glucoza và mức insulin giảm đi ở động vật được điều trị bằng kháng thể kháng beta klotho so với động vật được điều trị bằng chất dẫn thuốc.

Bảng 21A: Trọng lượng cơ thể (kg)																
	Tuần	**-1**	**0**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**
Chất dẫn thuốc	**Trung bình**	10,84	10,75	10,66	10,63	10,61	10,75	10,67	10,66	10,75	10,98	10,96	11,08	11,09	11,12	11,23	11,18
	sem	0,49	0,50	0,50	0,48	0,48	0,47	0,48	0,46	0,47	0,59	0,59	0,61	0,60	0,59	0,58	0,59
h5H23	**Trung bình**	10,87	10,84	10,60	10,45	10,27	10,21	10,00	9,86	9,76	9,58	9,52	9,46	9,43	9,43	9,39	9,27
	sem	0,33	0,36	0,36	0,38	0,37	0,40	0,41	0,41	0,42	0,50	0,51	0,51	0,53	0,56	0,53	0,56

Bảng 21B: Sự thay đổi trọng lượng cơ thể (kg)															
	Tuần	**0**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**
Chất dẫn thuốc	**Trung bình**	0,00	-0,09	-0,12	-0,14	0,00	-0,08	-0,09	0,00	0,14	0,13	0,24	0,26	0,28	0,39	0,34
	sem	0,00	0,05	0,07	0,09	0,09	0,09	0,10	0,10	0,12	0,13	0,13	0,14	0,17	0,18	0,17
h5H23	**Trung bình**	0,00	-0,24	-0,39	-0,57	-0,63	-0,84	-0,98	-1,08	-1,07	-1,13	-1,19	-1,22	-1,22	-1,25	-1,38
	sem	0,00	0,05	0,08	0,10	0,13	0,15	0,17	0,19	0,26	0,27	0,28	0,31	0,34	0,31	0,34

Bảng 22: BMI																
	Tuần	**-1**	**0**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**
Chất dẫn thuốc	**Trung bình**	57,59	57,06	56,59	56,44	56,33	57,08	56,63	56,59	57,06	58,27	58,17	58,76	58,86	59,00	59,60	59,33
	sem	2,41	2,45	2,45	2,33	2,31	2,28	2,30	2,23	2,25	2,55	2,52	2,60	2,60	2,53	2,46	2,51
h5H23	**Trung bình**	57,52	57,32	56,03	55,24	54,28	53,95	52,82	52,07	51,54	48,85	48,56	48,24	48,09	48,07	47,94	47,28
	sem	2,53	2,61	2,50	2,51	2,44	2,50	2,52	2,54	2,48	2,29	2,30	2,32	2,44	2,54	2,46	2,60

Bảng 23: Insulin (uU/mL)												
	Tuần	**-1 đến 0**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
Chất dẫn thuốc	**Trung bình**	114,85	100,09	91,06	124,79	187,36	159,20	226,53	145,78	186,75	204,96	181,32
	sem	32,75	19,94	26,33	37,48	62,09	51,60	130,94	34,74	39,85	52,63	52,28
h5H23	**Trung bình**	89,18	34,73	36,19	38,11	46,75	48,28	35,42	37,95	57,29	63,23	55,30
	sem	9,51	4,91	4,14	7,24	6,54	6,80	4,98	5,03	12,99	12,43	13,62

Bảng 24: Glucoza (mg/dL)												
	Tuần	**-1 đến 0**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
Chất dẫn thuốc	**Trung bình**	90,81	93,69	95,41	90,21	94,51	98,31	97,70	95,78	94,73	93,53	90,06
	sem	10,00	9,07	9,73	7,93	9,17	10,46	13,12	10,21	11,62	12,09	12,49
h5H23	**Trung bình**	90,85	87,37	83,19	84,92	85,62	80,52	80,97	79,60	81,90	78,20	76,60
	sem	11,67	6,61	6,92	8,02	6,75	5,67	6,32	4,30	4,97	7,07	5,49

Bảng 25: Triglyxerit (mmol/L)												
	Tuần	**-1 đến 0**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
Chất dẫn thuốc	**Trung bình**	0,93	0,76	0,92	0,70	1,36	0,90	1,15	1,20	1,54	1,35	1,26
	sem	0,25	0,08	0,16	0,10	0,27	0,14	0,38	0,22	0,35	0,38	0,37
h5H23	**Trung bình**	1,05	0,65	0,65	0,59	0,70	0,59	0,56	0,70	0,90	0,73	0,71
	sem	0,17	0,09	0,12	0,08	0,10	0,05	0,07	0,12	0,13	0,08	0,10

Trong nghiên cứu được lấy làm ví dụ khác, bốn mươi con khỉ cynomolgus đực bị béo phì tự nhiên được chọn, huấn luyện và cho ăn như được mô tả ở trên.

Giá trị cơ sở của các thông số khác nhau được dự tính trước khi điều trị như được thảo luận ở trên. Ví dụ, trọng lượng cơ thể, BMI, chu vi vòng bụng và độ dày nếp gấp da cơ sở được đo vào ngày -4, và mẫu máu cơ sở được lấy để đo glucoza, insulin, cholesterol tổng, LDL, HDL và triglyxerit huyết thanh vào ngày -3, sau khi nhịn ăn cả đêm. Dựa vào số liệu cơ sở này, các con vật được chia thành 5 nhóm (8 con mỗi nhóm) với 4 nhóm nhận các liều kháng thể kháng beta klotho khác nhau như kháng thể 5H23 được nhân hóa (ví dụ, VH SEQ ID NO: 271 và VL SEQ ID NO: 276) và một nhóm nhận đối chứng chất dẫn thuốc.

Vào ngày 0, nhóm động vật thứ nhất (n=8) nhận một liều đơn tiêm dưới da chứa 0,1 mg/kg kháng thể kháng beta klotho; nhóm động vật thứ hai (n=8) nhận một liều đơn tiêm dưới da chứa 1 mg/kg kháng thể kháng beta klotho, và nhóm động vật thứ ba (n=8) nhận một liều đơn tiêm dưới da chứa 10 mg/kg kháng thể kháng beta klotho. Bắt đầu từ ngày 0, nhóm động vật thứ tư (n=8) nhận một liều tiêm dưới da chứa 0,1 mg/kg kháng thể kháng beta klotho 4 tuần một lần trong thời gian 12 tuần. Đối với nhóm đối chứng, nhóm động vật thứ năm (n=8) nhận một liều chất dẫn thuốc 4 tuần một lần trong 12 tuần. Tiến hành điều trị vào 30 phút buổi sáng trước bữa sáng, và liều lượng là 0,2 mL/kg.

Theo dõi các thông số nghiên cứu trong suốt nghiên cứu. Ví dụ, lượng thức ăn nạp vào được tính toán đối với mỗi bữa ăn. Trọng lượng cơ thể, BMI, chu vi vòng bụng, và độ dày nếp gấp da được đo hằng tuần. Lấy máu ở các thời điểm, *ví dụ*, 3, 6, 12 và 24 giờ và 3, 4, 7, 10, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77, 84, và 112 ngày sau khi đo (các) liều, và thông số nghiên cứu, ví dụ, glucoza, insulin, total cholesterol, LDL, HDL và triglyxerit huyết thanh. Trong suốt nghiên cứu, tất cả động vật được theo dõi sức khỏe cẩn thận như được mô tả ở trên.

Kết quả được lấy làm ví dụ của nghiên cứu đáp ứng liều này được thể hiện trong các bảng 26-29. Bảng 26 thể hiện sự thay đổi trọng lượng cơ thể tương đối ở động vật được điều trị bằng kháng thể kháng beta klotho so với sự thay đổi trọng lượng cơ thể ở động vật được điều trị bằng chất dẫn thuốc. Như được thể hiện, một liều đơn tiêm

dưới da chứa 0,1 mg/kg, 1mg/kg, hoặc 10mg/kg kháng thể kháng beta klotho, hoặc bốn liều tiêm dưới da chứa 1mg/kg kháng thể kháng beta klotho làm giảm đáng kể trọng lượng cơ thể. Ngoài ra, duy trì trọng lượng cơ thể giảm vào ngày 112 đối với động vật nhận một liều đơn chứa 10 mg/kg kháng thể kháng beta klotho, hoặc đối với động vật nhận bốn liều chứa 1mg/kg kháng thể kháng beta klotho so với chất dẫn thuốc.

Như được thể hiện trong bảng 27, một liều đơn tiêm dưới da chứa 0,1 mg/kg, 1mg/kg, hoặc 10mg/kg kháng thể kháng beta klotho, hoặc bốn liều tiêm dưới da chứa 1mg/kg kháng thể kháng beta klotho làm giảm mức insulin huyết thanh so với nhóm đối chứng chất dẫn thuốc. Ngoài ra, bốn liều tiêm dưới da chứa 1mg/kg kháng thể kháng beta klotho làm giảm đáng kể mức glucoza huyết thanh, như được thể hiện trong bảng 28. Hơn thế nữa, các mức triglyxerit huyết thanh ở động vật được điều trị bằng một liều đơn tiêm dưới da chứa 1mg/kg, hoặc 10mg/kg kháng thể kháng beta klotho, hoặc bốn liều tiêm dưới da chứa 1mg/kg kháng thể kháng beta klotho, giảm đi so với động vật được điều trị bằng chất dẫn thuốc, như được thể hiện trong bảng 29.

Bảng 26A: Trọng lượng cơ thể

	Ngày	-4	4	10	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84	112
Chất dẫn thuốc	Trung bình	10,17	10,07	9,89	9,87	9,91	9,83	9,82	9,73	9,71	9,63	9,61	9,57	9,53	9,45	9,24
	sem	0,78	0,80	0,77	0,79	0,81	0,81	0,82	0,82	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,81
5H23 (0,1 mg/kg SD)	Trung bình	10,00	9,92	9,70	9,62	9,52	9,47	9,37	9,28	9,27	9,36	9,34	9,27	9,34	9,34	9,21
	sem	0,67	0,71	0,69	0,71	0,73	0,76	0,76	0,79	0,79	0,81	0,83	0,85	0,86	0,87	0,85
5H23 (1 mg/kg SD)	Trung bình	9,84	9,69	9,49	9,36	9,28	9,19	9,05	8,92	8,90	8,85	8,85	8,83	8,89	8,93	9,24
	sem	0,54	0,55	0,54	0,53	0,54	0,55	0,55	0,55	0,55	0,54	0,55	0,55	0,55	0,55	0,56
5H23 (10 mg/kg SD)	Trung bình	10,07	9,95	9,73	9,61	9,49	9,33	9,20	9,07	8,98	8,88	8,80	8,73	8,74	8,67	8,51
	sem	0,58	0,56	0,57	0,57	0,59	0,59	0,58	0,58	0,56	0,56	0,58	0,55	0,55	0,54	0,50
5H23 (1 mg/kg q4w)	Trung bình	10,05	9,86	9,66	9,51	9,40	9,31	9,14	8,92	8,84	8,74	8,63	8,53	8,45	8,41	8,29
	sem	0,42	0,45	0,43	0,42	0,44	0,44	0,43	0,43	0,42	0,41	0,42	0,40	0,40	0,39	0,38

Bảng 26B: Thay đổi trọng lượng cơ thể (kg)

	Ngày	-4	4	10	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84	112
Chất dẫn thuốc	Trung bình	0,00	-0,09	-0,28	-0,30	-0,26	-0,34	-0,35	-0,44	-0,45	-0,53	-0,56	-0,60	-0,64	-0,71	-0,93
	sem	0,00	0,05	0,05	0,04	0,06	0,08	0,10	0,13	0,14	0,16	0,18	0,19	0,22	0,23	0,27
5H23 (0,1 mg/kg SD)	Trung bình	0,00	-0,08	-0,30	-0,38	-0,49	-0,54	-0,64	-0,72	-0,74	-0,65	-0,66	-0,74	-0,66	-0,66	-0,80
	sem	0,00	0,08	0,06	0,09	0,11	0,15	0,17	0,20	0,22	0,24	0,26	0,28	0,30	0,31	0,28
5H23 (1 mg/kg SD)	Trung bình	0,00	-0,16	-0,35	-0,48	-0,56	-0,65	-0,79	-0,93	-0,95	-0,99	-1,00	-1,01	-0,95	-0,91	-0,60
	sem	0,00	0,03	0,04	0,04	0,05	0,07	0,08	0,09	0,11	0,13	0,15	0,19	0,21	0,22	0,20
5H23 (10 mg/kg SD)	Trung bình	0,00	-0,12	-0,34	-0,47	-0,59	-0,74	-0,88	-1,00	-1,10	-1,20	-1,27	-1,35	-1,34	-1,40	-1,56
	sem	0,00	0,05	0,07	0,08	0,10	0,12	0,12	0,11	0,15	0,15	0,16	0,17	0,15	0,16	0,23
5H23 (1 mg/kg q4w)	Trung bình	0,00	-0,18	-0,38	-0,54	-0,65	-0,74	-0,90	-1,13	-1,20	-1,30	-1,41	-1,52	-1,60	-1,64	-1,75
	sem	0,00	0,08	0,06	0,05	0,05	0,06	0,08	0,10	0,11	0,13	0,15	0,15	0,16	0,17	0,26

Bảng 27: Insulin

	Ngày	-3 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d	42 d	49 d	56 d	70 d	84 d	112 d
Chất dẫn thuốc	Trung bình	78,96	75,44	85,96	98,23	90,35	80,65	71,70	76,54	80,11	80,61	70,61	51,41
	sem	17,16	16,65	15,18	23,76	21,01	15,17	13,01	12,82	16,32	20,81	17,91	11,05
5H23 (0,1 mg/kg SD)	Trung bình	118,28	64,70	65,09	65,83	61,15	62,26	84,34	68,17	85,20	82,99	95,31	57,32
	sem	62,16	20,06	22,84	20,26	22,41	19,93	37,61	24,82	41,19	45,77	46,91	20,74
5H23 (1 mg/kg SD)	Trung bình	74,75	54,52	51,50	54,88	42,31	46,42	46,28	38,83	56,57	40,89	51,84	64,91
	sem	14,42	15,27	10,80	15,55	13,92	11,97	10,53	7,93	16,04	7,15	14,73	21,66
5H23 (10 mg/kg SD)	Trung bình	84,03	51,57	46,50	54,45	53,42	38,67	37,25	34,70	32,83	25,49	33,33	22,38
	sem	18,06	10,75	7,19	14,43	15,43	7,95	5,16	5,04	6,61	3,18	7,10	2,46
5H23 (1 mg/kg q4w)	Trung bình	133,82	52,88	61,67	109,20	49,94	38,83	37,60	47,85	40,18	32,42	30,58	22,14
	sem	57,35	18,45	14,30	40,07	13,96	9,93	12,32	13,85	11,96	8,21	10,73	4,17

Bảng 28: Glucoza

	Ngày	-3 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d	42 d	49 d	56 d	70 d	84 d	112 d
Chất dẫn thuốc	Trung bình	90,95	76,41	69,57	68,60	63,90	59,94	68,27	70,79	58,12	70,16	73,60	71,46
	sem	8,29	9,37	5,55	7,89	6,31	3,46	6,14	7,93	4,42	7,37	7,52	11,33
5H23 (0,1 mg/kg SD)	Trung bình	92,54	72,59	67,10	63,23	54,14	58,19	62,37	62,53	62,46	64,24	79,27	73,80
	sem	15,41	5,49	4,54	4,52	4,82	3,37	3,69	3,39	5,17	3,60	10,90	6,91
5H23 (1 mg/kg SD)	Trung bình	97,67	73,82	64,51	57,74	54,72	67,07	62,39	62,96	65,25	65,88	68,56	70,02
	sem	11,08	4,64	2,69	3,29	4,38	4,98	3,91	2,36	2,59	8,34	5,21	6,84
5H23 (10 mg/kg SD)	Trung bình	89,71	73,24	68,74	61,13	58,93	60,55	66,49	61,11	63,14	59,11	69,59	66,49
	sem	11,76	5,56	3,10	5,11	1,92	2,68	2,14	3,56	2,21	2,52	3,98	3,11
5H23 (1 mg/kg q4w)	Trung bình	130,01	87,28	81,11	77,56	71,89	67,82	67,79	66,98	65,34	63,23	72,56	69,50
	sem	21,21	15,15	10,15	13,41	6,83	7,05	7,56	4,99	6,98	3,75	6,66	4,98

Bảng 29: Triglyxerit

	Ngày	-3 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d	42 d	49 d	56 d	70 d	84 d	112 d
Chất dẫn thuốc	Trung bình	0,90	0,61	1,00	1,45	1,04	1,51	1,03	1,30	0,99	1,10	1,12	0,79
	sem	0,18	0,12	0,19	0,33	0,23	0,32	0,17	0,23	0,19	0,25	0,30	0,13
5H23 (0,1 mg/kg SD)	Trung bình	0,69	0,54	0,57	0,67	0,59	0,70	0,78	0,85	1,09	0,89	1,18	0,98
	sem	0,13	0,10	0,11	0,17	0,15	0,14	0,22	0,20	0,40	0,25	0,39	0,27
5H23 (1 mg/kg SD)	Trung bình	1,27	0,58	0,76	0,91	0,73	0,59	0,59	0,72	0,83	0,95	1,33	1,61
	sem	0,37	0,06	0,20	0,22	0,21	0,06	0,14	0,17	0,27	0,30	0,36	0,24
5H23 (10 mg/kg SD)	Trung bình	1,12	0,61	0,64	0,68	0,54	0,97	0,55	0,64	0,65	0,59	0,65	0,71
	sem	0,18	0,09	0,12	0,15	0,09	0,38	0,09	0,13	0,12	0,12	0,11	0,12
5H23 (1 mg/kg q4w)	Trung bình	1,24	0,65	0,68	0,77	0,65	0,57	0,56	0,55	0,57	0,49	0,53	0,53
	sem	0,36	0,18	0,19	0,28	0,11	0,11	0,09	0,13	0,14	0,10	0,08	0,07

Kết quả thu được từ các nghiên cứu động vật này chứng minh việc điều trị bằng kháng thể kháng beta klotho cải thiện các thông số chuyển hóa, ví dụ, như làm giảm trọng lượng cơ thể, chỉ số khối lượng cơ thể, chu vi vòng bụng, độ dày nếp gấp da, glucoza (ví dụ, glucoza huyết thanh), insulin (ví dụ, insulin huyết thanh) và/hoặc triglyxerit (ví dụ, triglyxerit huyết thanh).

Ví dụ 9: Epitop và lập bản đồ miền

Tiến hành các nghiên cứu để khoanh vùng vị trí gắn kết trên KLB của người của kháng thể kháng beta klotho trong thùng (nhóm) epitop 5H23, bao gồm 5H23 như được mô tả trong ví dụ 3, có trình tự được thể hiện trong các bảng 1-10 và trên các Fig. 1-3, và kháng thể kháng beta klotho của người trong thùng epitop 5H23, như kháng thể 5H23 được nhân hóa (ví dụ, VH SEQ ID NO: 271 và VL SEQ ID NO: 276). Ví dụ, thử nghiệm gắn kết trên cơ sở FACS để lập bản đồ miền được thực hiện trên các tế bào Expi293 (Life Technologies, A14635) trong thời gian ngắn được chuyển nhiễm tạm thời bằng plasmit mã hóa biến thể của KLB: của người, của chuột nhắt, của khỉ cynomolgus, dạng khảm trong đó trình tự miền KL1 của KLB của chuột nhắt (M1-F506) thay thế miền KL1 của KLB của người (M1-F508) tạo ra KLB của chuột nhắt-người (SEQ ID NO: 376), và dạng khảm thứ hai trong đó trình tự KL1 của người (M1-F508) thay thế miền KL1 của KLB của chuột nhắt (M1-F506) tạo ra KLB của người-chuột nhắt (SEQ ID NO: 374). Ngoài ra, vectơ biểu hiện pYD7 không mang trình tự KLB được chuyển nhiễm dưới dạng đối chứng âm.

Theo một số nghiên cứu, việc gắn kết mẫu tinh chế của kháng thể 5H23 được nhân hóa (ví dụ, VH SEQ ID NO: 271 và VL SEQ ID NO: 276) với các biến thể KLB được xác định bằng cách phân tích FACS. Hai ngày sau khi chuyển nhiễm, tế bào được ủ đồng thời với các kháng thể tinh chế: kháng thể 5H23 được nhân hóa (ví dụ, VH SEQ ID NO: 271 và VL SEQ ID NO: 276), kháng thể đối chứng (ví dụ, VH SEQ ID NO: 358 và VL SEQ ID NO: 360), và kháng thể đối chứng âm (ví dụ, kháng thể kháng hemoxyanin hà (keyhole limpet hemocyanin: KLH) biểu hiện từ cấu trúc bao gồm SEQ ID NO: 424 và 425) pha loãng đến 1 µg/ml trong PBS/1%BSA/0,1% azit trong 30 phút ở 4°C. Sau khi rửa bằng PBS/1% BSA/0,1% azit, tế bào chuyển nhiễm được ủ đồng thời với kháng Fc người được đánh dấu (Jackson Immunoresearch) trong 30 phút ở 4°C. Sau khi rửa bằng PBS/1% BSA/0,1% azit, tế bào được thu trên máy phân tích tế bào theo dòng chảy (FACS Calibur) và được phân tích bằng phần mềm phân tích tế bào (FlowJo). Để hiển thị số liệu thu được, vẽ đồ thị số tế bào dưới dạng hàm

của cường độ (phát) huỳnh quang, và xác định cường độ huỳnh quang trung bình (median fluorescence intensity - MFI) đối với mỗi mẫu được thể hiện trong bảng 30.

Bảng 30

Kháng thể	**KLB của chuột nhắt**	**KLB khảm của chuột nhắt-người**	**KLB khảm của người-chuột nhắt**	**KLB của người**	**KLB của khỉ Cynomolgus**	**Vectơ trống (-đối chứng)**
h5H23	14,2	26,1	9,29	865	1909	8,29
Đối chứng	10,6	5,6	71,9	620	1757	6,82
Đối chứng âm	9,59	5,44	6,01	6,2	9,26	5,41

* Đo cường độ huỳnh quang theo lý thuyết theo số liệu FACS sử dụng phần mềm phân tích FlowJo; Đối chứng âm là kháng thể kháng KLH.

Kháng thể 5H23 được nhân hóa được lấy làm ví dụ (ví dụ, VH SEQ ID NO: 271 và VL SEQ ID NO: 276) gắn kết với KLB của người và KLB của khỉ cynomolgus, như được chỉ ra bằng tỷ lệ lớn tế bào có cường độ huỳnh quang cao so với tế bào được điều trị bằng kháng thể kháng KLH đối chứng âm, nhưng kháng thể 5H23 được nhân hóa được lấy làm ví dụ không gắn kết với KLB của chuột nhắt. Kháng thể 5H23 được nhân hóa được lấy làm ví dụ còn gắn kết với protein KLB khảm của chuột nhắt-người, nhưng không gắn kết với protein KLB khảm của người-chuột nhắt chỉ ra rằng kháng thể kháng beta klotho trong thùng epitop 5H23, bao gồm 5H23 như được mô tả trong ví dụ 3, có trình tự được thể hiện trong các bảng 1-10 và trên các Fig. 1-3, và kháng thể kháng beta klotho của người trong thùng epitop 5H23, như kháng thể 5H23 được nhân hóa (ví dụ, VH SEQ ID NO: 271 và VL SEQ ID NO: 276) gắn kết với miền KL2 của KLB của người. Ngược lại, kháng thể đối chứng liên kết với miền KL1 của KLB của người như được chứng minh bởi việc gắn kết với tế bào được chuyển nhiễm protein KLB khảm của người-chuột nhắt, mà không phải protein KLB khảm của chuột nhắt-người.

Để nhận dạng tiếp các gốc gắn kết đặc hiệu trong miền KL2 của beta klotho của người, phương pháp gây đột biến bắn ngẫu nhiên (shotgun mutagenesis) được sử dụng để gây đột biến riêng rẽ các gốc riêng lẻ của miền KL2 của beta klotho của người thành alanin (ví dụ, các gốc F508A-L1008A). Protein đột biến beta klotho thu được được biểu hiện trong tế bào HEK-293T và được thử nghiệm bằng cách phân loại tế bào có

phát huỳnh quang (FACS) để gắn kết với kháng thể kháng beta klotho trong thùng epitop 5H23, bao gồm 5H23 như được mô tả trong ví dụ 3, có các trình tự được thể hiện trong các bảng 1-10 và trên các Fig. 1-3, và kháng thể kháng beta klotho của người trong thùng epitop 5H23, như kháng thể 5H23 được nhân hóa (ví dụ, VH SEQ ID NO: 271 và VL SEQ ID NO: 276), hoặc mảnh Fab đơn trị của kháng thể 5H23 được nhân hóa. Ví dụ, việc sàng lọc protein đột biến beta klotho được tiến hành ở nồng độ 0,5 µg/ml đối với kháng thể 5H23 được nhân hóa, 1,0 µg/ml đối với mảnh Fab, và 2,0 µg/ml đối với kháng thể kháng beta klotho đa dòng đối chứng dương.

Lập bản đồ nhận dạng được ba gốc gắn kết đặc hiệu, H657, Y701 và R703, là âm tính về gắn kết bằng kháng thể 5H23 được nhân hóa, nhưng là dương tính đối với kháng thể kháng beta klotho đa dòng đối chứng. Các gốc này thể hiện các axit amin mà các mạch bên của chúng góp phần mạnh mẽ nhất vào tương tác kháng thể-epitop như được thể hiện trong bảng 31. Vị trí của ba gốc đã nhận dạng này được tạo mô hình bằng cách thể hiện chúng (các mặt cầu tối) ở các vị trí tương đương trên beta-glucosidaza phần bào tan của người (PDB ID# 2JFE; Tribolo et al., J. Mol. Biol. *370*, 964-975 (2007)), nhận dạng được bằng cách sắp hàng BLAST của hai protein như được thể hiện trên Fig. 6. Cấu trúc thể hiện tương đương của các gốc beta klotho 521-963. Khả năng phản ứng thấp hơn của các đột biến Y701A và R703A với kháng thể 5H23 được nhân hóa chỉ ra rằng Y701 và R703 là các thành phần đóng góp chính vào sự gắn kết.

Bảng 31

Khả năng phản ứng gắn kết (%WT)		
Đột biến protein	**Kháng thể 5H23 được nhân hóa**	**Kháng thể đa dòng đối chứng**
H657A	16,88 (±11,93)	120,35 (±55,21)
Y701A	0,64 (±0,09)	43,37 (±5,78)
R703A	1,64 (±1,69)	131,59 (±19,98)

Do đó, kháng thể kháng beta klotho nêu trong bản mô tả này, bao gồm 5H23 và các kháng thể trong thùng epitop 5H23 nhận diện epitop trong miền KLB2 bao gồm các gốc H657, Y701 và/hoặc R703. Các kháng thể này, như được mô tả trong ví dụ 3 và thể hiện bởi và bao gồm trình tự CDR ở các bảng 1-10 và các Fig. 1-3, hữu dụng làm kháng thể chủ vận tạo ra tín hiệu qua trung gian FGF19 và/hoặc qua trung gian

FGF21, bao gồm, ví dụ, làm giảm trọng lượng cơ thể (thể trọng), lượng thức ăn nạp vào, BMI, insulin, glucoza và/hoặc triglyxerit.

Ngoài ra, kháng thể kháng beta klotho nêu trong bản mô tả này có đặc điểm chung là cạnh tranh với nhau để gắn kết beta klotho (xem, ví dụ 3 mô tả kháng thể trong thùng epitop 5H23). Sự ức chế cạnh tranh này chỉ ra rằng mỗi kháng thể gắn kết với cùng một vùng của beta klotho (ví dụ, cùng một epitop), nhờ đó đánh giá hiệu quả giống nhau. Như được lấy làm ví dụ tiếp trong bản mô tả này, kháng thể kháng beta klotho bao gồm kháng thể kháng beta klotho được nhân hóa, bao gồm kháng thể kháng beta klotho được nhân hóa có nguồn gốc từ hoặc dựa trên 5H23, 1C17, 1D19, 2L12, 3L3, 3N20, 4P5, 5C23, 5F7 và/hoặc 1G19 có trình tự CDR như được mô tả trong các bảng 1-10 hoặc trên các Fig. 1-3, như kháng thể kháng beta klotho, bao gồm kháng thể kháng beta klotho được nhân hóa, gắn kết với miền đặc hiệu của beta klotho của người (ví dụ, KL2 (các gốc S509-S1044) như được mô tả ở trên). Hơn nữa, việc gắn kết này có thể được chỉ định trên diện rộng cho các gốc axit amin cụ thể trong vùng KL2 (ví dụ, H657, Y701 và R703 như được mô tả ở trên), bao gồm epitop được nhận diện bởi kháng thể kháng beta klotho được mô tả trong bản mô tả này. Đồng thời, các kết quả này chứng minh rằng hiệu quả quan sát thấy đối với kháng thể kháng beta klotho mà có nguồn gốc từ hoặc dựa trên 5H23 hoặc kháng thể trong thùng eptitop 5H23, bao gồm kháng thể có một hoặc nhiều CDR được mô tả trong các bảng 1-10 hoặc trên các Fig. 1-3, có thể được ngoại suy cho kháng thể kháng beta klotho khác được mô tả trong bản mô tả này có cùng hoặc giống độ đặc hiệu epitop (ví dụ, có cùng CDR hoặc CDR giống nhau). Ví dụ, hoạt tính *in vitro* của kháng thể như được thể hiện trong các ví dụ 4-7 nêu trên, cũng như hiệu quả *in vivo* được chứng minh trong ví dụ 8 đối với kháng thể kháng beta klotho được nhân hóa được lấy làm ví dụ, là đại diện cho hoạt tính và hiệu quả của kháng thể kháng beta klotho được mô tả trong bản mô tả này.

Các phương án của sáng chế mô tả ở trên chỉ nhằm làm ví dụ minh họa, và người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ nhận ra, hoặc có thể xác định được chỉ bằng cách sử dụng thử nghiệm thông thường, nhiều dạng tương đương của các quy trình cụ thể được mô tả trong bản mô tả này. Tất cả các dạng tương đương này được coi là nằm trong phạm vi của sáng chế và được bao hàm bởi yêu cầu bảo hộ dưới đây. Ngoài ra, khi sử dụng trong bản mô tả và yêu cầu bảo hộ của sáng chế này, dạng số ít bao gồm cả dạng số nhiều trừ khi có quy định khác. Do đó, ví dụ, nhắc đến "kháng thể" có thể bao gồm hỗn hợp gồm hai hoặc nhiều kháng thể, và dạng tương tự.

Ngoài ra, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ nhận ra rằng trình tự hoạt động phải được đặt theo một số thứ tự cụ thể nhằm mục đích giải thích và yêu cầu bảo hộ, nhưng sáng chế dự tính đến nhiều thay đổi khác nhau ngoài thứ tự cụ thể này.

Nội dung các tài liệu tham khảo được mô tả trong bản mô tả này được đưa vào theo cách viện dẫn.

Các phương án khác nằm trong yêu cầu bảo hộ dưới đây.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể gắn kết với miền beta klotho 2 (KLB2) chứa các gốc axit amin từ 657 đến 703 của beta klotho của người (SEQ ID NO:297), trong đó kháng thể này bao gồm:

(a) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm:

CDR1 bao gồm SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:12, hoặc SEQ ID NO:13;

CDR2 bao gồm SEQ ID NO:2 hoặc SEQ ID NO:14; và

CDR3 bao gồm SEQ ID NO:3 hoặc SEQ ID NO:15;

và

(a) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm:

CDR1 bao gồm SEQ ID NO:4 hoặc SEQ ID NO:16;

CDR2 bao gồm SEQ ID NO:5 hoặc SEQ ID NO:11; và

CDR3 bao gồm SEQ ID NO:6 hoặc SEQ ID NO:17.

2. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể này bao gồm:

(a) vùng biến đổi chuỗi nặng chứa CDR1 bao gồm SEQ ID NO:1, CDR2 bao gồm SEQ ID NO:2, và CDR3 bao gồm SEQ ID NO:3; và

(b) vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa CDR1 bao gồm SEQ ID NO:4, CDR2 bao gồm SEQ ID NO:5, và CDR3 bao gồm SEQ ID NO:6.

3. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể này bao gồm:

(a) vùng biến đổi chuỗi nặng chứa CDR1 bao gồm SEQ ID NO:12, CDR2 bao gồm SEQ ID NO:2, và CDR3 bao gồm SEQ ID NO:3; và

(b) vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa CDR1 bao gồm SEQ ID NO:4, CDR2 bao gồm SEQ ID NO:5, và CDR3 bao gồm SEQ ID NO:6.

4. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể này bao gồm:

(a) vùng biến đổi chuỗi nặng chứa CDR1 bao gồm SEQ ID NO:13, CDR2 bao gồm SEQ ID NO:14, và CDR3 bao gồm SEQ ID NO:15; và

(b) vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa CDR1 bao gồm SEQ ID NO:16, CDR2 bao gồm SEQ ID NO:11, và CDR3 bao gồm SEQ ID NO:17.

5. Kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng có ít nhất 90% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:25 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất 90% trình tự đồng nhất với SEQ ID NO:26.

6. Kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:25 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:26.

7. Kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:271 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:276.

8. Kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó kháng thể này gắn kết epitop bao gồm ít nhất một trong số các gốc axit amin 657, 701, và/hoặc 703 của beta klotho của người (SEQ ID NO: 297).

9. Kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó kháng thể này là kháng thể đơn dòng, kháng thể được nhân hóa, hoặc kháng thể khảm.

10. Kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó kháng thể này là Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv, scFv, $(scFv)_2$, phân tử kháng thể chuỗi đơn, kháng thể vùng biến đổi kép, kháng thể thẳng, hoặc kháng thể đa đặc hiệu được tạo thành từ các mảnh kháng thể.

11. Polynucleotit được phân lập mã hóa kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10.

12. Vectơ chứa polynucleotit theo điểm 11.

13. Tế bào chủ chứa polynucleotit theo điểm 11 hoặc vectơ theo điểm 12.

14. Dược phẩm chứa kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10, và chất mang dược dụng.

```
Kabat    1         10          22        31---35     40          50--abc------60---65
AbM      1         10          22    26--------35    40          50--abc----58      65
Chothia  1         10          22    26------32      40             abc-55          65
Contact  1         10          22       30----35     40      47------abc----58      65
IMGT     1                     23    27------38  41                56-------65      74
AHon     1                     23    27        42                57                76
5H23     QVQLQQSGPELVKPGALVKISCKAS GYTFTS-YDIN WVKQRPGQGLEWIG WIYP--GDGSTKYNEKFKG
1C17     QVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVT GYSITSGYYWN WIRQFPGNKLEWMG YIN---YDGNSNYTPSLKN
1D19     QVQPQESGPELVKPGALVKISCKAS GYTFTR-YDIN WMKQRPGQGLEWIG WIYP--GDSSTKFNENFKD
2L12     QVQLQQSGPELVKPGALVKISCKAS GYTFTR-YDIN WVKKRPGQGLEWIG WIYP--GDDSTKYNEKFKG
3L3      QVQPQESGPELVKPGTLVKISCKAS GYTFTS-YDIN WVKQRPGQGLEWIG WIYP--GDGSPKYDEKFKG
3N20     QVQLQESGAELARPGASVKLSCKVS GYIFTN-YGIS WVKQRTGQGLEWIG EIYP--RSGNTYYNEKFKG
4P5      QVQLQQSGPELVKPGALVKISCKAS GYTFTR-YDIN WVKKRPGQGLEWIG WIYP--GDDSTKYNEKFKG
5C23     QVQPQESGPELVKPGALVKISCKAS GYTFTR-YDIN WVKKRPGQGLEWIG WIYP--GDGSTKYNEKFEG
5F7      QVQPQESGPELVKPGALVKISCKAS GYTFTR-YDIN WVKQRPGQGLEWIG WIYP--GDISTKYNEKFKG
1G19     QVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVT GYSITSGYYWN WIRQFPGNKLEWMG YIN---YGGSNNYNPSLKN

Kabat      70        80  abc       90    95--100----102      110
AbM        70        80  abc       90    95--100----102      110
Chothia    70        80  abc       90     96-100---101       110
Contact    70        80  abc       90 93-----100---101       110
IMGT   75              89            105-----------117
AHon                                106 109         138
5H23     KATLTADKSSRTAYMQLSSLTSENSAVYFCAR SDYYGSRSF--AY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:25)
1C17     RISITRDTSKNQFFLKLNSVTPEDTATYYCAR KGAYYSNYDSFDV WGTGTTVTVSS (SEQ ID NO:51)
1D19     KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSTVYFCAR SDYYGSRSF--TY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:77)
2L12     KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSAVYFCAR SDYYGSRSF--VY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:103)
3L3      KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSAVYFCAR SDYYGSRSF--VY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:129)
3N20     KATLTADMSSSTAYMDLRSLTSEDSAVYFCAR HWDGVLDYF--DY WGQGTSLTVSS (SEQ ID NO:155)
4P5      KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSAVYFCAR SDYYGSRSF--VY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:181)
5C23     KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSAVYFCAR SDYYGSRSF--VY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:207)
5F7      KATLTADKSSSTAYMQLNSLTSENSAVYFCAR SDYYGSRSF--VY WGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:233)
1G19     RISITRDTSKNQFFLKLTSVTTEDTATYYCAR RGAYYSNYDSFDV WGTGTTVTVSS (SEQ ID NO:259)
```

FIG. 1A

```
Kabat    1         10         20   24-27abcd-------34      40          50----56
AbM      1         10         20   24----30abcd----34      40          50----56
Chothia  1         10         20     26--30abcd--32        40          50--
Contact  1         10         20          30abcd-------36  40     46---------55
IMGT     1                       23   27----------38  41                56-65 69
                                                                        | |
AHon     1                          23                  42              58    72
5H23     DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC RASKSVST--SGYVYMH WNQQKPGQPPKLLIY LASYLES
1C17     DIKMTQSPSSMYASLGERVTITC KASQDINS------YLS WVQQKPGKSPKTLIY RANRLVD
1D19     DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC RASKSVST--SGYSYMH WYQQKPGQPPKLLIY LASNLES
2L12     DIVLTQSPASLPVSLGQRATISC RASKSVST--SGYSYLH WYQQKPGQPPKLLIY LASNLES
3L3      DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC RASKSVST--SGYSYVH WYQQKPGQPPKLLIY LASNLES
3N20     DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMSC KSSQSLLNSGNQKNYLA WYQQKPGQPPKLLIY GASTRES
4P5      DILLTQSPASLAVSLGQRATISC RASKSVST--SGYSYMH WYQQKPGQPPKLLIY LASNLES
5C23     DIVLTQSPDSLTVSLGQRATISC RASKSVST--SGYSYMH WYQQKPGQPPKLLIY LASNLES
5F7      DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC RASKSVST--SGYSYMH WYQQKPGQPPKLLIY LASNLES
1G19     DIKMTQSPSSMYASLGERVTITC KASQDINS------YLS WFQQKPGKSPKTLIY RANRLVD
```

```
Kabat      60         70         80        89------97
AbM        60         70         80        89------97
Chothia    60         70         80          91---96
Contact    60         70         80        89-----96
IMGT    70                 89              105-----117
AHon    73                 91              107     138
5H23     GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAAIYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:26)
1C17     GVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLEYEDMGIYYC LQYDEFPFT FGSGTKLEIK (SEQ ID NO:52)
1D19     GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC QHSRELPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:78)
2L12     GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC QHSGELPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:104)
3L3      GVPARFSGRGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC QHSGELPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:130)
3N20     GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYC LNDHSYPFT FGAGTKLELK (SEQ ID NO:156)
4P5      GVPARFSGRGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC HHSGELPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:182)
5C23     GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC QHSRELPYT FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:208)
5F7      GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC QHSRELPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:234)
1G19     GVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLEYEEMGIYYC LQYDEFPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:260)
```

FIG. 1B

Miền VH

| | | |

Miền VH (tiếp tục)

Kabat	70	80	abc	90	**95--100----102**	110	
AbM	70	80	abc	90	**95--100----102**	110	
Chothia	70	80	abc	90	**96-100---101**	110	
Contact	70	80	abc	90	**93-----100---101**	110	
IMGT	75	89			**105----------117**		
AHon					106 109	138	
5H23	KATLTADKSSRTAYMQLSSLTSENSAVYFCAR				SDYYGSRSF--AY	WGQGTLVTVSA	(SEQ ID NO:25)
1D19	KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSTVYFCAR				SDYYGSRSF--TY	WGQGTLVTVSA	(SEQ ID NO:77)
2L12	KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSAVYFCAR				SDYYGSRSF--VY	WGQGTLVTVSA	(SEQ ID NO:103)
3L3	KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSAVYFCAR				SDYYGSRSF--VY	WGQGTLVTVSA	(SEQ ID NO:129)
4P5	KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSAVYFCAR				SDYYGSRSF--VY	WGQGTLVTVSA	(SEQ ID NO:181)
5C23	KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSENSAVYFCAR				SDYYGSRSF--VY	WGQGTLVTVSA	(SEQ ID NO:207)
5F7	KATLTADKSSSTAYMQLNSLTSENSAVYFCAR				SDYYGSRSF--VY	WGQGTLVTVSA	(SEQ ID NO:233)
liên ứng hoặc					**SDYYGSRSF--VY (SEQ ID NO:81)**		
liên ứng					**SDYYGSRSF--X_1Y** trong đó **X_1 = V,T,A (SEQ ID NO:263)**		
1C17	RISITRDTSKNQFFLKLNSVTPEDTATYYCAR				KGAYYSNYDSFDV	WGTGTTVTVSS	(SEQ ID NO:51)
1G19	RISITRDTSKNQFFLKLTSVTTEDTATYYCAR				RGAYYSNYDSFDV	WGTGTTVTVSS	(SEQ ID NO:259)
liên ứng					**X_1GAYYSNYDSFDV** trong đó **X_1 = K,R (SEQ ID NO:265)**		
3N20	KATLTADMSSSTAYMDLRSLTSEDSAVYFCAR				HWDGVLDYF--DY	WGQGTSLTVSS	(SEQ ID NO:155)

FIG. 2A-2

Miền VL

| | | |

Miền VL (tiếp tục)

```
Kabat      60         70         80         89-------97
AbM        60         70         80         89-------97
Chothia    60         70         80           91---96
Contact    60         70         80         89------96
IMGT   70                89                105-----117
AHon   73                91                107     138
5H23    GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAAIYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:26)
1D19    GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC QHSRELPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:78)
2L12    GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC QHSGELPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:104)
3L3     GVPARFSGRGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC QHSGELPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:130)
4P5     GVPARFSGRGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC HHSGELPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:182)
5C23    GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC QHSRELPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:208)
5F7     GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYC QHSRELPYT FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:234)
liên ứng                                  X1HSX2ELPYT trong đó X1 = Q,H; trong đó X2 = R,G
                                          (SEQ ID NO:267)

1C17    GVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLEYEDMGIYYC LQYDEFPFT FGSGTKLEIK (SEQ ID NO:52)
1G19    GVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLEYEEMGIYYC LQYDEFPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:260)
liên ứng                                  LQYDEFPX1T trong đó X1 = F,Y
                                          (SEQ ID NO:268)
3N20    GVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYC LNDHSYPFT FGAGTKLELK (SEQ ID NO:156)
```

FIG. 2B-2

Miền VH

```
Kabat      1         10          22          31--35    40          50--a------60---65
AbM        1         10          22       26-------35  40          50--a-----58      65
Chothia    1         10          22       26----32     40             a-55           65
Contact    1         10          22           30---35  40       47-------a----58      65
IMGT       1                     23       27------38  41              56------65      74
AHon       1                     23       27        42                57              76
5H23       QVQLQQSGPELVKPGALVKISCKAS GYTFTSYDIN WVKQRPGQGLEWIG WIYPGDGSTKYNEKFKG
5H23v1-3   QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTSYDIN WVRQAPGQRLEWMG WIYPGDGSTKYNEKFKG
vH1        QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTSYDIN WVRQAPGQGLEWMG WIYPGDGSTKYNEKFKG
vH2        QVQLVQSGPEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTSYDIN WVRQRPGQGLEWMG WIYPGDGSTKYNEKFKG
vH3        QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTSYDIN WVRQAPGQGLEWIG WIYPGDGSTKYNEKFKG
vH4        QVQLVQSGPEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTSYDIN WVRQRPGQGLEWIG WIYPGDGSTKYNEKFKG
vH5        QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTSYDIN WVRQAPGQGLEWIG WIYPGDGSTKYNEKFKG
vH6        QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFTSYDIN WVKQAPGQGLEWIG WIYPGDGSTKYNEKFKG

5H23v1-69  QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GYTFTSYDIN WVRQAPGQGLEWMG WIYPGDGSTKYNEKFKG
vH7        QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GYTFTSYDIN WVRQAPGQGLEWIG WIYPGDGSTKYNEKFKG
vH8        QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GYTFTSYDIN WVRQAPGQGLEWIG WIYPGDGSTKYNEKFKG
vH9        QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GYTFTSYDIN WVRQAPGQGLEWIG WIYPGDGSTKYNEKFKG
```

FIG. 3A-1

Miền VH (tiếp tục)

```
Kabat          70          80  abc       90     95--100--102       110
AbM            70          80  abc       90     95--100--102       110
Chothia        70          80  abc       90      96-100-101        110
Contact        70          80  abc       90 93-----100-101         110
IMGT      75                  89            105----------117
AHon                                    106 109       138
5H23       KATLTADKSSRTAYMQLSSLTSENSAVYFCAR SDYYGSRSFAY WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:25)
5H23v1-3   RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR SDYYGSRSFAY WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:323)
vH1        RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR SDYYGSRSFAY WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:269)
vH2        RVTITADKSARTAYMELSSLTSEDTAVYYCAR SDYYGSRSFAY WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:270)
vH3        KATITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYFCAR SDYYGSRSFAY WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:271)
vH4        RVTITADKSARTAYMELSSLTSEDTAVYYCAR SDYYGSRSFAY WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:272)
vH5        KATLTADTSASTAYMELSSLRSENTAVYFCAR SDYYGSRSFAY WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:273)
vH6        KATLTADKSARTAYMELSSLRSENTAVYFCAR SDYYGSRSFAY WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:274)

5H23v1-69  RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR SDYYGSRSFAY WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:414)
vH7        RATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR SDYYGSRSFAY WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:320)
vH8        RATLTADKSTRTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR SDYYGSRSFAY WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:321)
vH9        RATITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR SDYYGSRSFAY WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:322)
```

FIG. 3A-2

Miền VL

```
Kabat        1         10         20   24-27abcd-----34      40          50----56
AbM          1         10         20   24----30ab----34      40          50----56
Chothia      1         10         20     26--30ab--32        40          50--
Contact      1         10         20          30ab-------36  40     46---------55
IMGT         1                       23   27-------38  41                56-65 69
                                                                          | |
AHon         1                       23               42                58    72
5H23      DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC RASKSVSTSGYVYMH WNQQKPGQPPKLLIY LASYLES
5H23v4-1  DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASKSVSTSGYVYMH WYQQKPGQPPKLLIY LASYLES
vL1       DIVLTQSPDSLAVSLGERATINC RASKSVSTSGYVYMH WNQQKPGQPPKLLIY LASYLES
vL2       DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASKSVSTSGYVYMH WYQQKPGQPPKLLIY LASYLES
vL3       DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASKSVSTSGYVYMH WNQQKPGQPPKLLIY LASYLES
vL4       DIVLTQSPDSLAVSLGERATINC RASKSVSTSGYVYMH WNQQKPGQPPKLLIY LASYLES
vL5       DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASKSVSTSGYVYMH WNQQKPGQPPKLLIY LASYLES

Kabat        60         70         80         89------97
AbM          60         70         80         89------97
Chothia      60         70         80           91---96
Contact      60         70         80         89-----96
IMGT      70                89               105-----117
AHon      73                91               107     138
5H23      GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAAIYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:26)
5H23v4-1  GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:355)
vL1       GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSVQAEDAAIYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:275)
vL2       GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSVQAEDVAVYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:276)
vL3       GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSVQAEDVAIYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:277)
vL4       GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QHSRDLTFP FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:325)
vL5       GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QHSRDLTFP FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:326)
```

FIG. 3B

Miền VL

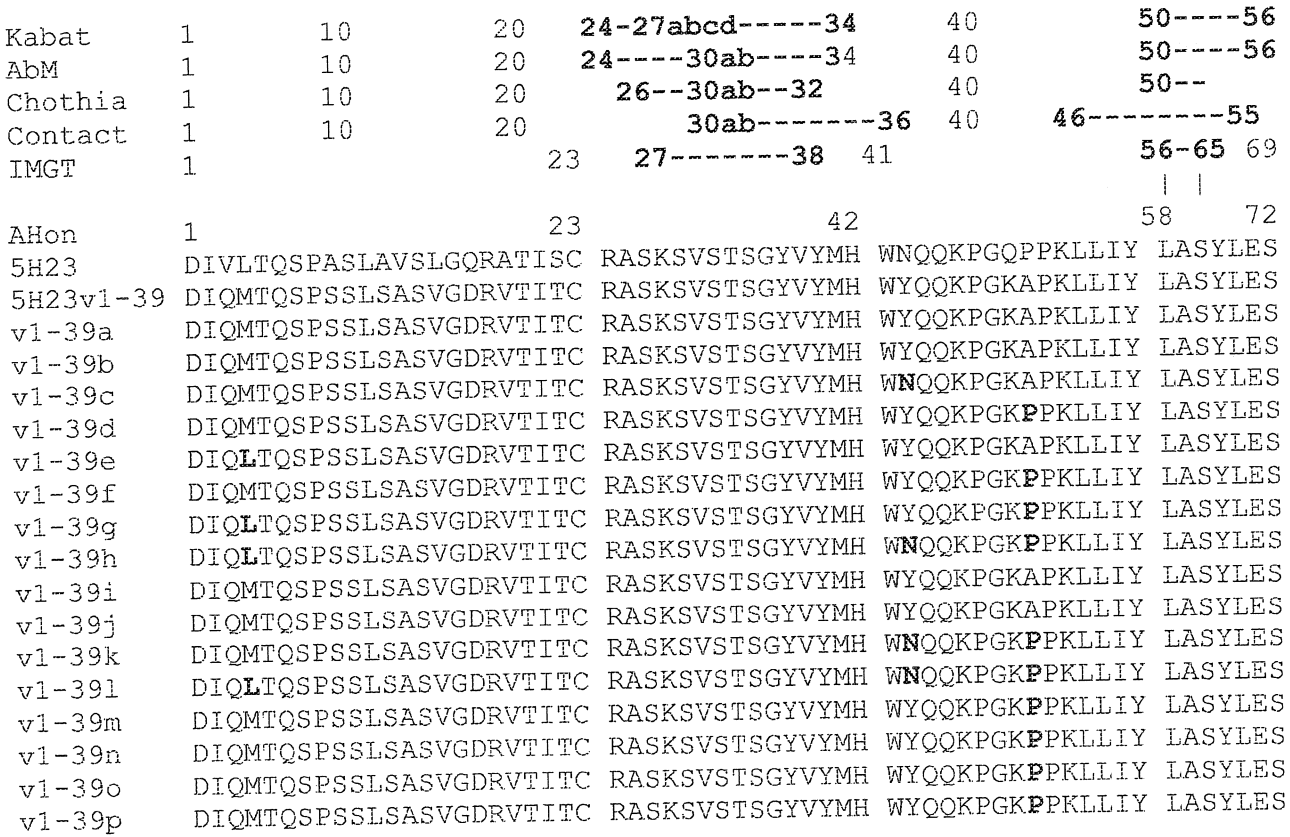


FIG. 3C-1

Miền VL (tiếp tục)

```
Kabat          60          70          80          89------97
AbM            60          70          80          89------97
Chothia        60          70          80            91---96
Contact        60          70          80          89-----96
IMGT       70                  89                 105-----117
AHon       73                  91                 107     138
5H23        GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAAIYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:26)
5H23v1-39  GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:353)
v1-39a     GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QHSRDLTFP FGQGTKLEIK (SEQ ID NO:327)
v1-39b     GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:328)
v1-39c     GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:329)
v1-39d     GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:330)
v1-39e     GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:331)
v1-39f     GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:332)
v1-39g     GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:333)
v1-39h     GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:334)
v1-39i     GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQEEDFATYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:335)
v1-39j     GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQEEDFATYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:336)
v1-39k     GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQEEDFATYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:337)
v1-39l     GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQEEDAATYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:338)
v1-39m     GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQEEDFATYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:339)
v1-39m     GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQEEDAATYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:340)
v1-39o     GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYC QHSRDLTFP FGQGTKLEIK (SEQ ID NO:341)
v1-39p     GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQEEDFATYYC QHSRDLTFP FGQGTKLEIK (SEQ ID NO:342)
```

FIG. 3C-2

Miền VL

| | | |

Miền VL (tiếp tục)

```
Kabat          60          70          80          89------97
AbM            60          70          80          89------97
Chothia        60          70          80            91---96
Contact        60          70          80          89-----96
IMGT       70                  89                 105-----117
AHon       73                  91                 107     138
5H23        GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAAIYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:26)
5H23v3-20  GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:354)
v3-20a     GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QHSRDLTFP FGQGTKLEIK (SEQ ID NO:343)
v3-20b     GIPARFSGSGSGTDFTLTISRVEPEDFAVYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:344)
v3-20c     GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:345)
v3-20d     GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:346)
v3-20e     GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDAAVYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:347)
v3-20f     GIPARFSGSGSGTDFTLTISRVEPEDFAVYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:348)
v3-20g     GIPARFSGSGSGTDFTLTISRVEPEDFAVYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:349)
v3-20h     GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEEEDFAVYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:350)
v3-20i     GIPARFSGSGSGTDFTLTISRVEEEDFAVYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:351)
v3-20j     GIPARFSGSGSGTDFTLTISRVEEEDAAVYYC QHSRDLTFP FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:352)
```

FIG. 3D-2

4 A

```
                                                40                                                  80
người       MKPGCAAGSPGNEWIFFSTDEITTRYRNTMSNGGLQRSVILSALILLRAVTGFSGDGRAIWSKNPNFTPVNESQLFLYDT
chMoHu      MKTGCAAGSPGNEWIFFSSDERNTRSRKTMSNRALQRSAVLSAFVLLRAVTGFSGDGKAIWDKKQYVSPVNPSQLFLYDT
chHuMo      MKPGCAAGSPGNEWIFFSTDEITTRYRNTMSNGGLQRSVILSALILLRAVTGFSGDGRAIWSKNPNFTPVNESQLFLYDT
chuột nhắt  MKTGCAAGSPGNEWIFFSSDERNTRSRKTMSNRALQRSAVLSAFVLLRAVTGFSGDGKAIWDKKQYVSPVNPSQLFLYDT

                                               120                                                 160
người       FPKNFFWGIGTGALQVEGSWKKDGKGPSIWDHFIHTHLKNVSSTNGSSDSYIFLEKDLSALDFIGVSFYQFSISWPRLFP
chMoHu      FPKNFSWGVGTGAFQVEGSWKTDGRGPSIWDRYVYSHLRGVNGTDRSTDSYIFLEKDLLALDFLGVSFYQFSISWPRLFP
chHuMo      FPKNFFWGIGTGALQVEGSWKKDGKGPSIWDHFIHTHLKNVSSTNGSSDSYIFLEKDLSALDFIGVSFYQFSISWPRLFP
chuột nhắt  FPKNFSWGVGTGAFQVEGSWKTDGRGPSIWDRYVYSHLRGVNGTDRSTDSYIFLEKDLLALDFLGVSFYQFSISWPRLFP

                                               200                                                 240
người       DGIVTVANAKGLQYYSTLLDALVLRNIEPIVTLYHWDLPLALQEKYGGWKNDTIIDIFNDYATYCFQMFGDRVKYWITIH
chMoHu      NGTVAAVNAQGLRYYRALLDSLVLRNIEPIVTLYHWDLPLTLQEEYGGWKNATMIDLFNDYATYCFQTFGDRVKYWITIH
chHuMo      DGIVTVANAKGLQYYSTLLDALVLRNIEPIVTLYHWDLPLALQEKYGGWKNDTIIDIFNDYATYCFQMFGDRVKYWITIH
chuột nhắt  NGTVAAVNAQGLRYYRALLDSLVLRNIEPIVTLYHWDLPLTLQEEYGGWKNATMIDLFNDYATYCFQTFGDRVKYWITIH

                                               280                                                 320
người       NPYLVAWHGYGTGMHAPGEKGNLAAVYTVGHNLIKAHSKVWHNYNTHFRPHQKGWLSITLGSHWIEPNRSENTMDIFKCQ
chMoHu      NPYLVAWHGFGTGMHAPGEKGNLTAVYTVGHNLIKAHSKVWHNYDKNFRPHQKGWLSITLGSHWIEPNRTDNMEDVINCQ
chHuMo      NPYLVAWHGYGTGMHAPGEKGNLAAVYTVGHNLIKAHSKVWHNYNTHFRPHQKGWLSITLGSHWIEPNRSENTMDIFKCQ
chuột nhắt  NPYLVAWHGFGTGMHAPGEKGNLTAVYTVGHNLIKAHSKVWHNYDKNFRPHQKGWLSITLGSHWIEPNRTDNMEDVINCQ

                                               360                                                 400
người       QSMVSVLGWFANPIHGDGDYPEGMRKKLFSVLPIFSEAEKHEMRGTADFFAFSFGPNNFKPLNTMAKMGQNVSLNLREAL
chMoHu      HSMSSVLGWFANPIHGDGDYPEFMKTG--AMIPEFSEAEKEEVRGTADFFAFSFGPNNFRPSNTVVKMGQNVSLNLRQVL
chHuMo      QSMVSVLGWFANPIHGDGDYPEGMRKKLFSVLPIFSEAEKHEMRGTADFFAFSFGPNNFKPLNTMAKMGQNVSLNLREAL
chuột nhắt  HSMSSVLGWFANPIHGDGDYPEFMKTG--AMIPEFSEAEKEEVRGTADFFAFSFGPNNFRPSNTVVKMGQNVSLNLRQVL

                                               440                                                 480
người       NWIKLEYNNPRILIAENGWFTDSRVKTEDTTAIYMMKNFLSQVLQAIRLDEIRVFGYTAWSLLDGFEWQDAYTIRRGLFY
chMoHu      NWIKLEYDDPQILISENGWFTDSYIKTEDTTAIYMMKNFLNQVLQAIKFDEIRVFGYTAWTLLDGFEWQDAYTTRRGLFY
chHuMo      NWIKLEYNNPRILIAENGWFTDSRVKTEDTTAIYMMKNFLSQVLQAIRLDEIRVFGYTAWSLLDGFEWQDAYTIRRGLFY
chuột nhắt  NWIKLEYDDPQILISENGWFTDSYIKTEDTTAIYMMKNFLNQVLQAIKFDEIRVFGYTAWTLLDGFEWQDAYTTRRGLFY
```

FIG. 4B

```
                                                520                                                560
người       VDFNSKQKERKPKSSAHYYKQIIRENGFSLKESTPDVQGQFPCDFSWGVTESVLKPESVASSPQFSDPHLYVWNATGNRL
chMoHu      VDFNSEQKERKPKSSAHYYKQIIQDNGFSLKESTPDVQGQFPCDFSWGVTESVLKPESVASSPQFSDPHLYVWNATGNRL
chHuMo      VDFNSKQKERKPKSSAHYYKQIIRENGFPLKESTPDMKGRFPCDFSWGVTESVLKPEFTVSSPQFTDPHLYVWNVTGNRL
chuột nhắt  VDFNSEQKERKPKSSAHYYKQIIQDNGFPLKESTPDMKGRFPCDFSWGVTESVLKPEFTVSSPQFTDPHLYVWNVTGNRL

                                                600                                                640
người       LHRVEGVRLKTRPAQCTDFVNIKKQLEMLARMKVTHYRFALDWASVLPTGNLSAVNRQALRYYRCVVSEGLKLGISAMVT
chMoHu      LHRVEGVRLKTRPAQCTDFVNIKKQLEMLARMKVTHYRFALDWASVLPTGNLSAVNRQALRYYRCVVSEGLKLGISAMVT
chHuMo      LYRVEGVRLKTRPSQCTDYVSIKKRVEMLAKMKVTHYQFALDWTSILPTGNLSKVNRQVLRYYRCVVSEGLKLGVFPMVT
chuột nhắt  LYRVEGVRLKTRPSQCTDYVSIKKRVEMLAKMKVTHYQFALDWTSILPTGNLSKVNRQVLRYYRCVVSEGLKLGVFPMVT

                                                680                                                720
người       LYYPTHAHLGLPEPLLHADGWLNPSTAEAFQAYAGLCFQELGDLVKLWITINEPNRLSDIYNRSGNDTYGAAHNLLVAHA
chMoHu      LYYPTHAHLGLPEPLLHADGWLNPSTAEAFQAYAGLCFQELGDLVKLWITINEPNRLSDIYNRSGNDTYGAAHNLLVAHA
chHuMo      LYHPTHSHLGLPLPLLSSGGWLNMNTAKAFQDYAELCFRELGDLVKLWITINEPNRLSDMYNRTSNDTYRAAHNLMIAHA
chuột nhắt  LYHPTHSHLGLPLPLLSSGGWLNMNTAKAFQDYAELCFRELGDLVKLWITINEPNRLSDMYNRTSNDTYRAAHNLMIAHA

                                                760                                                800
người       LAWRLYDRQFRPSQRGAVSLSLHADWAEPANPYADSHWRAAERFLQFEIAWFAEPLFKTGDYPAAMREYIASKHRRGLSS
chMoHu      LAWRLYDRQFRPSQRGAVSLSLHADWAEPANPYADSHWRAAERFLQFEIAWFAEPLFKTGDYPAAMREYIASKHRRGLSS
chHuMo      QVWHLYDRQYRPVQHGAVSLSLHCDWAEPANPFVDSHWKAAERFLQFEIAWFADPLFKTGDYPSVMKEYIASKNQRGLSS
chuột nhắt  QVWHLYDRQYRPVQHGAVSLSLHCDWAEPANPFVDSHWKAAERFLQFEIAWFADPLFKTGDYPSVMKEYIASKNQRGLSS

                                                840                                                880
người       SALPRLTEAERRLLKGTVDFCALNHFTTRFVMHEQLAGSRYDSDRDIQFLQDITRLSSPTRLAVIPWGVRKLLRWVRRNY
chMoHu      SALPRLTEAERRLLKGTVDFCALNHFTTRFVMHEQLAGSRYDSDRDIQFLQDITRLSSPTRLAVIPWGVRKLLRWVRRNY
chHuMo      SVLPRFTAKESRLVKGTVDFYALNHFTTRFVIHKQLNTNRSVADRDVQFLQDITRLSSPSRLAVTPWGVRKLLAWIRRNY
chuột nhắt  SVLPRFTAKESRLVKGTVDFYALNHFTTRFVIHKQLNTNRSVADRDVQFLQDITRLSSPSRLAVTPWGVRKLLAWIRRNY

                                                920                                                960
người       GDMDIYITASGIDDQALEDDRLRKYYLGKYLQEVLKAYLIDKVRIKGYYAFKLAEEKSKPRFGFFTSDFKAKSSIQFYNK
chMoHu      GDMDIYITASGIDDQALEDDRLRKYYLGKYLQEVLKAYLIDKVRIKGYYAFKLAEEKSKPRFGFFTSDFKAKSSIQFYNK
chHuMo      RDRDIYITANGIDDLALEDDQIRKYYLEKYVQEALKAYLIDKVKIKGYYAFKLTEEKSKPRFGFFTSDFRAKSSVQFYSK
chuột nhắt  RDRDIYITANGIDDLALEDDQIRKYYLEKYVQEALKAYLIDKVKIKGYYAFKLTEEKSKPRFGFFTSDFRAKSSVQFYSK
```

FIG. 4C

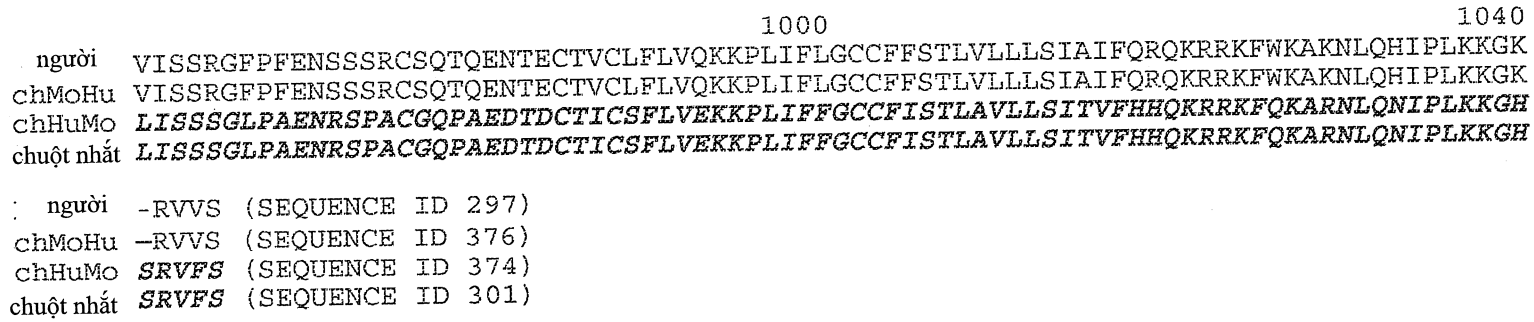

1000
1040
người VISSRGFPFENSSSRCSQTQENTECTVCLFLVQKKPLIFLGCCFFSTLVLLLSIAIFQRQKRRKFWKAKNLQHIPLKKGK
chMoHu VISSRGFPFENSSSRCSQTQENTECTVCLFLVQKKPLIFLGCCFFSTLVLLLSIAIFQRQKRRKFWKAKNLQHIPLKKGK
chHuMo LISSSGLPAENRSPACGQPAEDTDCTICSFLVEKKPLIFFGCCFISTLAVLLSITVFHHQKRRKFQKARNLQNIPLKKGH
chuột nhắt LISSSGLPAENRSPACGQPAEDTDCTICSFLVEKKPLIFFGCCFISTLAVLLSITVFHHQKRRKFQKARNLQNIPLKKGH
người -RVVS (SEQUENCE ID 297)
chMoHu -RVVS (SEQUENCE ID 376)
chHuMo SRVFS (SEQUENCE ID 374)
chuột nhắt SRVFS (SEQUENCE ID 301)

FIG. 5A

```
                                30                                  60
người           MKPGCAAGSPGNEWIFFSTDEITTRYRNTMSNGGLQRSVILSALILLRAVTGFSGDGRAI
khỉ cyno        MKPGCAAGSPGNEWIFFSTDEITIRYRNTMSNGGLQRSVILSALTLLRAVTGFSGDGRAV
chuột nhắt      MKTGCAAGSPGNEWIFFSSDERNTRSRKTMSNRALQRSAVLSAFVLLRAVTGFSGDGKAI
thỏ             MKPGCAAGSPGNEWVSFCTDERNRRCRETMSSGRLRRSVMLSAFILLRAVTGFPGDGRAV
chuột túi má    MKAGCAAGSPGNEWIFLSSYERNTRSKKTMSNRALQRSVVLSAFVLLRAVTGLSGDGKAI
chuột cống      MKTGCAAGSPGNEWVFFSSDERSTRSRKTMSNGALQRSAVLSALVLLRAVTGFSGDGKAI
chó             MKPGCAAGSPGNEWIFLSTDESNTHYRKTMCNHGLQRSVILSAFILLGAVPGFSGDGRAI
                ** ***********       *       **     * **   ***   ** ** *   *** *

                                90                                 120
người           WSKNPNFTPVNESQLFLYDTFPKNFFWGIGTGALQVEGSWKKDGKGPSIWDHFIHTHLKN
khỉ cyno        WSKNPNFTPVNESQLFLYDTFPKNFFWGVGTGALQVEGSWKKDGKGPSIWDHFVHTHLKN
chuột nhắt      WDKKQYVSPVNPSQLFLYDTFPKNFSWGVGTGAFQVEGSWKTDGRGPSIWDRYVYSHLRG
thỏ             WSQNPNLSPVNESQLFLYDTFPKNFFWGVGTGAFQVEGSWKKDGKGLSVWDHFIATHLN-
chuột túi má    WDKKQYVSPVNASQLFLYDTFPKNFFWGVGTGAFQVEGNWQADGRGPSIWDRFIYTHLRD
chuột cống      WDKKQYVSPVNPGQLFLYDTFPKNFSWGVGTGAFQVEGSWKADGRGPSIWDRYVDSHLRG
chó             WSKNPHFSPVNESQLFLYDTFPKNFFWGVGTGAFQVEGNWKTDGKGPSIWDHFIHTHLKN
                *       ***   ************ ** **** **** *  ** * * **      **

                               150                                 180
người           VSSTNGSSDSYIFLEKDLSALDFIGVSFYQFSISWPRLFPDGIVTVANAKGLQYYSTLLD
khỉ cyno        VSSTNGSSDSYIFLEKDLSALDFIGVSFYQFSISWPRLFPDGIVTVANAKGLQYYNTLLD
chuột nhắt      VNGTDRSTDSYIFLEKDLLALDFLGVSFYQFSISWPRLFPNGTVAAVNAQGLRYYRALLD
thỏ             VSSRDGSSDSYIFLEKDLSALDFLGVSFYQFSISWPRLFPDGTVAVANAKGLQYYNRLLD
chuột túi má    VSITEKSADSYIFLEKDLLALDFLGVSFYQFSISWPRLFPNGTVASVNAKGLQYYNKLLD
chuột cống      VNSTDRSTDSYVFLEKDLLALDFLGVSFYQFSISWPRLFPNGTVAAVNAKGLQYYRALLD
chó             VNSMNSSSDSYIFLEKDLSALDFIGVSFYQFSISWPRLFPDGIAAVANAKGLQYYNSLLD
                *     * *** ****** **** ***************** *     ** ** **  ***
```

FIG. 5B

```
                                    210                                 240
người           ALVLRNIEPIVTLYHWDLPLALQEKYGGWKNDTIIDIFNDYATYCFQMFGDRVKYWITIH
khỉ cyno        SLVLRNIEPIVTLYHWDLPLALQEKYGGWKNDTIIDIFNDYATYCFQTFGDRVKYWITIH
chuột nhắt      SLVLRNIEPIVTLYHWDLPLTLQEEYGGWKNATMIDLFNDYATYCFQTFGDRVKYWITIH
thỏ             SLLLRNIEPVVTLYHWDLPWALQEKYGGWKNETLIDLFNDYATYCFQTFGDRVKYWITIH
chuột túi má    SLILRNIEPVVTLYHWDLPLALQEDYGGWKNATMIDLFNDYATYCFQTFGDRVKYWITIH
chuột cống      SLVLRNIEPIVTLYHWDLPLTLQEEYGGWKNATMIDLFNDYATYCFQTFGDRVKYWITIH
chó             ALVLRNIEPIVTLYHWDLPLALQEKYGGWKNETITDIFNDYATYCFQTFGDRVKYWITIH
                 * ****** *********  *** ****** *  * ********** ************

                                    270                                 300
người           NPYLVAWHGYGTGMHAPGEKGNLAAVYTVGHNLIKAHSKVWHNYNTHFRPHQKGWLSITL
khỉ cyno        NPYLVAWHGYGTGMHAPGEKGNLAAVYTVGHNLIKAHSKVWHNYNTHFRPHQKGWLSITL
chuột nhắt      NPYLVAWHGFGTGMHAPGEKGNLTAVYTVGHNLIKAHSKVWHNYDKNFRPHQKGWLSITL
thỏ             NPYLVAWHGYGTGLHAPGEKGNVAAVYTVGHNLLKAHSKVWHNYNRNFRPHQKGWLSITL
chuột túi má    NPYLVAWHGFATGMHAPGETGNLTAVYIVGHNLIKAHSKVWHNYDKNFRPHQKGLLSITL
chuột cống      NPYLVAWHGFGTGMHAPGEKGNLTAVYTVGHNLIKAHSKVWHNYDKNFRPHQKGWLSITL
chó             NPYLVAWHGYGTGMHAPGEKGNLAAVYTVGHNLIKAHSKVWHNYNTNFRPYQKGLLSITL
                *********  ** ***** **  *** ***** **********   *** *** *****

                                    330                                 360
người           GSHWIEPNRSENTMDIFKCQQSMVSVLGWFANPIHGDGDYPEGMRKKLFSVLPIFSEAEK
khỉ cyno        GSHWIEPNRSENTMDILKCQQSMVSVLGWFANPIHGDGDYPEGMKKKLLSILPLFSEAEK
chuột nhắt      GSHWIEPNRTDNMEDVINCQHSMSSVLGWFANPIHGDGDYPEFMKT--GAMIPEFSEAEK
thỏ             GSHWIEPNRAESIVDILKCQQSMVSVLGWFANPIHGDGDYPEVMTKKLLSVLPAFSEAEK
chuột túi má    GSHWIEPNKTENMADTISCQHSMAFVLGWFANPIHADGDYPEFMKT--LSTMPVFSEAEK
chuột cống      GSHWIEPNRTENMEDVINCQHSMSSVLGWFANPIHGDGDYPEFMKT--SSVIPEFSEAEK
chó             GSHWIEPNRSENMMDILKCQQSMVSVLGWFANPIHGNGDYPEVMKKKLLSTLPLFSEAEK
                ********       *   ** **  **********  ***** *         * ******
```

FIG. 5C

```
                                  390                                 420
người             HEMRGTADFFAFSFGPNNFKPLNTMAKMGQNVSLNLREALNWIKLEYNNPRILIAENGWF
khỉ cyno          NEVRGTADFFAFSFGPNNFKPLNTMAKMGQNVSLNLREALNWIKLEYNNPRILIAENGWF
chuột nhắt        EEVRGTADFFAFSFGPNNFRPSNTVVKMGQNVSLNLRQVLNWIKLEYDDPQILISENGWF
thỏ               NEVRGTADFFAFSFGPNNFKPLNTMAKMGQNVSLNLRQVLNWIKLEYGNPRILIAENGWF
chuột túi má      EEVRGTADFFAFSFGPNNFRPSNTVVKMGQNVSLNLRQVLNWIKLEYDNPRILISENGWF
chuột cống        EEVRGTADFFAFSFGPNNFRPSNTVVKMGQNVSLNLRQVLNWIKLEYDNPRILISENGWF
chó               NEVRGTADFFAFSFGPNNFKPQNTMAKMGQNVSLNLREVLNWIKLEYGNPRILIAENGWF
                   * ***************** * **  ***********  ********  * *** *****

                                  450                                 480
người             TDSRVKTEDTTAIYMMKNFLSQVLQAIRLDEIRVFGYTAWSLLDGFEWQDAYTIRRGLFY
khỉ cyno          TDSHVKTEDTTAIYMMKNFLSQVLQAIRLDEIRVFGYTAWSLLDGFEWQDAYTIRRGLFY
chuột nhắt        TDSYIKTEDTTAIYMMKNFLNQVLQAIKFDEIRVFGYTAWTLLDGFEWQDAYTTRRGLFY
thỏ               TDSYVQTEDTTAIYMMKNFLNQVLQAIRLDGVRVFGYTAWSLLDGFEWQDAYNTRRGLFY
chuột túi má      TDSDIKTEDTTAIYMMKHFLNQVLQAIQFDEIRVFGYTAWSLLDGFEWQYAYTSRRGLFY
chuột cống        TDSYIKTEDTTAIYMMKNFLNQVLQAIKFDEIQVFGYTAWTLLDGFEWQDAYTTRRGLFY
chó               TDSHVKTEDTTAIYMMKNFLNQVLQAIRFDEIQVFGYTAWSLLDGFEWQDAYSTRRGLFY
                  ***   *********** ** ******  *   ******* ******** **  ******

                                  510                                 540
người             VDFNSKQKERKPKSSAHYYKQIIRENGFSLKESTPDVQGQFPCDFSWGVTESVLKPESVA
khỉ cyno          VDFNSKQKERKPKSSAHYYKQIIRENGFSLKEATPDVQGQFPCDFSWGVTESVLKPESVA
chuột nhắt        VDFNSEQKERKPKSSAHYYKQIIQDNGFPLKESTPDMKGRFPCDFSWGVTESVLKPEFTV
thỏ               VDFNSEQRERRPKSSAHYYKQVIGENGFTLREATPDLQGQFPCDFSWGVTESVLKPESVA
chuột túi má      VDFNSEQKERKPKTSAHYYKQIIQENGFPLKESTPDMQGQFPCDFSWGVTESVLKPEFMV
chuột cống        VDFNSEQKERKPKSSAHYYKQIIQDNGFPLQESTPDMKGQFPCDFSWGVTESVLKPEFTV
chó               VDFNSKQKERKPKSSAYYYKQIIQENGFTFKESTPDVQGQFPCDFSWGVTESVLKPKVVA
                  ***** * ** ** ** **** *  ***   * ***  * ****************
```

FIG. 5D

```
                                570                                 600
người           SSPQFSDPHLYVWNATGNRLLHRVEGVRLKTRPAQCTDFVNIKKQLEMLARMKVTHYRFA
khỉ cyno        SSPQFSDPYLYVWNATGNRLLHRVEGVRLKTRPAQCTDFVNIKKQLEMLARMKVTHYRFA
chuột nhắt      SSPQFTDPHLYVWNVTGNRLLYRVEGVRLKTRPSQCTDYVSIKKRVEMLAKMKVTHYQFA
thỏ             SSPQFSDPHLYVWNATGNRMLHRVEGVRLKTRPAQCTDFITIKKQLEMLARMKVTHFRFA
chuột túi má    SSPQFTDPHLYVWNATGNRLLQRVEGVRLKTKPSHCTDYVSIKKRVEMLAKMKVTHYQFA
chuột cống      SSPQFTDPHLYVWNVTGNRLLYRVEGVRLKTRPSQCTDYVSIKKRVEMLAKMKVTHYQFA
chó             SSPQFSDPHLYVWNVTGNRLLHRVEGVRLKTRPAQCTDFVSIKRQLEMLARMNVTHYRFA
                ***** ** ***** **** * ********* *  ***   **   **** * ***  **

                                630                                 660
người           LDWASVLPTGNLSAVNRQALRYYRCVVSEGLKLGISAMVTLYYPTHAHLGLPEPLLHADG
khỉ cyno        LDWASVLPTGNLSAVNRQALRYYRCVVSEGLKLGISAMVTLYYPTHAHLGLPEPLLHAGG
chuột nhắt      LDWTSILPTGNLSKVNRQVLRYYRCVVSEGLKLGVFPMVTLYHPTHSHLGLPLPLLSSGG
thỏ             LDWASVLPTGNLSEVNRQALRYYRCVVTEGLKLNISPMVTLYYPTHAHLGLPAPLLHSGG
chuột túi má    LDWATILPTGNLSEVNRQVLRYYRCVVSEGLKLGVSPMVTLYHPTHSHLGLPEPLLNSGG
chuột cống      LDWTSILPTGNLSKINRQVLRYYRCVVSEGLKLGISPMVTLYHPTHSHLGLPMPLLSSGG
chó             LDWPSILPTGNLSTVNRQALRYYRCVVSESLKLSISPMVTLYYPTHAHLGLPSPLLHSGG
                ***   *******  *** ******** * ***    ***** *** ***** ***   *

                                690                                 720
người           WLNPSTAEAFQAYAGLCFQELGDLVKLWITINEPNRLSDIYNRSGNDTYGAAHNLLVAHA
khỉ cyno        WLNPSTVEAFQAYAGLCFQELGDLVKLWITINEPNRLSDIYNRSGNDTYGAAHNLLVAHA
chuột nhắt      WLNMNTAKAFQDYAELCFRELGDLVKLWITINEPNRLSDMYNRTSNDTYRAAHNLMIAHA
thỏ             WLDPSTAKAFRDYAGLCFRELGDLVKLWITINEPNRLSDVYNRTSNDTYQAAHNLLIAHA
chuột túi má    WLNTYTAKAFQDYAGLCFQELGDLVKLWITINEPNRLSDMYNRTSNDTYRAAHNLMIAHA
chuột cống      WLNTNTAKAFQDYAGLCFKELGDLVKLWITINEPNRLSDMYNRTSNDTYRAAHNLMIAHA
chó             WLNASTARAFQDYAGLCFQELGDLVKLWITINEPNRLSDVYSHTSSDTYRAAHNLLIAHA
                **   *  **  ** *** ********************  *     *** *****  ***
```

FIG. 5E

```
                                  750                                 780
người             LAWRLYDRQFRPSQRGAVSLSLHADWAEPANPYADSHWRAAERFLQFEIAWFAEPLFKTG
khỉ cyno          LAWRLYDRQFRPSQRGAVSLSLHADWAEPANPYADSHWRAAERFLQFEIAWFAEPLFKTG
chuột nhắt        QVWHLYDRQYRPVQHGAVSLSLHCDWAEPANPFVDSHWKAAERFLQFEIAWFADPLFKTG
thỏ               LVWHLYDRQYRPSQRGALSLSLHSDWAEPANPYVASHWQAAERFLQFEIAWFAEPLFKTG
chuột túi má      QVWRLYDRQYRPVQHGAVSLSLHSDWVEPANPYVDSHWKAAERFLLFEIAWFADPLFKTG
chuột cống        QVWHLYDRQYRPVQHGAVSLSLHSDWAEPANPYVESHWKAAERFLQFEIAWFADPLFKTG
chó               LVWHLYDRRYRPAQRGAVSLSLHSDWAEPANPYADSHWKAAERFLQFEIAWFAEPLFKTG
                    * ****  ** * ** ***** ** *****   *** ****** ******* ******

                                  810                                 840
người             DYPAAMREYIASKHRRGLSSSALPRLTEAERRLLKGTVDFCALNHFTTRFVMHEQLAGSR
khỉ cyno          DYPAAMREYIASKHRRGLSSSALPRLTEAERRLLKGTVDFCALNHFTTRFVMHEQLAGSR
chuột nhắt        DYPSVMKEYIASKNQRGLSSSVLPRFTAKESRLVKGTVDFYALNHFTTRFVIHKQLNTNR
thỏ               DYPVAMREYIASKTRRGLSSSVLPRFSDAERRLVKGAADFYALNHFTTRFVMHEQQNGSR
chuột túi má      DYPLAMKEYIASKNQQGLSRSVLPRFTPEESRLVKGTIDFYALNHFTTRFVIHKQLNSSR
chuột cống        DYPLAMKEYIASKKQRGLSSSVLPRFTLKESRLVKGTIDFYALNHFTTRFVIHKQLNTNC
chó               DYPPAMREYIASKNRQGLSRSTLPRFTDEERRLVKGAADFYALNHFTTRFVMHARQNGSR
                  ***  * ******   *** * ***    * ** **  ** ********** *

                                  870                                 900
người             YDSDRDIQFLQDITRLSSPTRLAVIPWGVRKLLRWVRRNYGDMDIYITASGIDDQALEDD
khỉ cyno          YDSDRDIQFLQDITRLSSPTRLAVIPWGVRKLLRWVRRNYGDMDIYITASGIDDQALEDD
chuột nhắt        SVADRDVQFLQDITRLSSPSRLAVTPWGVRKLLAWIRRNYRDRDIYITANGIDDLALEDD
thỏ               YDSDRDVQFLQDITRLASPSRLAVMPWGEGKLLRWMRNNYGDLDVYITANGIDDQALQND
chuột túi má      SMADRDVQFLQDITRLSSPSRLAVMPWGARKLLGWIQRNYGDMDIYITANGIDDLALEND
chuột cống        SVADRDVQFLQDITRLSSPSRLAVTPWGMRKLLGWIRRNYRDMDIYVTANGIDDLALEDD
chó               YDADRDVQFLQDITCLSSPSRLAVLPWGERKVLRWIQKNYGDVDVYITASGIDDQSLEND
                     *** ******* * ** **** ***  * * *   ** * * * ** **** *  *
```

FIG. 5F

```
                                    930                                 960
người           RLRKYYLGKYLQEVLKAYLIDKVRIKGYYAFKLAEEKSKPRFGFFTSDFKAKSSIQFYNK
khỉ cyno        RLRKYYLEKYLQEVLKAYLIDKVRIKGYYAFKLAEEKSKPRFGFFTSDFKAKSSIQFYNK
chuột nhắt      QIRKYYLEKYVQEALKAYLIDKVKIKGYYAFKLTEEKSKPRFGFFTSDFRAKSSVQFYSK
thỏ             QLRQYYLEKYVQEALKAYLIDKIKIKGYYAFKLTEEKSKPRFGFFTSDFKAKSSIQFYNK
chuột túi má    GIRKYYLEKYIQEALKAYLIDKVKIKGYYAFKLTEEKSKPRFGFFTSDFKAKSSVEFYSK
chuột cống      QIRKYYLEKYVQEALKAYLIDKVKIKGYYAFKLTEEKSKPRFGFFTSDFKAKSSVQFYSK
chó             ELRKYYLEKYIQEALKAHLIDKVKVKGYYAFKLTEEKSKPRFGFFTSEFKAKSSVQLYNK
                  * *** ** ** *** ****    ******** ************ * ****    * *

                                    990                                1020
người           VISSRGFPFENSSSRCSQTQENTECTVCLFLVQKKPLIFLGCCFFSTLVLLLSIAIFQRQ
khỉ cyno        MISSSGFPSENSSSRCSQTQKNTECTVCLFLVQKKPLIFLGCCFFSTLVLLLSITIFHRQ
chuột nhắt      LISSSGLPAENRSPACGQPAEDTDCTICSFLVEKKPLIFFGCCFISTLAVLLSITVFHHQ
thỏ             LITSNGFPSENGGPRCNQTQGNPECTVCLLLLQKKPLIFFSCCFFCTLVLLSSITIFHRR
chuột túi má    LISRSGFPSETSNPACGQPPEDTDCTICSFFTQKKSLIFFGCCFISTLAVLLSITIFHHR
chuột cống      LISSSGFSSENRSPACGQPPEDTECAICSFLTQKKPLIFFGCCFISTLAALLSITIFHHR
chó             LISNSGFPSENRSPRCSETQRNTECMVCLFLVQKKPLIFFSCCFFSTLVLLSSITILHKR
                 *   *   *     *         *  *     ** ***  ***  **  * **

                                   1045
người           KRRKFWKAKNLQHIPLKKGKRVVS-  (SEQ ID NO:297)
khỉ cyno        KRRKFWKAKNLQHIPLKKGKRVLS-  (SEQ ID NO:299)
chuột nhắt      KRRKFQKARNLQNIPLKKGHSRVFS  (SEQ ID NO:301)
thỏ             KRRKFWKAKDLQHIPLKKGHKRVLS  (SEQ ID NO:410)
chuột túi má    KRR-FHKSKNLENIPLKEGHSRVLS  (SEQ ID NO:408)
chuột cống      KRRKFQKARNLQNIPLKKGHSRVFS  (SEQ ID NO:356)
chó             KRRKIWKAKNLQHIPLKKSKNSLQS  (SEQ ID NO:412)
                ***   *   *  ****
```

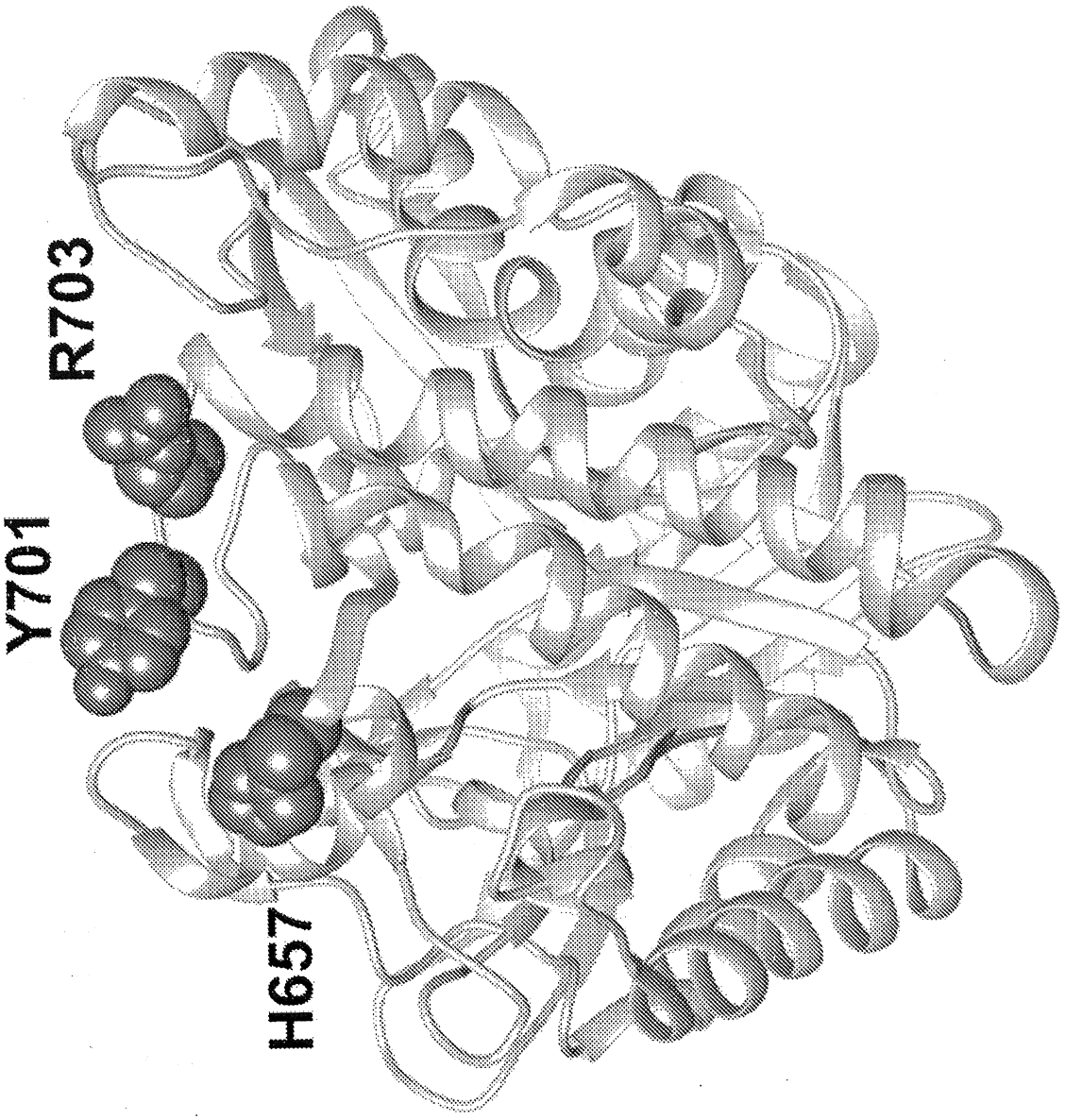


FIG. 6

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> NGM BIOPHARMACEUTICALS, INC.

<120> KHÁNG THỂ GẮN KẾT VỚI MIỀN BETA KLOTHO 2 (KLB2) VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

<130> 13370-011-228

<140> PCT/US2015/012731
<141> 2015-01-23

<150> 61/931,531
<151> 2014-01-24

<160> 431

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VH CDR1 - làm ví dụ

<400> 1
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn
 1   5   10

<210> 2
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VH CDR2- làm ví dụ

<400> 2
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1   5   10   15
Gly

<210> 3
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VH CDR3- làm ví dụ

<400> 3

Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 4
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VL CDR1- làm ví dụ

<400> 4
Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Val Tyr Met His
1 5 10 15

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VL CDR2- làm ví dụ

<400> 5
Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VL CDR3- làm ví dụ

<400> 6
Gln His Ser Arg Asp Leu Thr Phe Pro
1 5

<210> 7
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VH CDR1 - IMGT

<400> 7
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asp
1 5

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

<220>
<223> 5H23 VH CDR2 - IMGT

<400> 8
Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr
1 5

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

<220>
<223> 5H23 VH CDR3 - IMGT

<400> 9
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Ala Tyr
1 5 10

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

<220>
<223> 5H23 VL CDR1- IMGT

<400> 10
Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Val Tyr
1 5 10

<210> 11
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VL CDR2- IMGT

<400> 11
Leu Ala Ser
1

<210> 12
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VH CDR1 - Kabat

<400> 12
Ser Tyr Asp Ile Asn
 1   5

<210> 13
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VH CDR1 - Chothia

<400> 13
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 1   5

<210> 14
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VH CDR2 - Chothia

<400> 14
Pro Gly Asp Gly
 1

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

<220>
<223> 5H23 VH CDR3 - Chothia

<400> 15
Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Ala
 1   5

<210> 16
<211> 11

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VL CDR1- Chothia

<400> 16
Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Val Tyr
 1   5   10

<210> 17
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VL CDR3- Chothia

<400> 17
Ser Arg Asp Leu Thr Phe
 1   5

<210> 18
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VH CDR1 - Contact

<400> 18
Thr Ser Tyr Asp Ile Asn
 1   5

<210> 19
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VH CDR2 - Contact

<400> 19
Trp Ile Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys
 1   5   10

<210> 20
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VH CDR3 - Contact

<400> 20
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Ala
 1   5   10

<210> 21
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VL CDR1 - Contact

<400> 21
Ser Thr Ser Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Asn
 1   5   10

<210> 22
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VL CDR2 - Contact

<400> 22
Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu
 1   5   10

<210> 23
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23 VL CDR3 - Contact

<400> 23
Gln His Ser Arg Asp Leu Thr Phe
 1   5

<210> 24
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> 5H23 VH CDR2 - AbM

<400> 24
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys
1 5 10

<210> 25
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 5H23 VH

<400> 25
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Leu Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Asp Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Arg Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asn Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 26
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 5H23 VL

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

```
                85                  90                  95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110


<210> 27
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VH CDR1 - làm ví dụ

<400> 27
Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn
 1               5                  10


<210> 28
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VH CDR2 - làm ví dụ

<400> 28
Tyr Ile Asn Tyr Asp Gly Asn Ser Asn Tyr Thr Pro Ser Leu Lys Asn
 1               5                  10                  15


<210> 29
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VH CDR3 - làm ví dụ

<400> 29
Lys Gly Ala Tyr Tyr Ser Asn Tyr Asp Ser Phe Asp Val
 1               5                  10


<210> 30
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VL CDR1 - làm ví dụ

<400> 30
Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr Leu Ser
```

1 5 10

<210> 31
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VL CDR2 - làm ví dụ

<400> 31
Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp
1 5

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

<220>
<223> 1C17 VL CDR3 - làm ví dụ

<400> 32
Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 33
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VH CDR1 - IMGT

<400> 33
Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Tyr
1 5

<210> 34
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VH CDR2 - IMGT

<400> 34
Ile Asn Tyr Asp Gly Asn Ser
1 5

<210> 35
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VH CDR3 - IMGT

<400> 35
Ala Arg Lys Gly Ala Tyr Tyr Ser Asn Tyr Asp Ser Phe Asp Val
1 5 10 15

<210> 36
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VL CDR1 - IMGT

<400> 36
Gln Asp Ile Asn Ser Tyr
1 5

<210> 37
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VL CDR2 - IMGT

<400> 37
Arg Ala Asn
1

<210> 38
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VH CDR1 - Kabat

<400> 38
Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn
1 5

<210> 39

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

<220>
<223> 1C17 VH CDR1 - Chothia

<400> 39
Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr
 1   5

<210> 40
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VH CDR2 - Chothia

<400> 40
Tyr Asp Gly
 1

<210> 41
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VH CDR3 - Chothia

<400> 41
Gly Ala Tyr Tyr Ser Asn Tyr Asp Ser Phe Asp
 1   5   10

<210> 42
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VL CDR1 - Chothia

<400> 42
Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr
 1   5

<210> 43
<211> 6
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VL CDR3 - Chothia

<400> 43
Tyr Asp Glu Phe Pro Phe
 1   5

<210> 44
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VH CDR1 - Contact

<400> 44
Thr Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn
 1   5

<210> 45
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VH CDR2 - Contact

<400> 45
Trp Met Gly Tyr Ile Asn Tyr Asp Gly Asn Ser Asn
 1   5   10

<210> 46
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VH CDR3 - Contact

<400> 46
Ala Arg Lys Gly Ala Tyr Tyr Ser Asn Tyr Asp Ser Phe Asp
 1   5   10

<210> 47
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VL CDR1 - Contact

<400> 47
Asn Ser Tyr Leu Ser Trp Val
1 5

<210> 48
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VL CDR2 - Contact

<400> 48
Thr Leu Ile Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val
1 5 10

<210> 49
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VL CDR3 - Contact

<400> 49
Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Phe
1 5

<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1C17 VH CDR2 - AbM

<400> 50
Tyr Ile Asn Tyr Asp Gly Asn Ser Asn
1 5

<210> 51
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 1C17 VH

<400> 51
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30
Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45
Met Gly Tyr Ile Asn Tyr Asp Gly Asn Ser Asn Tyr Thr Pro Ser Leu
50 55 60
Lys Asn Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
65 70 75 80
Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Lys Gly Ala Tyr Tyr Ser Asn Tyr Asp Ser Phe Asp Val Trp
100 105 110
Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 52
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 1C17 VL

<400> 52
Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr
20 25 30
Leu Ser Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile
35 40 45
Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr
65 70 75 80
Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 53
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VH CDR1- làm ví dụ

<400> 53

Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Asp Ile Asn
1 5 10

<210> 54
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VH CDR2- làm ví dụ

<400> 54
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Ser Thr Lys Phe Asn Glu Asn Phe Lys
1 5 10 15
Asp

<210> 55
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VH CDR3- làm ví dụ

<400> 55
Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Thr Tyr
1 5 10

<210> 56
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VL CDR1- làm ví dụ

<400> 56
Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His
1 5 10 15

<210> 57
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VL CDR2- làm ví dụ

<400> 57

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VL CDR3- làm ví dụ

<400> 58
Gln His Ser Arg Glu Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 59
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VH CDR1 - IMGT

<400> 59
Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Asp
1 5

<210> 60
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VH CDR2 - IMGT

<400> 60
Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Ser Thr
1 5

<210> 61
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VH CDR3 - IMGT

<400> 61
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Thr Tyr
1 5 10

<210> 62
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VL CDR1 - IMGT

<400> 62
Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr
 1   5   10

<210> 63
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VL CDR2 - IMGT

<400> 63
Leu Ala Ser
 1

<210> 64
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VH CDR1 - Kabat

<400> 64
Arg Tyr Asp Ile Asn
 1   5

<210> 65
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VH CDR1 - Chothia

<400> 65
Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
 1   5

<210> 66
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VH CDR2 - Chothia

<400> 66
Pro Gly Asp Ser
 1

<210> 67
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VH CDR3 - Chothia

<400> 67
Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Thr
 1   5

<210> 68
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VL CDR1 - Chothia

<400> 68
Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr
 1   5   10

<210> 69
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VL CDR3 - Chothia

<400> 69
Ser Arg Glu Leu Pro Tyr
 1   5

<210> 70
<211> 6

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VH CDR1 - Contact

<400> 70
Thr Arg Tyr Asp Ile Asn
 1   5

<210> 71
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VH CDR2 - Contact

<400> 71
Trp Ile Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Ser Thr Lys
 1   5   10

<210> 72
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VH CDR3 - Contact

<400> 72
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Thr
 1   5   10

<210> 73
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VL CDR1 - Contact

<400> 73
Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr
 1   5   10

<210> 74
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VL CDR2 - Contact

<400> 74
Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu
1 5 10

<210> 75
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VL CDR3 - Contact

<400> 75
Gln His Ser Arg Glu Leu Pro Tyr
1 5

<210> 76
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1D19 VH CDR2 - AbM

<400> 76
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Ser Thr Lys
1 5 10

<210> 77
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 1D19 VH

<400> 77
Gln Val Gln Pro Gln Glu Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Leu Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
20 25 30
Asp Ile Asn Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Ser Thr Lys Phe Asn Glu Asn Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

```
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asn Ser Thr Val Tyr Phe Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Thr Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
        115                 120
```

<210> 78
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 1D19 VL

<400> 78

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

<210> 79
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VH CDR1- làm ví dụ

<400> 79

```
Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Asp Ile Asn
 1               5                  10
```

<210> 80
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VH CDR2- làm ví dụ

<400> 80
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Asp Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 81
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VH CDR3- làm ví dụ

<400> 81
Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val Tyr
1 5 10

<210> 82
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VL CDR1- làm ví dụ

<400> 82
Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 83
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VL CDR2- làm ví dụ

<400> 83
Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 84
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VL CDR3- làm ví dụ

<400> 84
Gln His Ser Gly Glu Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 85
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VH CDR1 - IMGT

<400> 85
Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Asp
1 5

<210> 86
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VH CDR2 - IMGT

<400> 86
Ile Tyr Pro Gly Asp Asp Ser Thr
1 5

<210> 87
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VH CDR3 - IMGT

<400> 87
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val Tyr
1 5 10

<210> 88
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VL CDR1 - IMGT

<400> 88
Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr

1 5 10

<210> 89
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VL CDR2 - IMGT

<400> 89
Leu Ala Ser
1

<210> 90
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VH CDR1 - Kabat

<400> 90
Arg Tyr Asp Ile Asn
1 5

<210> 91
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VH CDR1 - Chothia

<400> 91
Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
1 5

<210> 92
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VH CDR2 - Chothia

<400> 92
Pro Gly Asp Asp
1

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

<220>
<223> 2L12 VH CDR3 - Chothia

<400> 93
Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val
 1   5

<210> 94
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VL CDR1- Chothia

<400> 94
Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr
 1   5   10

<210> 95
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VL CDR3- Chothia

<400> 95
Ser Gly Glu Leu Pro Tyr
 1   5

<210> 96
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VH CDR1 - Contact

<400> 96
Thr Arg Tyr Asp Ile Asn
 1   5

<210> 97

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

<220>
<223> 2L12 VH CDR2 - Contact

<400> 97
Trp Ile Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Asp Ser Thr Lys
 1   5   10

<210> 98
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VH CDR3 - Contact

<400> 98
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val
 1   5   10

<210> 99
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VL CDR1 - Contact

<400> 99
Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr
 1   5   10

<210> 100
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VL CDR2 - Contact

<400> 100
Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu
 1   5   10

<210> 101
<211> 8
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VL CDR3 - Contact

<400> 101
Gln His Ser Gly Glu Leu Pro Tyr
 1   5

<210> 102
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 2L12 VH CDR2 - AbM

<400> 102
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Asp Ser Thr Lys
 1   5   10

<210> 103
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 2L12 VH

<400> 103
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1   5   10   15
Leu Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
            20   25   30
Asp Ile Asn Trp Val Lys Lys Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35   40   45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Asp Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
    50   55   60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asn Ser Ala Val Tyr Phe Cys
                85   90   95
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val Tyr Trp Gly Gln
            100   105   110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
        115   120

<210> 104
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 2L12 VL

<400> 104
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 1   5   10   15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20   25   30
Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
        35   40   45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
    50   55   60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65   70   75   80
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Gly
                85   90   95
Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100   105   110

<210> 105
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VH CDR1 - làm ví dụ

<400> 105
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn
 1   5   10

<210> 106
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VH CDR2 - làm ví dụ
<400> 106
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Pro Lys Tyr Asp Glu Lys Phe Lys
 1   5   10   15
Gly

<210> 107
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> 3L3 VH CDR3 - làm ví dụ

<400> 107
Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val Tyr
1 5 10

<210> 108
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VL CDR1- làm ví dụ

<400> 108
Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Val His
1 5 10 15

<210> 109
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VL CDR2- làm ví dụ

<400> 109
Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 110
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VL CDR3- làm ví dụ

<400> 110
Gln His Ser Gly Glu Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 111
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VH CDR1 - IMGT

<400> 111
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asp
1 5

<210> 112
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VH CDR2 - IMGT

<400> 112
Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Pro
1 5

<210> 113
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VH CDR3 - IMGT

<400> 113
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val Tyr
1 5 10

<210> 114
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VL CDR1- IMGT

<400> 114
Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr
1 5 10

<210> 115
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VL CDR2- IMGT

<400> 115
Leu Ala Ser

1

<210> 116
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VH CDR1 - Kabat

<400> 116
Ser Tyr Asp Ile Asn
1 5

<210> 117
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VH CDR1 - Chothia

<400> 117
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
1 5

<210> 118
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VH CDR2 - Chothia

<400> 118
Pro Gly Asp Gly
1

<210> 119
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VH CDR3 - Chothia

<400> 119
Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val
1 5

<210> 120
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VL CDR1- Chothia

<400> 120
Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr
 1   5   10

<210> 121
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VL CDR3- Chothia

<400> 121
Ser Gly Glu Leu Pro Tyr
 1   5

<210> 122
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VH CDR1 - Contact

<400> 122
Thr Ser Tyr Asp Ile Asn
 1   5

<210> 123
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VH CDR2 - Contact

<400> 123
Trp Ile Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Pro Lys
 1   5   10

<210> 124

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

<220>
<223> 3L3 VH CDR3 - Contact

<400> 124
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val
 1   5   10

<210> 125
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VL CDR1- Contact

<400> 125
Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Val His Trp Tyr
 1   5   10

<210> 126
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VL CDR2- Contact

<400> 126
Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu
 1   5   10

<210> 127
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VL CDR3- Contact

<400> 127
Gln His Ser Gly Glu Leu Pro Tyr
 1   5

<210> 128
<211> 10
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3L3 VH CDR2 - AbM

<400> 128
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Pro Lys
1 5 10

<210> 129
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 3L3 VH

<400> 129
Gln Val Gln Pro Gln Glu Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Thr
1 5 10 15
Leu Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Asp Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Pro Lys Tyr Asp Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asn Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 130
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 3L3 VL

<400> 130
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Tyr Ser Tyr Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

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

<210> 131
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VH CDR1- làm ví dụ

<400> 131
Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr Gly Ile Ser
1 5 10

<210> 132
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VH CDR2- làm ví dụ

<400> 132
Glu Ile Tyr Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 133
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VH CDR3- làm ví dụ

<400> 133
His Trp Asp Gly Val Leu Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 134
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VL CDR1- làm ví dụ

<400> 134
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
 1   5   10   15
Ala

<210> 135
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VL CDR2- làm ví dụ

<400> 135
Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser
 1   5

<210> 136
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VL CDR3- làm ví dụ

<400> 136
Leu Asn Asp His Ser Tyr Pro Phe Thr
 1   5

<210> 137
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VH CDR1 - IMGT

<400> 137
Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr Gly
 1   5

<210> 138
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VH CDR2 - IMGT

<400> 138
Ile Tyr Pro Arg Ser Gly Asn Thr
1 5

<210> 139
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VH CDR3 - IMGT

<400> 139
Ala Arg His Trp Asp Gly Val Leu Asp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 140
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VL CDR1 - IMGT

<400> 140
Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr
1 5 10

<210> 141
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VL CDR2 - IMGT

<400> 141
Gly Ala Ser
1

<210> 142
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VH CDR1 - Kabat

<400> 142
Asn Tyr Gly Ile Ser
1 5

<210> 143
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VH CDR1 - Chothia

<400> 143
Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr
1 5

<210> 144
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VH CDR2 - Chothia

<400> 144
Pro Arg Ser Gly
1

<210> 145
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VH CDR3 - Chothia

<400> 145
Trp Asp Gly Val Leu Asp Tyr Phe Asp
1 5

<210> 146
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VL CDR1- Chothia

<400> 146

Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr
1 5 10

<210> 147
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VL CDR3- Chothia

<400> 147
Asp His Ser Tyr Pro Phe
1 5

<210> 148
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VH CDR1 - Contact

<400> 148
Thr Asn Tyr Gly Ile Ser
1 5

<210> 149
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VH CDR2 - Contact

<400> 149
Trp Ile Gly Glu Ile Tyr Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr
1 5 10

<210> 150
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VH CDR3 - Contact

<400> 150
Ala Arg His Trp Asp Gly Val Leu Asp Tyr Phe Asp
1 5 10

<210> 151
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VL CDR1 - Contact

<400> 151
Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr
1 5 10

<210> 152
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VL CDR2 - Contact

<400> 152
Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu
1 5 10

<210> 153
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VL CDR3 - Contact

<400> 153
Leu Asn Asp His Ser Tyr Pro Phe
1 5

<210> 154
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 3N20 VH CDR2 - AbM

<400> 154
Glu Ile Tyr Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr
1 5 10

<210> 155
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 3N20 VH

<400> 155
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Gly Ile Ser Trp Val Lys Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Tyr Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Met Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Asp Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg His Trp Asp Gly Val Leu Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Ser Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 156
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 3N20 VL

<400> 156
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Val Ser Ala Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30
Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Asn
85 90 95
Asp His Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110
Lys

<210> 157
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VH CDR1 - làm ví dụ

<400> 157
Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Asp Ile Asn
1 5 10

<210> 158
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VH CDR2 - làm ví dụ

<400> 158
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Asp Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 159
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VH CDR3 - làm ví dụ

<400> 159
Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val Tyr
1 5 10

<210> 160
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VL CDR1 - làm ví dụ

<400> 160
Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His
1 5 10 15

<210> 161
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VL CDR2 - làm ví dụ

<400> 161
Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 162
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VL CDR3 - làm ví dụ

<400> 162
His His Ser Gly Glu Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 163
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VH CDR1 - IMGT

<400> 163
Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Asp
1 5

<210> 164
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VH CDR2 - IMGT

<400> 164
Ile Tyr Pro Gly Asp Asp Ser Thr
1 5

<210> 165
<211> 13

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VH CDR3 - IMGT

<400> 165
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val Tyr
 1   5   10

<210> 166
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VL CDR1- IMGT

<400> 166
Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr
 1   5   10

<210> 167
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VL CDR2- IMGT

<400> 167
Leu Ala Ser
 1

<210> 168
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VH CDR1 - Kabat

<400> 168
Arg Tyr Asp Ile Asn
 1   5

<210> 169
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VH CDR1 - Chothia

<400> 169
Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
 1   5

<210> 170
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VH CDR2 - Chothia

<400> 170
Pro Gly Asp Asp
 1

<210> 171
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VH CDR3 - Chothia

<400> 171
Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val
 1   5

<210> 172
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VL CDR1- Chothia

<400> 172
Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr
 1   5   10

<210> 173
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> 4P5 VL CDR3- Chothia

<400> 173
Ser Gly Glu Leu Pro Tyr
1 5

<210> 174
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VH CDR1 - Contact

<400> 174
Thr Arg Tyr Asp Ile Asn
1 5

<210> 175
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VH CDR2 - Contact

<400> 175
Trp Ile Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Asp Ser Thr Lys
1 5 10

<210> 176
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VH CDR3 - Contact

<400> 176
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val
1 5 10

<210> 177
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VL CDR1- Contact

<400> 177
Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr
1 5 10

<210> 178
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VL CDR2- Contact

<400> 178
Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu
1 5 10

<210> 179
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VL CDR3- Contact

<400> 179
His His Ser Gly Glu Leu Pro Tyr
1 5

<210> 180
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 4P5 VH CDR2 - AbM

<400> 180
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Asp Ser Thr Lys
1 5 10

<210> 181
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 4P5 VH

<400> 181
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

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

<210> 182
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 4P5 VL

<400> 182

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

<210> 183
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VH CDR1- làm ví dụ

<400> 183

```
Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Asp Ile Asn
 1               5                  10
```

<210> 184
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VH CDR2- làm ví dụ

<400> 184
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Glu
1 5 10 15
Gly

<210> 185
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VH CDR3- làm ví dụ

<400> 185
Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val Tyr
1 5 10

<210> 186
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VL CDR1- làm ví dụ

<400> 186
Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His
1 5 10 15

<210> 187
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VL CDR2- làm ví dụ

<400> 187
Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 188
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VL CDR3- làm ví dụ

<400> 188
Gln His Ser Arg Glu Leu Pro Tyr Thr
 1   5

<210> 189
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VH CDR1 - IMGT

<400> 189
Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Asp
 1   5

<210> 190
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VH CDR2 - IMGT

<400> 190
Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr
 1   5

<210> 191
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VH CDR3 - IMGT

<400> 191
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val Tyr
 1   5   10

<210> 192

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

<220>
<223> 5C23 VL CDR1- IMGT

<400> 192
Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr
 1   5   10

<210> 193
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VL CDR2- IMGT

<400> 193
Leu Ala Ser
 1

<210> 194
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VH CDR1 - Kabat

<400> 194
Arg Tyr Asp Ile Asn
 1   5

<210> 195
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VH CDR1 - Chothia

<400> 195
Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
 1   5

<210> 196
<211> 4
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VH CDR2 - Chothia

<400> 196
Pro Gly Asp Gly
 1

<210> 197
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VH CDR3 - Chothia

<400> 197
Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val
 1   5

<210> 198
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VL CDR1- Chothia

<400> 198
Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr
 1   5   10

<210> 199
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VL CDR3- Chothia

<400> 199
Ser Arg Glu Leu Pro Tyr
 1   5

<210> 200
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VH CDR1 - Contact

<400> 200
Thr Arg Tyr Asp Ile Asn
 1   5

<210> 201
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VH CDR2 - Contact

<400> 201
Trp Ile Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys
 1   5   10

<210> 202
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VH CDR3 - Contact

<400> 202
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val
 1   5   10

<210> 203
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VL CDR1 - Contact

<400> 203
Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr
 1   5   10

<210> 204
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VL CDR2 - Contact

<400> 204
Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu
1 5 10

<210> 205
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VL CDR3 - Contact

<400> 205
Gln His Ser Arg Glu Leu Pro Tyr
1 5

<210> 206
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5C23 VH CDR2 - AbM

<400> 206
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys
1 5 10

<210> 207
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 5C23 VH

<400> 207
Gln Val Gln Pro Gln Glu Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Leu Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
20 25 30
Asp Ile Asn Trp Val Lys Lys Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Glu Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asn Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val Tyr Trp Gly Gln

```
            100                 105                 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
        115                 120


<210> 208
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 5C23 VL

<400> 208
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly
 1               5                  10                  15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20                  25                  30
Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
        35                  40                  45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
    50                  55                  60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65                  70                  75                  80
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85                  90                  95
Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110


<210> 209
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VH CDR1 - làm ví dụ

<400> 209
Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Asp Ile Asn
 1               5                  10


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

<220>
<223> 5F7 VH CDR2 - làm ví dụ

<400> 210
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Ile Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1               5                  10                  15
```

Gly

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

<220>
<223> 5F7 VH CDR3 - làm ví dụ

<400> 211
Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val Tyr
1 5 10

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

<220>
<223> 5F7 VL CDR1- làm ví dụ

<400> 212
Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His
1 5 10 15

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

<220>
<223> 5F7 VL CDR2- làm ví dụ

<400> 213
Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 214
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VL CDR3- làm ví dụ

<400> 214
Gln His Ser Arg Glu Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 215
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VH CDR1 - IMGT

<400> 215
Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Asp
1 5

<210> 216
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VH CDR2 - IMGT

<400> 216
Ile Tyr Pro Gly Asp Ile Ser Thr
1 5

<210> 217
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VH CDR3 - IMGT

<400> 217
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val Tyr
1 5 10

<210> 218
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VL CDR1- IMGT

<400> 218
Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr
1 5 10

<210> 219
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VL CDR2- IMGT

<400> 219
Leu Ala Ser
 1

<210> 220
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VH CDR1 - Kabat

<400> 220
Arg Tyr Asp Ile Asn
 1   5

<210> 221
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VH CDR1 - Chothia

<400> 221
Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
 1   5

<210> 222
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VH CDR2 - Chothia

<400> 222
Pro Gly Asp Ile
 1

<210> 223
<211> 9

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VH CDR3 - Chothia

<400> 223
Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val
 1   5

<210> 224
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VL CDR1 - Chothia

<400> 224
Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr
 1   5   10

<210> 225
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VL CDR3 - Chothia

<400> 225
Ser Arg Glu Leu Pro Tyr
 1   5

<210> 226
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VH CDR1 - Contact

<400> 226
Thr Arg Tyr Asp Ile Asn
 1   5

<210> 227
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VH CDR2 - Contact

<400> 227
Trp Ile Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Ile Ser Thr Lys
 1   5   10

<210> 228
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VH CDR3 - Contact

<400> 228
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val
 1   5   10

<210> 229
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VL CDR1- Contact

<400> 229
Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr
 1   5   10

<210> 230
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VL CDR2- Contact

<400> 230
Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu
 1   5   10

<210> 231
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> 5F7 VL CDR3- Contact

<400> 231
Gln His Ser Arg Glu Leu Pro Tyr
1 5

<210> 232
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5F7 VH CDR2 - AbM

<400> 232
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Ile Ser Thr Lys
1 5 10

<210> 233
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 5F7 VH

<400> 233
Gln Val Gln Pro Gln Glu Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Leu Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
20 25 30
Asp Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Ile Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asn Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Val Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 234
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 5F7 VL

<400> 234
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95
Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 235
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VH CDR1- làm ví dụ

<400> 235
Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn
1 5 10

<210> 236
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VH CDR2- làm ví dụ

<400> 236
Tyr Ile Asn Tyr Gly Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asn
1 5 10 15

<210> 237
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VH CDR3- làm ví dụ

<400> 237
Arg Gly Ala Tyr Tyr Ser Asn Tyr Asp Ser Phe Asp Val

1 5 10

<210> 238
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VL CDR1- làm ví dụ

<400> 238
Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 239
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VL CDR2- làm ví dụ

<400> 239
Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp
1 5

<210> 240
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VL CDR3- làm ví dụ

<400> 240
Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 241
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VH CDR1 - IMGT

<400> 241
Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Tyr
1 5

<210> 242
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VH CDR2 - IMGT

<400> 242
Ile Asn Tyr Gly Gly Ser Asn
 1   5

<210> 243
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VH CDR3 - IMGT

<400> 243
Ala Arg Arg Gly Ala Tyr Tyr Ser Asn Tyr Asp Ser Phe Asp Val
 1   5   10   15

<210> 244
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VL CDR1 - IMGT

<400> 244
Gln Asp Ile Asn Ser Tyr
 1   5

<210> 245
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VL CDR2 - IMGT

<400> 245
Arg Ala Asn
 1

<210> 246

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

<220>
<223> 1G19 VH CDR1 - Kabat

<400> 246
Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn
 1   5

<210> 247
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VH CDR1 - Chothia

<400> 247
Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr
 1   5

<210> 248
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VH CDR2 - Chothia

<400> 248
Tyr Gly Gly
 1

<210> 249
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VH CDR3 - Chothia

<400> 249
Gly Ala Tyr Tyr Ser Asn Tyr Asp Ser Phe Asp
 1   5   10

<210> 250
<211> 7
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VL CDR1- Chothia

<400> 250
Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr
 1   5

<210> 251
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VL CDR3- Chothia

<400> 251
Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr
 1   5

<210> 252
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VH CDR1 - Contact

<400> 252
Thr Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn
 1   5

<210> 253
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VH CDR2 - Contact

<400> 253
Trp Met Gly Tyr Ile Asn Tyr Gly Gly Ser Asn Asn
 1   5   10

<210> 254
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VH CDR3 - Contact

<400> 254
Ala Arg Arg Gly Ala Tyr Tyr Ser Asn Tyr Asp Ser Phe Asp
 1   5   10

<210> 255
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VL CDR1 - Contact

<400> 255
Asn Ser Tyr Leu Ser Trp Phe
 1   5

<210> 256
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VL CDR2 - Contact

<400> 256
Thr Leu Ile Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val
 1   5   10

<210> 257
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VL CDR3 - Contact
<400> 257
Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr
 1   5

<210> 258
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 1G19 VH CDR2 - AbM

<400> 258
Tyr Ile Asn Tyr Gly Gly Ser Asn Asn
1 5

<210> 259
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 1G19 VH

<400> 259
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30
Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45
Met Gly Tyr Ile Asn Tyr Gly Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60
Lys Asn Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
65 70 75 80
Leu Lys Leu Thr Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Gly Ala Tyr Tyr Ser Asn Tyr Asp Ser Phe Asp Val Trp
100 105 110
Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 260
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 1G19 VL

<400> 260
Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr
20 25 30
Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile
35 40 45
Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Gln Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr
65 70 75 80
Glu Glu Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 261
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự liên ứng CDR1 của kháng thể kháng beta klotho miền VH

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 6
<223> Xaa = Arg hoặc Ser

<400> 261
Gly Tyr Thr Phe Thr Xaa Tyr Asp Ile Asn
1 5 10

<210> 262
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự liên ứng CDR2 của kháng thể kháng beta klotho miền VH

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 7
<223> Xaa = Gly, Asp, Ser hoặc Ile

<400> 262
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Xaa Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 263
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự liên ứng CDR2 của kháng thể kháng beta klotho miền VH

<220>
<221> BIẾN THỂ

<222> 10
<223> Xaa = Val, Thr hoặc Ala

<400> 263
Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Xaa Tyr
 1   5   10

<210> 264
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự liên ứng CDR3 của kháng thể kháng beta klotho
      miền VH

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 5
<223> Xaa = Asp hoặc Gly

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 7
<223> Xaa = Asn hoặc Ser

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 8
<223> Xaa = Ser hoặc Asn

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 11
<223> Xaa = Thr hoặc Asn

<400> 264
Tyr Ile Asn Tyr Xaa Gly Xaa Xaa Asn Tyr Xaa Pro Ser Leu Lys Asn
 1   5   10   15

<210> 265
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự liên ứng CDR3 của kháng thể kháng beta klotho
      miền VH

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1

<223> Xaa = Lys hoặc Arg

<400> 265
Xaa Gly Ala Tyr Tyr Ser Asn Tyr Asp Ser Phe Asp Val
 1   5   10

<210> 266
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự liên ứng CDR1 của kháng thể kháng beta klotho miền VL

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 14
<223> Xaa = Met, Leu hoặc Val

<400> 266
Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Xaa His
 1   5   10   15

<210> 267
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự liên ứng CDR3 của kháng thể kháng beta klotho miền VL

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 1
<223> Xaa = Gln hoặc His

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 4
<223> Xaa = Arg hoặc Gly

<400> 267
Xaa His Ser Xaa Glu Leu Pro Tyr Thr
 1   5

<210> 268
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự liên ứng CDR3 của kháng thể kháng beta klotho miền VL

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> 8
<223> Xaa = Phe hoặc Tyr

<400> 268
Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Xaa Thr
1 5

<210> 269
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> vH1

<400> 269
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 270
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> vH2

<400> 270
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

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

<210> 271
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> vH3

<400> 271

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

<210> 272
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> vH4

<400> 272

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
```

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

<210> 273
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> vH5

<400> 273

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

<210> 274
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> vH6

<400> 274

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
```

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

<210> 275
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> vL1

<400> 275

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

<210> 276
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> vL2

<400> 276

```
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1               5                  10                  15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20                  25                  30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
```

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

<210> 277
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> vL3

<400> 277

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

<210> 278
<211> 25
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH FR1 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 278

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
            20                  25
```

<210> 279
<211> 25
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH FR1 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 279
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
20 25

<210> 280
<211> 25
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH FR1 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 280
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
20 25

<210> 281
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH FR2 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 281
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
1 5 10

<210> 282
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH FR2 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 282
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 283

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

<220>
<223> VH FR2 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 283
Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
 1   5   10

<210> 284
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 284
Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 1   5   10   15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
            20   25   30

<210> 285
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 285
Lys Ala Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 1   5   10   15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
            20   25   30

<210> 286
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 286
Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 1   5   10   15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asn Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 287
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 287
Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ala Arg Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asn Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 288
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH FR4 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 288
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 289
<211> 23
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR1 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 289
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
20

<210> 290
<211> 23
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR1 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 290
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
20

<210> 291
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR2 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 291
Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 292
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR2 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 292
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 293
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 293
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Ala Ala Ile Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 294
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> VL FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 294
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 295
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 295
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Ile Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 296
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR4 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 296
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 297
<211> 1044
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> beta klotho của người

<400> 297
Met Lys Pro Gly Cys Ala Ala Gly Ser Pro Gly Asn Glu Trp Ile Phe
1 5 10 15
Phe Ser Thr Asp Glu Ile Thr Thr Arg Tyr Arg Asn Thr Met Ser Asn
20 25 30
Gly Gly Leu Gln Arg Ser Val Ile Leu Ser Ala Leu Ile Leu Leu Arg
35 40 45
Ala Val Thr Gly Phe Ser Gly Asp Gly Arg Ala Ile Trp Ser Lys Asn
50 55 60

```
Pro Asn Phe Thr Pro Val Asn Glu Ser Gln Leu Phe Leu Tyr Asp Thr
65                  70                  75                  80
Phe Pro Lys Asn Phe Phe Trp Gly Ile Gly Thr Gly Ala Leu Gln Val
                85                  90                  95
Glu Gly Ser Trp Lys Lys Asp Gly Lys Gly Pro Ser Ile Trp Asp His
            100                 105                 110
Phe Ile His Thr His Leu Lys Asn Val Ser Ser Thr Asn Gly Ser Ser
        115                 120                 125
Asp Ser Tyr Ile Phe Leu Glu Lys Asp Leu Ser Ala Leu Asp Phe Ile
    130                 135                 140
Gly Val Ser Phe Tyr Gln Phe Ser Ile Ser Trp Pro Arg Leu Phe Pro
145                 150                 155                 160
Asp Gly Ile Val Thr Val Ala Asn Ala Lys Gly Leu Gln Tyr Tyr Ser
                165                 170                 175
Thr Leu Leu Asp Ala Leu Val Leu Arg Asn Ile Glu Pro Ile Val Thr
            180                 185                 190
Leu Tyr His Trp Asp Leu Pro Leu Ala Leu Gln Glu Lys Tyr Gly Gly
        195                 200                 205
Trp Lys Asn Asp Thr Ile Ile Asp Ile Phe Asn Asp Tyr Ala Thr Tyr
    210                 215                 220
Cys Phe Gln Met Phe Gly Asp Arg Val Lys Tyr Trp Ile Thr Ile His
225                 230                 235                 240
Asn Pro Tyr Leu Val Ala Trp His Gly Tyr Gly Thr Gly Met His Ala
                245                 250                 255
Pro Gly Glu Lys Gly Asn Leu Ala Ala Val Tyr Thr Val Gly His Asn
            260                 265                 270
Leu Ile Lys Ala His Ser Lys Val Trp His Asn Tyr Asn Thr His Phe
        275                 280                 285
Arg Pro His Gln Lys Gly Trp Leu Ser Ile Thr Leu Gly Ser His Trp
    290                 295                 300
Ile Glu Pro Asn Arg Ser Glu Asn Thr Met Asp Ile Phe Lys Cys Gln
305                 310                 315                 320
Gln Ser Met Val Ser Val Leu Gly Trp Phe Ala Asn Pro Ile His Gly
                325                 330                 335
Asp Gly Asp Tyr Pro Glu Gly Met Arg Lys Lys Leu Phe Ser Val Leu
            340                 345                 350
Pro Ile Phe Ser Glu Ala Glu Lys His Glu Met Arg Gly Thr Ala Asp
        355                 360                 365
Phe Phe Ala Phe Ser Phe Gly Pro Asn Asn Phe Lys Pro Leu Asn Thr
    370                 375                 380
Met Ala Lys Met Gly Gln Asn Val Ser Leu Asn Leu Arg Glu Ala Leu
385                 390                 395                 400
Asn Trp Ile Lys Leu Glu Tyr Asn Asn Pro Arg Ile Leu Ile Ala Glu
                405                 410                 415
Asn Gly Trp Phe Thr Asp Ser Arg Val Lys Thr Glu Asp Thr Thr Ala
            420                 425                 430
Ile Tyr Met Met Lys Asn Phe Leu Ser Gln Val Leu Gln Ala Ile Arg
        435                 440                 445
Leu Asp Glu Ile Arg Val Phe Gly Tyr Thr Ala Trp Ser Leu Leu Asp
    450                 455                 460
Gly Phe Glu Trp Gln Asp Ala Tyr Thr Ile Arg Arg Gly Leu Phe Tyr
465                 470                 475                 480
Val Asp Phe Asn Ser Lys Gln Lys Glu Arg Lys Pro Lys Ser Ser Ala
                485                 490                 495
```

```
His Tyr Tyr Lys Gln Ile Ile Arg Glu Asn Gly Phe Ser Leu Lys Glu
            500                 505                 510
Ser Thr Pro Asp Val Gln Gly Gln Phe Pro Cys Asp Phe Ser Trp Gly
        515                 520                 525
Val Thr Glu Ser Val Leu Lys Pro Glu Ser Val Ala Ser Ser Pro Gln
    530                 535                 540
Phe Ser Asp Pro His Leu Tyr Val Trp Asn Ala Thr Gly Asn Arg Leu
545                 550                 555                 560
Leu His Arg Val Glu Gly Val Arg Leu Lys Thr Arg Pro Ala Gln Cys
                565                 570                 575
Thr Asp Phe Val Asn Ile Lys Lys Gln Leu Glu Met Leu Ala Arg Met
            580                 585                 590
Lys Val Thr His Tyr Arg Phe Ala Leu Asp Trp Ala Ser Val Leu Pro
        595                 600                 605
Thr Gly Asn Leu Ser Ala Val Asn Arg Gln Ala Leu Arg Tyr Tyr Arg
    610                 615                 620
Cys Val Val Ser Glu Gly Leu Lys Leu Gly Ile Ser Ala Met Val Thr
625                 630                 635                 640
Leu Tyr Tyr Pro Thr His Ala His Leu Gly Leu Pro Glu Pro Leu Leu
                645                 650                 655
His Ala Asp Gly Trp Leu Asn Pro Ser Thr Ala Glu Ala Phe Gln Ala
            660                 665                 670
Tyr Ala Gly Leu Cys Phe Gln Glu Leu Gly Asp Leu Val Lys Leu Trp
        675                 680                 685
Ile Thr Ile Asn Glu Pro Asn Arg Leu Ser Asp Ile Tyr Asn Arg Ser
    690                 695                 700
Gly Asn Asp Thr Tyr Gly Ala Ala His Asn Leu Leu Val Ala His Ala
705                 710                 715                 720
Leu Ala Trp Arg Leu Tyr Asp Arg Gln Phe Arg Pro Ser Gln Arg Gly
                725                 730                 735
Ala Val Ser Leu Ser Leu His Ala Asp Trp Ala Glu Pro Ala Asn Pro
            740                 745                 750
Tyr Ala Asp Ser His Trp Arg Ala Ala Glu Arg Phe Leu Gln Phe Glu
        755                 760                 765
Ile Ala Trp Phe Ala Glu Pro Leu Phe Lys Thr Gly Asp Tyr Pro Ala
    770                 775                 780
Ala Met Arg Glu Tyr Ile Ala Ser Lys His Arg Arg Gly Leu Ser Ser
785                 790                 795                 800
Ser Ala Leu Pro Arg Leu Thr Glu Ala Glu Arg Arg Leu Leu Lys Gly
                805                 810                 815
Thr Val Asp Phe Cys Ala Leu Asn His Phe Thr Thr Arg Phe Val Met
            820                 825                 830
His Glu Gln Leu Ala Gly Ser Arg Tyr Asp Ser Asp Arg Asp Ile Gln
        835                 840                 845
Phe Leu Gln Asp Ile Thr Arg Leu Ser Ser Pro Thr Arg Leu Ala Val
    850                 855                 860
Ile Pro Trp Gly Val Arg Lys Leu Leu Arg Trp Val Arg Arg Asn Tyr
865                 870                 875                 880
Gly Asp Met Asp Ile Tyr Ile Thr Ala Ser Gly Ile Asp Asp Gln Ala
                885                 890                 895
Leu Glu Asp Asp Arg Leu Arg Lys Tyr Tyr Leu Gly Lys Tyr Leu Gln
            900                 905                 910
Glu Val Leu Lys Ala Tyr Leu Ile Asp Lys Val Arg Ile Lys Gly Tyr
        915                 920                 925
```

```
Tyr Ala Phe Lys Leu Ala Glu Glu Lys Ser Lys Pro Arg Phe Gly Phe
    930                 935                 940
Phe Thr Ser Asp Phe Lys Ala Lys Ser Ser Ile Gln Phe Tyr Asn Lys
945                 950                 955                 960
Val Ile Ser Ser Arg Gly Phe Pro Phe Glu Asn Ser Ser Ser Arg Cys
                965                 970                 975
Ser Gln Thr Gln Glu Asn Thr Glu Cys Thr Val Cys Leu Phe Leu Val
            980                 985                 990
Gln Lys Lys Pro Leu Ile Phe Leu Gly Cys Cys Phe Phe Ser Thr Leu
        995                 1000                1005
Val Leu Leu Leu Ser Ile Ala Ile Phe Gln Arg Gln Lys Arg Arg Lys
    1010                1015                1020
Phe Trp Lys Ala Lys Asn Leu Gln His Ile Pro Leu Lys Lys Gly Lys
1025                1030                1035                1040
Arg Val Val Ser
```

<210> 298
<211> 3132
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> trình tự mã hóa beta klotho của người

<400> 298

```
atgaagccag gctgtgcggc aggatctcca gggaatgaat ggattttctt cagcactgat 60
gaaataacca cacgctatag gaatacaatg tccaacgggg gattgcaaag atctgtcatc 120
ctgtcagcac ttattctgct acgagctgtt actggattct ctggagatgg aagagctata 180
tggtctaaaa atcctaattt tactccggta aatgaaagtc agctgtttct ctatgacact 240
ttccctaaaa acttttttctg gggtattggg actggagcat tgcaagtgga agggagttgg 300
aagaaggatg gaaaaggacc ttctatatgg gatcatttca tccacacaca ccttaaaaat 360
gtcagcagca cgaatggttc cagtgacagt tatatttttc tggaaaaaga cttatcagcc 420
ctggatttta taggagtttc tttttatcaa ttttcaattt cctggccaag gcttttcccc 480
gatggaatag taacagttgc caacgcaaaa ggtctgcagt actacagtac tcttctggac 540
gctctagtgc ttagaaacat tgaacctata gttactttat accactggga tttgcctttg 600
gcactacaag aaaaatatgg ggggtggaaa aatgatacca taatagatat cttcaatgac 660
tatgccacat actgtttcca gatgtttggg gaccgtgtca aatattggat tacaattcac 720
aacccatatc tagtggcttg gcatgggtat gggacaggta tgcatgcccc tggagagaag 780
ggaaatttag cagctgtcta cactgtggga cacaacttga tcaaggctca ctcgaaagtt 840
tggcataact acaacacaca tttccgccca catcagaagg gttggttatc gatcacgttg 900
ggatctcatt ggatcgagcc aaaccggtcg gaaaacacga tggatatatt caaatgtcaa 960
caatccatgg tttctgtgct tggatggttt gccaacccta tccatgggga tggcgactat 1020
ccagagggga tgagaaagaa gttgttctcc gttctaccca ttttctctga agcagagaag 1080
catgagatga gaggcacagc tgatttcttt gccttttctt ttggacccaa caacttcaag 1140
cccctaaaca ccatggctaa aatgggacaa aatgtttcac ttaatttaag agaagcgctg 1200
aactggatta aactggaata caacaaccct cgaatcttga ttgctgagaa tggctggttc 1260
acagacagtc gtgtgaaaac agaagacacc acggccatct acatgatgaa gaatttcctc 1320
agccaggtgc ttcaagcaat aaggttagat gaaatacgag tgtttggtta tactgcctgg 1380
tctctcctgg atggctttga atggcaggat gcttacacca tccgccgagg attattttat 1440
gtggatttta acagtaaaca gaaagagcgg aaacctaagt cttcagcaca ctactacaaa 1500
cagatcatac gagaaaatgg tttttcttta aaagagtcca cgccagatgt gcagggccag 1560
tttccctgtg acttctcctg gggtgtcact gaatctgttc ttaagcccga gtctgtggct 1620
```

tcgtccccac agttcagcga tcctcatctg tacgtgtgga acgccactgg caacagactg 1680
ttgcaccgag tggaaggggt gaggctgaaa acacgacccg ctcaatgcac agattttgta 1740
aacatcaaaa aacaacttga gatgttggca agaatgaaag tcacccacta ccggtttgct 1800
ctggattggg cctcggtcct tcccactggc aacctgtccg cggtgaaccg acaggccctg 1860
aggtactaca ggtgcgtggt cagtgagggg ctgaagcttg gcatctccgc gatggtcacc 1920
ctgtattatc cgacccacgc ccacctaggc ctccccgagc ctctgttgca tgccgacggg 1980
tggctgaacc catcgacggc cgaggccttc caggcctacg ctgggctgtg cttccaggag 2040
ctgggggacc tggtgaagct ctggatcacc atcaacgagc ctaaccggct aagtgacatc 2100
tacaaccgct ctggcaacga cacctacggg gcggcgcaca acctgctggt ggcccacgcc 2160
ctggcctggc gcctctacga ccggcagttc aggccctcac agcgcggggc cgtgtcgctg 2220
tcgctgcacg cggactgggc ggaacccgcc aacccctatg ctgactcgca ctggagggcg 2280
gccgagcgct tcctgcagtt cgagatcgcc tggttcgccg agccgctctt caagaccggg 2340
gactaccccg cggccatgag ggaatacatt gcctccaagc accgacgggg gctttccagc 2400
tcggccctgc cgcgcctcac cgaggccgaa aggaggctgc tcaagggcac ggtcgacttc 2460
tgcgcgctca accacttcac cactaggttc gtgatgcacg agcagctggc cggcagccgc 2520
tacgactcgg acagggacat ccagtttctg caggacatca cccgcctgag ctcccccacg 2580
cgcctggctg tgattccctg gggggtgcgc aagctgctgc ggtgggtccg gaggaactac 2640
ggcgacatgg acatttacat caccgccagt ggcatcgacg accaggctct ggaggatgac 2700
cggctccgga agtactacct agggaagtac cttcaggagg tgctgaaagc atacctgatt 2760
gataaagtca gaatcaaagg ctattatgca ttcaaactgg ctgaagagaa atctaaaccc 2820
agatttggat tcttcacatc tgattttaaa gctaaatcct caatacaatt ttacaacaaa 2880
gtgatcagca gcaggggctt ccctttttgag aacagtagtt ctagatgcag tcagacccaa 2940
gaaaatacag agtgcactgt ctgcttattc cttgtgcaga agaaaccact gatattcctg 3000
ggttgttgct tcttctccac cctggttcta ctcttatcaa ttgccatttt tcaaaggcag 3060
aagagaagaa agttttggaa agcaaaaaac ttacaacaca taccattaaa gaaaggcaag 3120
agagttgtta gc 3132

<210> 299
<211> 1044
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<220>
<223> beta klotho của khỉ cynomolgus (cyno)

<400> 299
Met Lys Pro Gly Cys Ala Ala Gly Ser Pro Gly Asn Glu Trp Ile Phe
1 5 10 15
Phe Ser Thr Asp Glu Ile Thr Ile Arg Tyr Arg Asn Thr Met Ser Asn
20 25 30
Gly Gly Leu Gln Arg Ser Val Ile Leu Ser Ala Leu Thr Leu Leu Arg
35 40 45
Ala Val Thr Gly Phe Ser Gly Asp Gly Arg Ala Val Trp Ser Lys Asn
50 55 60
Pro Asn Phe Thr Pro Val Asn Glu Ser Gln Leu Phe Leu Tyr Asp Thr
65 70 75 80
Phe Pro Lys Asn Phe Phe Trp Gly Val Gly Thr Gly Ala Leu Gln Val
85 90 95
Glu Gly Ser Trp Lys Lys Asp Gly Lys Gly Pro Ser Ile Trp Asp His
100 105 110
Phe Val His Thr His Leu Lys Asn Val Ser Ser Thr Asn Gly Ser Ser
115 120 125
Asp Ser Tyr Ile Phe Leu Glu Lys Asp Leu Ser Ala Leu Asp Phe Ile
130 135 140

```
Gly Val Ser Phe Tyr Gln Phe Ser Ile Ser Trp Pro Arg Leu Phe Pro
145                 150                 155                 160
Asp Gly Ile Val Thr Val Ala Asn Ala Lys Gly Leu Gln Tyr Tyr Asn
                165                 170                 175
Thr Leu Leu Asp Ser Leu Val Leu Arg Asn Ile Glu Pro Ile Val Thr
            180                 185                 190
Leu Tyr His Trp Asp Leu Pro Leu Ala Leu Gln Glu Lys Tyr Gly Gly
        195                 200                 205
Trp Lys Asn Asp Thr Ile Ile Asp Ile Phe Asn Asp Tyr Ala Thr Tyr
    210                 215                 220
Cys Phe Gln Thr Phe Gly Asp Arg Val Lys Tyr Trp Ile Thr Ile His
225                 230                 235                 240
Asn Pro Tyr Leu Val Ala Trp His Gly Tyr Gly Thr Gly Met His Ala
                245                 250                 255
Pro Gly Glu Lys Gly Asn Leu Ala Ala Val Tyr Thr Val Gly His Asn
            260                 265                 270
Leu Ile Lys Ala His Ser Lys Val Trp His Asn Tyr Asn Thr His Phe
        275                 280                 285
Arg Pro His Gln Lys Gly Trp Leu Ser Ile Thr Leu Gly Ser His Trp
    290                 295                 300
Ile Glu Pro Asn Arg Ser Glu Asn Thr Met Asp Ile Leu Lys Cys Gln
305                 310                 315                 320
Gln Ser Met Val Ser Val Leu Gly Trp Phe Ala Asn Pro Ile His Gly
                325                 330                 335
Asp Gly Asp Tyr Pro Glu Gly Met Lys Lys Lys Leu Leu Ser Ile Leu
            340                 345                 350
Pro Leu Phe Ser Glu Ala Glu Lys Asn Glu Val Arg Gly Thr Ala Asp
        355                 360                 365
Phe Phe Ala Phe Ser Phe Gly Pro Asn Asn Phe Lys Pro Leu Asn Thr
    370                 375                 380
Met Ala Lys Met Gly Gln Asn Val Ser Leu Asn Leu Arg Glu Ala Leu
385                 390                 395                 400
Asn Trp Ile Lys Leu Glu Tyr Asn Asn Pro Arg Ile Leu Ile Ala Glu
                405                 410                 415
Asn Gly Trp Phe Thr Asp Ser His Val Lys Thr Glu Asp Thr Thr Ala
            420                 425                 430
Ile Tyr Met Met Lys Asn Phe Leu Ser Gln Val Leu Gln Ala Ile Arg
        435                 440                 445
Leu Asp Glu Ile Arg Val Phe Gly Tyr Thr Ala Trp Ser Leu Leu Asp
    450                 455                 460
Gly Phe Glu Trp Gln Asp Ala Tyr Thr Ile Arg Arg Gly Leu Phe Tyr
465                 470                 475                 480
Val Asp Phe Asn Ser Lys Gln Lys Glu Arg Lys Pro Lys Ser Ser Ala
                485                 490                 495
His Tyr Tyr Lys Gln Ile Ile Arg Glu Asn Gly Phe Ser Leu Lys Glu
            500                 505                 510
Ala Thr Pro Asp Val Gln Gly Gln Phe Pro Cys Asp Phe Ser Trp Gly
        515                 520                 525
Val Thr Glu Ser Val Leu Lys Pro Glu Ser Val Ala Ser Ser Pro Gln
    530                 535                 540
Phe Ser Asp Pro Tyr Leu Tyr Val Trp Asn Ala Thr Gly Asn Arg Leu
545                 550                 555                 560
Leu His Arg Val Glu Gly Val Arg Leu Lys Thr Arg Pro Ala Gln Cys
                565                 570                 575
```

```
Thr Asp Phe Val Asn Ile Lys Lys Gln Leu Glu Met Leu Ala Arg Met
            580                 585                 590
Lys Val Thr His Tyr Arg Phe Ala Leu Asp Trp Ala Ser Val Leu Pro
        595                 600                 605
Thr Gly Asn Leu Ser Ala Val Asn Arg Gln Ala Leu Arg Tyr Tyr Arg
    610                 615                 620
Cys Val Val Ser Glu Gly Leu Lys Leu Gly Ile Ser Ala Met Val Thr
625                 630                 635                 640
Leu Tyr Tyr Pro Thr His Ala His Leu Gly Leu Pro Glu Pro Leu Leu
                645                 650                 655
His Ala Gly Gly Trp Leu Asn Pro Ser Thr Val Glu Ala Phe Gln Ala
            660                 665                 670
Tyr Ala Gly Leu Cys Phe Gln Glu Leu Gly Asp Leu Val Lys Leu Trp
        675                 680                 685
Ile Thr Ile Asn Glu Pro Asn Arg Leu Ser Asp Ile Tyr Asn Arg Ser
    690                 695                 700
Gly Asn Asp Thr Tyr Gly Ala Ala His Asn Leu Leu Val Ala His Ala
705                 710                 715                 720
Leu Ala Trp Arg Leu Tyr Asp Arg Gln Phe Arg Pro Ser Gln Arg Gly
                725                 730                 735
Ala Val Ser Leu Ser Leu His Ala Asp Trp Ala Glu Pro Ala Asn Pro
            740                 745                 750
Tyr Ala Asp Ser His Trp Arg Ala Ala Glu Arg Phe Leu Gln Phe Glu
        755                 760                 765
Ile Ala Trp Phe Ala Glu Pro Leu Phe Lys Thr Gly Asp Tyr Pro Ala
    770                 775                 780
Ala Met Arg Glu Tyr Ile Ala Ser Lys His Arg Arg Gly Leu Ser Ser
785                 790                 795                 800
Ser Ala Leu Pro Arg Leu Thr Glu Ala Glu Arg Arg Leu Leu Lys Gly
                805                 810                 815
Thr Val Asp Phe Cys Ala Leu Asn His Phe Thr Thr Arg Phe Val Met
            820                 825                 830
His Glu Gln Leu Ala Gly Ser Arg Tyr Asp Ser Asp Arg Asp Ile Gln
        835                 840                 845
Phe Leu Gln Asp Ile Thr Arg Leu Ser Ser Pro Thr Arg Leu Ala Val
    850                 855                 860
Ile Pro Trp Gly Val Arg Lys Leu Leu Arg Trp Val Arg Arg Asn Tyr
865                 870                 875                 880
Gly Asp Met Asp Ile Tyr Ile Thr Ala Ser Gly Ile Asp Asp Gln Ala
                885                 890                 895
Leu Glu Asp Asp Arg Leu Arg Lys Tyr Tyr Leu Glu Lys Tyr Leu Gln
            900                 905                 910
Glu Val Leu Lys Ala Tyr Leu Ile Asp Lys Val Arg Ile Lys Gly Tyr
        915                 920                 925
Tyr Ala Phe Lys Leu Ala Glu Glu Lys Ser Lys Pro Arg Phe Gly Phe
    930                 935                 940
Phe Thr Ser Asp Phe Lys Ala Lys Ser Ser Ile Gln Phe Tyr Asn Lys
945                 950                 955                 960
Met Ile Ser Ser Ser Gly Phe Pro Ser Glu Asn Ser Ser Ser Arg Cys
                965                 970                 975
Ser Gln Thr Gln Lys Asn Thr Glu Cys Thr Val Cys Leu Phe Leu Val
            980                 985                 990
Gln Lys Lys Pro Leu Ile Phe Leu Gly Cys Cys Phe Phe Ser Thr Leu
        995                 1000                1005
```

Val Leu Leu Leu Ser Ile Thr Ile Phe His Arg Gln Lys Arg Arg Lys
1010 1015 1020
Phe Trp Lys Ala Lys Asn Leu Gln His Ile Pro Leu Lys Lys Gly Lys
1025 1030 1035 1040
Arg Val Leu Ser

<210> 300
<211> 3135
<212> ADN
<213> Macaca fascicularis

<220>
<223> beta klotho của khỉ cynomolgus (cyno)

<400> 300
atgaagcctg gatgtgccgc cggaagcccc ggcaacgagt ggatcttctt cagcaccgac 60
gagatcacca tccggtacag aaacaccatg agcaacggcg gcctgcagcg gagcgtgatc 120
ctgtctgctc tgaccctgct gagagccgtg accggcttca gcggagatgg cagagccgtg 180
tggtccaaga accccaactt cacccccgtg aacgagagcc agctgttcct gtacgatacc 240
ttccccaaga acttcttctg gggcgtgggc acaggcgccc tgcaggtgga aggatcctgg 300
aagaaggacg gcaagggccc cagcatctgg gaccactttg tgcacaccca cctgaagaac 360
gtgtccagca ccaacggcag cagcgacagc tacatctttc tggaaaagga cctgagcgcc 420
ctggacttca tcggcgtgtc cttctaccag ttcagcatca gctggcccag actgttcccc 480
gacggcatcg tgacagtggc caatgccaag ggcctgcagt actacaacac cctgctggac 540
agcctggtgc tgcggaacat cgagcccatc gtgaccctgt accactggga cctgccactg 600
gctctgcagg agaaatacgg cggctggaag aacgacacca tcatcgacat cttcaacgac 660
tacgccacct actgcttcca gaccttcggc gacagagtga agtactggat cacaatccac 720
aacccctacc tggtggcctg gcacggctat ggcaccggaa tgcatgcccc tggcgagaag 780
ggaaatctgg ccgccgtgta caccgtgggc cacaacctga tcaaggccca cagcaaagtg 840
tggcacaact acaataccca cttccggccc caccagaagg gctggctgtc tatcacactg 900
ggcagccact ggatcgagcc taaccgcagc gagaacacca tggacatcct gaagtgccag 960
cagagcatgg tgtccgtgct gggatggttc gccaacccca ttcacggcga cggcgattac 1020
cccgagggca tgaagaagaa gctgctgagc atcctgcccc tgttcagcga ggccgagaag 1080
aacgaagtgc ggggcaccgc cgatttcttc gcctttagct tcggccccaa caacttcaag 1140
cccctgaata ccatggccaa gatgggccag aatgtgtccc tgaacctgag agaggccctg 1200
aactggatca agctggagta caacaacccc cggatcctga tcgccgagaa cggctggttc 1260
accgacagcc acgtgaaaac cgaggacacc accgccatct atatgatgaa gaacttcctg 1320
agccaggtgc tgcaggctat ccggctggat gagatccggg tgttcggcta caccgcctgg 1380
tcactgctgg acggcttcga atggcaggac gcctacacca tcagacgggg cctgttctac 1440
gtggacttca acagcaagca gaaagagcgg aagcccaaga gcagcgccca ctactacaag 1500
cagatcatca gagagaatgg cttcagcctg aaagaggcca cccccgacgt gcagggccag 1560
ttcccttgtg atttctcttg gggcgtgacc gagagcgtgc tgaagcctga aagcgtggcc 1620
agcagccccc agttcagcga cccttacctg tacgtgtgga acgccaccgg caaccggctg 1680
ctgcatagag tggaaggcgt gcggctgaaa accagacccg cccagtgcac cgacttcgtg 1740
aacatcaaga aacagctgga aatgctggcc cggatgaaag tgacccacta cagattcgcc 1800
ctggactggg ccagcgtgct gcctaccgga aatctgagcg ccgtgaacag acaggccctg 1860
cggtactaca gatgcgtggt gtccgagggc ctgaagctgg gcatcagcgc catggtcacc 1920
ctgtactacc ctacccacgc ccacctggga ctgcctgaac ctctgctgca tgctggcggc 1980
tggctgaacc ctagcaccgt ggaagccttt caggcctacg ccgggctgtg cttccaggaa 2040
ctgggcgacc tcgtgaagct gtggatcacc atcaacgagc ccaacagact gagcgacatc 2100
tacaacagaa gcggcaacga cacctacggc gctgcccaca atctgctggt ggctcatgcc 2160
ctggcttggc ggctgtacga cagacagttc cggccttctc agcggggagc cgtgtctctg 2220

```
tctctgcatg ccgattgggc cgagcccgcc aacccttacg ccgactctca ttggagagcc 2280
gccgagcggt tcctgcagtt cgagatcgct tggtttgccg agcccctgtt caagaccggc 2340
gattaccctg ccgccatgag agagtatatc gccagcaagc acagacgggg cctgagcagc 2400
tctgccctgc ctagactgac cgaggccgag cggagactgc tgaagggaac cgtggatttc 2460
tgcgccctga accacttcac caccagattc gtgatgcacg agcagctggc cggcagcaga 2520
tacgacagcg accgggacat ccagtttctg caggacatca cccggctgag cagccctaca 2580
agactggccg tgatcccttg gggagtgcgg aagctgctga gatgggtgcg cagaaactac 2640
ggcgacatgg atatctacat caccgccagc ggcatcgacg accaggccct ggaagatgac 2700
cggctgcgga agtactacct ggaaaagtac ctgcaggaag tgctgaaggc ctacctgatc 2760
gacaaagtgc ggatcaaggg ctactacgcc ttcaagctgg ccgaggaaaa gagcaagccc 2820
agattcggct tcttcaccag cgacttcaag gccaagagca gcatccagtt ctacaacaag 2880
atgatcagca gcagcggctt ccccagcgag aacagcagct ccagatgcag ccagacccag 2940
aaaaacaccg agtgtaccgt gtgcctgttc ctggtgcaga agaagcccct gatcttcctg 3000
ggctgctgct tctttagcac cctggtgctg ctgctgtcca tcaccatctt ccaccggcag 3060
aagcggagaa agttctggaa ggccaaaaac ctgcagcaca tccccctgaa gaaaggcaag 3120
cgggtgctga gctga                                                  3135

<210> 301
<211> 1043
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<223> Beta klotho của chuột nhắt

<400> 301
Met Lys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Ser Pro Gly Asn Glu Trp Ile Phe
 1               5                  10                  15
Phe Ser Ser Asp Glu Arg Asn Thr Arg Ser Arg Lys Thr Met Ser Asn
            20                  25                  30
Arg Ala Leu Gln Arg Ser Ala Val Leu Ser Ala Phe Val Leu Leu Arg
        35                  40                  45
Ala Val Thr Gly Phe Ser Gly Asp Gly Lys Ala Ile Trp Asp Lys Lys
    50                  55                  60
Gln Tyr Val Ser Pro Val Asn Pro Ser Gln Leu Phe Leu Tyr Asp Thr
65                  70                  75                  80
Phe Pro Lys Asn Phe Ser Trp Gly Val Gly Thr Gly Ala Phe Gln Val
                85                  90                  95
Glu Gly Ser Trp Lys Thr Asp Gly Arg Gly Pro Ser Ile Trp Asp Arg
            100                 105                 110
Tyr Val Tyr Ser His Leu Arg Gly Val Asn Gly Thr Asp Arg Ser Thr
        115                 120                 125
Asp Ser Tyr Ile Phe Leu Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Phe Leu
    130                 135                 140
Gly Val Ser Phe Tyr Gln Phe Ser Ile Ser Trp Pro Arg Leu Phe Pro
145                 150                 155                 160
Asn Gly Thr Val Ala Ala Val Asn Ala Gln Gly Leu Arg Tyr Tyr Arg
                165                 170                 175
Ala Leu Leu Asp Ser Leu Val Leu Arg Asn Ile Glu Pro Ile Val Thr
            180                 185                 190
Leu Tyr His Trp Asp Leu Pro Leu Thr Leu Gln Glu Glu Tyr Gly Gly
        195                 200                 205
Trp Lys Asn Ala Thr Met Ile Asp Leu Phe Asn Asp Tyr Ala Thr Tyr
    210                 215                 220
```

```
Cys Phe Gln Thr Phe Gly Asp Arg Val Lys Tyr Trp Ile Thr Ile His
225                 230                 235                 240
Asn Pro Tyr Leu Val Ala Trp His Gly Phe Gly Thr Gly Met His Ala
                245                 250                 255
Pro Gly Glu Lys Gly Asn Leu Thr Ala Val Tyr Thr Val Gly His Asn
            260                 265                 270
Leu Ile Lys Ala His Ser Lys Val Trp His Asn Tyr Asp Lys Asn Phe
        275                 280                 285
Arg Pro His Gln Lys Gly Trp Leu Ser Ile Thr Leu Gly Ser His Trp
    290                 295                 300
Ile Glu Pro Asn Arg Thr Asp Asn Met Glu Asp Val Ile Asn Cys Gln
305                 310                 315                 320
His Ser Met Ser Ser Val Leu Gly Trp Phe Ala Asn Pro Ile His Gly
                325                 330                 335
Asp Gly Asp Tyr Pro Glu Phe Met Lys Thr Gly Ala Met Ile Pro Glu
            340                 345                 350
Phe Ser Glu Ala Glu Lys Glu Glu Val Arg Gly Thr Ala Asp Phe Phe
        355                 360                 365
Ala Phe Ser Phe Gly Pro Asn Asn Phe Arg Pro Ser Asn Thr Val Val
    370                 375                 380
Lys Met Gly Gln Asn Val Ser Leu Asn Leu Arg Gln Val Leu Asn Trp
385                 390                 395                 400
Ile Lys Leu Glu Tyr Asp Asp Pro Gln Ile Leu Ile Ser Glu Asn Gly
                405                 410                 415
Trp Phe Thr Asp Ser Tyr Ile Lys Thr Glu Asp Thr Thr Ala Ile Tyr
            420                 425                 430
Met Met Lys Asn Phe Leu Asn Gln Val Leu Gln Ala Ile Lys Phe Asp
        435                 440                 445
Glu Ile Arg Val Phe Gly Tyr Thr Ala Trp Thr Leu Leu Asp Gly Phe
    450                 455                 460
Glu Trp Gln Asp Ala Tyr Thr Thr Arg Arg Gly Leu Phe Tyr Val Asp
465                 470                 475                 480
Phe Asn Ser Glu Gln Lys Glu Arg Lys Pro Lys Ser Ser Ala His Tyr
                485                 490                 495
Tyr Lys Gln Ile Ile Gln Asp Asn Gly Phe Pro Leu Lys Glu Ser Thr
            500                 505                 510
Pro Asp Met Lys Gly Arg Phe Pro Cys Asp Phe Ser Trp Gly Val Thr
        515                 520                 525
Glu Ser Val Leu Lys Pro Glu Phe Thr Val Ser Ser Pro Gln Phe Thr
    530                 535                 540
Asp Pro His Leu Tyr Val Trp Asn Val Thr Gly Asn Arg Leu Leu Tyr
545                 550                 555                 560
Arg Val Glu Gly Val Arg Leu Lys Thr Arg Pro Ser Gln Cys Thr Asp
                565                 570                 575
Tyr Val Ser Ile Lys Lys Arg Val Glu Met Leu Ala Lys Met Lys Val
            580                 585                 590
Thr His Tyr Gln Phe Ala Leu Asp Trp Thr Ser Ile Leu Pro Thr Gly
        595                 600                 605
Asn Leu Ser Lys Val Asn Arg Gln Val Leu Arg Tyr Tyr Arg Cys Val
    610                 615                 620
Val Ser Glu Gly Leu Lys Leu Gly Val Phe Pro Met Val Thr Leu Tyr
625                 630                 635                 640
His Pro Thr His Ser His Leu Gly Leu Pro Leu Pro Leu Leu Ser Ser
                645                 650                 655
```

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

<210> 302
<211> 3129

<212> ADN
<213> Mus musculus

<220>
<223> Beta klotho của chuột nhắt

<400> 302
atgaagacag gctgtgcagc agggtctccg gggaatgaat ggattttctt cagctctgat 60
gaaagaaaca cacgctctag gaaaacaatg tccaacaggg cactgcaaag atctgccgtg 120
ctgtctgcgt ttgttctgct gcgagctgtt accggcttct ccggagacgg gaaagcaata 180
tgggataaaa aacagtacgt gagtccggta aacccaagtc agctgttcct ctatgacact 240
ttccctaaaa acttttcctg gggcgttggg accggagcat ttcaagtgga agggagttgg 300
aagacagatg gaagaggacc ctcgatctgg gatcggtacg tctactcaca cctgagaggt 360
gtcaacggca cagacagatc cactgacagt tacatctttc tggaaaaaga cttgttggct 420
ctggattttt taggagtttc tttttatcag ttctcaatct cctggccacg gttgtttccc 480
aatggaacag tagcagcagt gaatgcgcaa ggtctccggt actaccgtgc acttctggac 540
tcgctggtac ttaggaatat cgagcccatt gttaccttgt accattggga tttgcctctg 600
acgctccagg aagaatatgg gggctggaaa aatgcaacta tgatagatct cttcaacgac 660
tatgccacat actgcttcca gacctttgga gaccgtgtca aatattggat tacaattcac 720
aacccttacc ttgttgcttg gcatgggttt ggcacaggta tgcatgcacc aggagagaag 780
ggaaatttaa cagctgtcta cactgtggga cacaacctga tcaaggcaca ttcgaaagtg 840
tggcataact acgacaaaaa cttccgccct catcagaagg gttggctctc catcaccttg 900
gggtcccatt ggatagagcc aaacagaaca gacaacatgg aggacgtgat caactgccag 960
cactccatgt cctctgtgct tggatggttc gccaacccca tccacgggga cggcgactac 1020
cctgagttca tgaagacggg cgccatgatc cccgagttct ctgaggcaga gaaggaggag 1080
gtgaggggca cggctgattt ctttgccttt tccttcgggc ccaacaactt caggccctca 1140
aacaccgtgg tgaaaatggg acaaaatgta tcactcaact taaggcaggt gctgaactgg 1200
attaaactgg aatacgatga ccctcaaatc ttgatttcgg agaacggctg gttcacagat 1260
agctatataa agacagagga caccacggcc atctacatga tgaagaattt cctaaaccag 1320
gttcttcaag caataaaatt tgatgaaatc cgcgtgtttg gttatacggc ctggactctc 1380
ctggatggct ttgagtggca ggatgcctat acgacccgac gagggctgtt ttatgtggac 1440
tttaacagtg agcagaaaga gaggaaaccc aagtcctcgg ctcattacta caagcagatc 1500
atacaagaca acggcttccc tttgaaagag tccacgccag acatgaaggg tcggttcccc 1560
tgtgatttct cttggggagt cactgagtct gttcttaagc ccgagtttac ggtctcctcc 1620
ccgcagttta ccgatcctca cctgtatgtg tggaatgtca ctggcaacag attgctctac 1680
cgagtggaag gggtaaggct gaaaacaaga ccatcccagt gcacagatta tgtgagcatc 1740
aaaaaacgag ttgaaatgtt ggcaaaaatg aaagtcaccc actaccagtt tgctctggac 1800
tggacctcta tccttcccac tggcaatctg tccaaagtta acagacaagt gttaaggtac 1860
tataggtgtg tggtgagcga aggactgaag ctgggcgtct tccccatggt gacgttgtac 1920
cacccaaccc actcccatct cggcctcccc ctgccacttc tgagcagtgg ggggtggcta 1980
aacatgaaca cagccaaggc cttccaggac tacgctgagc tgtgcttccg ggagttgggg 2040
gacttggtga agctctggat caccatcaat gagcctaaca ggctgagtga catgtacaac 2100
cgcacgagta atgacaccta ccgtgcagcc cacaacctga tgatcgccca tgcccaggtc 2160
tggcacctct atgataggca gtataggccg gtccagcatg gggctgtgtc gctgtcctta 2220
cattgcgact gggcagaacc tgccaacccc tttgtggatt cacactggaa ggcagccgag 2280
cgcttcctcc agtttgagat cgcctggttt gcagatccgc tcttcaagac tggcgactat 2340
ccatcggtta tgaaggaata catcgcctcc aagaaccagc gagggctgtc tagctcagtc 2400
ctgccgcgct tcaccgcgaa ggagagcagg ctggtgaagg gtaccgtcga cttctacgca 2460
ctgaaccact tcactacgag gttcgtgata cacaagcagc tgaacaccaa ccgctcagtt 2520
gcagacaggg acgtccagtt cctgcaggac atcacccgcc taagctcgcc cagccgcctg 2580
gctgtaacac cctggggagt gcgcaagctc cttgcgtgga tccggaggaa ctacagagac 2640
agggatatct acatcacagc caatggcatc gatgacctgg ctctagagga tgatcagatc 2700
cgaaagtact acttggagaa gtatgtccag gaggctctga aagcatatct cattgacaag 2760
gtcaaaatca aaggctacta tgcattcaaa ctgactgaag agaaatctaa gcctagattt 2820

ggatttttca cctctgactt cagagctaag tcctctgtcc agttttacag caagctgatc 2880
agcagcagtg gcctccccgc tgagaacaga agtcctgcgt gtggtcagcc tgcggaagac 2940
acagactgca ccatttgctc atttctcgtg gagaagaaac cactcatctt cttcggttgc 3000
tgcttcatct ccactctggc tgtactgcta tccatcaccg tttttcatca tcaaaagaga 3060
agaaaattcc agaaagcaag gaacttacaa aatataccat tgaagaaagg ccacagcaga 3120
gttttcagc 3129

<210> 303
<211> 651
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> FGF19 chiều dài đầy đủ (NM_005117.2)

<400> 303
atgcggagcg ggtgtgtggt ggtccacgta tggatcctgg ccggcctctg gctggccgtg 60
gccgggcgcc ccctcgcctt ctcggacgcg gggccccacg tgcactacgg ctggggcgac 120
cccatccgcc tgcggcacct gtacacctcc ggcccccacg ggctctccag ctgcttcctg 180
cgcatccgtg ccgacggcgt cgtggactgc gcgcggggcc agagcgcgca cagtttgctg 240
gagatcaagg cagtcgctct gcggaccgtg gccatcaagg gcgtgcacag cgtgcggtac 300
ctctgcatgg gcgccgacgg caagatgcag gggctgcttc agtactcgga ggaagactgt 360
gctttcgagg aggagatccg cccagatggc tacaatgtgt accgatccga gaagcaccgc 420
ctcccggtct ccctgagcag tgccaaacag cggcagctgt acaagaacag aggctttctt 480
ccactctctc atttcctgcc catgctgccc atggtcccag aggagcctga ggacctcagg 540
ggccacttgg aatctgacat gttctcttcg cccctggaga ccgacagcat ggacccattt 600
gggcttgtca ccggactgga ggccgtgagg agtcccagct ttgagaagta a 651

<210> 304
<211> 216
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> FGF19 chiều dài đầy đủ (NP_005108.1)

<400> 304
Met Arg Ser Gly Cys Val Val Val His Val Trp Ile Leu Ala Gly Leu
1 5 10 15

Trp Leu Ala Val Ala Gly Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro
20 25 30

His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr
35 40 45

Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala
50 55 60

Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu

65 70 75 80

Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His
85 90 95

Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu
100 105 110

Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro
115 120 125

Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser
130 135 140

Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu
145 150 155 160

Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro
165 170 175

Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu
180 185 190

Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala
195 200 205

Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
210 215

<210> 305
<211> 630
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> FGF21 chiều dài đầy đủ

<400> 305
atggactcgg acgagaccgg gttcgagcac tcaggactgt gggtttctgt gctggctggt 60
cttctgctgg gagcctgcca ggcacacccc atccctgact ccagtcctct cctgcaattc 120
gggggccaag tccggcagcg gtacctctac acagatgatg cccagcagac agaagcccac 180
ctggagatca gggaggatgg gacggtgggg ggcgctgctg accagagccc cgaaagtctc 240
ctgcagctga aagccttgaa gccgggagtt attcaaatct tgggagtcaa gacatccagg 300

ttcctgtgcc agcggccaga tggggccctg tatggatcgc tccactttga ccctgaggcc 360
tgcagcttcc gggagctgct tcttgaggac ggatacaatg tttaccagtc cgaagcccac 420
ggcctcccgc tgcacctgcc agggaacaag tccccacacc gggaccctgc accccgagga 480
ccagctcgct tcctgccact accaggcctg ccccccgcac ccccggagcc acccggaatc 540
ctggcccccc agccccccga tgtgggctcc tcggaccctc tgagcatggt gggaccttcc 600
cagggccgaa gccccagcta cgcttcctga 630

<210> 306
<211> 209
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> FGF21 chiều dài đầy đủ

<400> 306
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
 1   5   10   15
Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
            20   25   30
Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
        35   40   45
Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
    50   55   60
Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65   70   75   80
Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
                85   90   95
Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
            100   105   110
Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
        115   120   125
Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130   135   140
His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145   150   155   160
Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
                165   170   175
Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
            180   185   190
Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
        195   200   205
Ser

<210> 307
<211> 2469
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> FGFR1c của người NM_023110.2 (còn được gọi là FGFR alpha-IIIc)

<400> 307
atgtggagct ggaagtgcct cctcttctgg gctgtgctgg tcacagccac actctgcacc 60
gctaggccgt ccccgacctt gcctgaacaa gcccagccct ggggagcccc tgtggaagtg 120
gagtccttcc tggtccaccc cggtgacctg ctgcagcttc gctgtcggct gcgggacgat 180
gtgcagagca tcaactggct gcgggacggg gtgcagctgg cggaaagcaa ccgcacccgc 240
atcacagggg aggaggtgga ggtgcaggac tccgtgcccg cagactccgg cctctatgct 300
tgcgtaacca gcagcccctc gggcagtgac accacctact tctccgtcaa tgtttcagat 360
gctctcccct cctcggagga tgatgatgat gatgatgact cctcttcaga ggagaaagaa 420
acagataaca ccaaaccaaa ccgtatgccc gtagctccat attggacatc accagaaaag 480
atggaaaaga aattgcatgc agtgccggct gccaagacag tgaagttcaa atgcccttcc 540
agtgggacac caaacccaac actgcgctgg ttgaaaaatg gcaaagaatt caaacctgac 600
cacagaattg gaggctacaa ggtccgttat gccacctgga gcatcataat ggactctgtg 660
gtgccctctg acaagggcaa ctacacctgc attgtggaga atgagtacgg cagcatcaac 720
cacacatacc agctggatgt cgtggagcgg tcccctcacc ggcccatcct gcaagcaggg 780
ttgcccgcca acaaaacagt ggccctgggt agcaacgtgg agttcatgtg taaggtgtac 840
agtgacccgc agccgcacat ccagtggcta aagcacatcg aggtgaatgg gagcaagatt 900
ggcccagaca acctgcctta tgtccagatc ttgaagactg ctggagttaa taccaccgac 960
aaagagatgg aggtgcttca cttaagaaat gtctcctttg aggacgcagg ggagtatacg 1020
tgcttggcgg gtaactctat cggactctcc catcactctg catggttgac cgttctggaa 1080
gccctggaag agaggccggc agtgatgacc tcgcccctgt acctggagat catcatctat 1140
tgcacagggg ccttcctcat ctcctgcatg gtggggtcgg tcatcgtcta caagatgaag 1200
agtggtacca agaagagtga cttccacagc cagatggctg tgcacaagct ggccaagagc 1260
atccctctgc gcagacaggt aacagtgtct gctgactcca gtgcatccat gaactctggg 1320
gttcttctgg ttcggccatc acggctctcc tccagtggga ctcccatgct agcaggggtc 1380
tctgagtatg agcttcccga agaccctcgc tgggagctgc ctcgggacag actggtctta 1440
ggcaaacccc tgggagaggg ctgctttggg caggtggtgt tggcagaggc tatcgggctg 1500
gacaaggaca aacccaaccg tgtgaccaaa gtggctgtga agatgttgaa gtcggacgca 1560
acagagaaag acttgtcaga cctgatctca gaaatggaga tgatgaagat gatcgggaag 1620
cataagaata tcatcaacct gctgggggcc tgcacgcagg atggtccctt gtatgtcatc 1680
gtggagtatg cctccaaggg caacctgcgg gagtacctgc aggcccggag gcccccaggg 1740
ctggaatact gctacaaccc cagccacaac ccagaggagc agctctcctc caaggacctg 1800
gtgtcctgcg cctaccaggt ggcccgaggc atggagtatc tggcctccaa gaagtgcata 1860
caccgagacc tggcagccag gaatgtcctg gtgacagagg acaatgtgat gaagatagca 1920
gactttggcc tcgcacggga cattcaccac atcgactact ataaaaagac aaccaacggc 1980
cgactgcctg tgaagtggat ggcacccgag gcattatttg accggatcta cacccaccag 2040
agtgatgtgt ggtctttcgg ggtgctcctg tgggagatct tcactctggg cggctcccca 2100
taccccggtg tgcctgtgga ggaacttttc aagctgctga aggagggtca ccgcatggac 2160
aagcccagta actgcaccaa cgagctgtac atgatgatgc gggactgctg gcatgcagtg 2220
ccctcacaga gacccacctt caagcagctg gtggaagacc tggaccgcat cgtggccttg 2280
acctccaacc aggagtacct ggacctgtcc atgcccctgg accagtactc ccccagcttt 2340
cccgacaccc ggagctctac gtgctcctca ggggaggatt ccgtcttctc tcatgagccg 2400
ctgcccgagg agccctgcct gccccgacac ccagcccagc ttgccaatgg cggactcaaa 2460
cgccgctga 2469

<210> 308
<211> 822
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> FGFR1c của người NP_075598.2 (còn được gọi là FGFR alpha-IIIc)

<400> 308
Met Trp Ser Trp Lys Cys Leu Leu Phe Trp Ala Val Leu Val Thr Ala

```
 1               5                  10                  15
Thr Leu Cys Thr Ala Arg Pro Ser Pro Thr Leu Pro Glu Gln Ala Gln
            20                  25                  30
Pro Trp Gly Ala Pro Val Glu Val Glu Ser Phe Leu Val His Pro Gly
        35                  40                  45
Asp Leu Leu Gln Leu Arg Cys Arg Leu Arg Asp Asp Val Gln Ser Ile
    50                  55                  60
Asn Trp Leu Arg Asp Gly Val Gln Leu Ala Glu Ser Asn Arg Thr Arg
65                  70                  75                  80
Ile Thr Gly Glu Glu Val Glu Val Gln Asp Ser Val Pro Ala Asp Ser
                85                  90                  95
Gly Leu Tyr Ala Cys Val Thr Ser Ser Pro Ser Gly Ser Asp Thr Thr
            100                 105                 110
Tyr Phe Ser Val Asn Val Ser Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu Asp Asp
        115                 120                 125
Asp Asp Asp Asp Asp Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp Asn Thr
    130                 135                 140
Lys Pro Asn Arg Met Pro Val Ala Pro Tyr Trp Thr Ser Pro Glu Lys
145                 150                 155                 160
Met Glu Lys Lys Leu His Ala Val Pro Ala Ala Lys Thr Val Lys Phe
                165                 170                 175
Lys Cys Pro Ser Ser Gly Thr Pro Asn Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys
            180                 185                 190
Asn Gly Lys Glu Phe Lys Pro Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val
        195                 200                 205
Arg Tyr Ala Thr Trp Ser Ile Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp
    210                 215                 220
Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Ile Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn
225                 230                 235                 240
His Thr Tyr Gln Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile
                245                 250                 255
Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn
            260                 265                 270
Val Glu Phe Met Cys Lys Val Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln
        275                 280                 285
Trp Leu Lys His Ile Glu Val Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn
    290                 295                 300
Leu Pro Tyr Val Gln Ile Leu Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp
305                 310                 315                 320
Lys Glu Met Glu Val Leu His Leu Arg Asn Val Ser Phe Glu Asp Ala
                325                 330                 335
Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His
            340                 345                 350
Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu Glu Ala Leu Glu Glu Arg Pro Ala Val
        355                 360                 365
Met Thr Ser Pro Leu Tyr Leu Glu Ile Ile Ile Tyr Cys Thr Gly Ala
    370                 375                 380
Phe Leu Ile Ser Cys Met Val Gly Ser Val Ile Val Tyr Lys Met Lys
385                 390                 395                 400
Ser Gly Thr Lys Lys Ser Asp Phe His Ser Gln Met Ala Val His Lys
                405                 410                 415
Leu Ala Lys Ser Ile Pro Leu Arg Arg Gln Val Thr Val Ser Ala Asp
            420                 425                 430
Ser Ser Ala Ser Met Asn Ser Gly Val Leu Leu Val Arg Pro Ser Arg
```

```
        435                 440                 445
Leu Ser Ser Ser Gly Thr Pro Met Leu Ala Gly Val Ser Glu Tyr Glu
    450                 455                 460
Leu Pro Glu Asp Pro Arg Trp Glu Leu Pro Arg Asp Arg Leu Val Leu
465                 470                 475                 480
Gly Lys Pro Leu Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Leu Ala Glu
                485                 490                 495
Ala Ile Gly Leu Asp Lys Asp Lys Pro Asn Arg Val Thr Lys Val Ala
            500                 505                 510
Val Lys Met Leu Lys Ser Asp Ala Thr Glu Lys Asp Leu Ser Asp Leu
        515                 520                 525
Ile Ser Glu Met Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys His Lys Asn Ile
    530                 535                 540
Ile Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Gln Asp Gly Pro Leu Tyr Val Ile
545                 550                 555                 560
Val Glu Tyr Ala Ser Lys Gly Asn Leu Arg Glu Tyr Leu Gln Ala Arg
                565                 570                 575
Arg Pro Pro Gly Leu Glu Tyr Cys Tyr Asn Pro Ser His Asn Pro Glu
            580                 585                 590
Glu Gln Leu Ser Ser Lys Asp Leu Val Ser Cys Ala Tyr Gln Val Ala
        595                 600                 605
Arg Gly Met Glu Tyr Leu Ala Ser Lys Lys Cys Ile His Arg Asp Leu
    610                 615                 620
Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Thr Glu Asp Asn Val Met Lys Ile Ala
625                 630                 635                 640
Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile His His Ile Asp Tyr Tyr Lys Lys
                645                 650                 655
Thr Thr Asn Gly Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu
            660                 665                 670
Phe Asp Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val
        675                 680                 685
Leu Leu Trp Glu Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Val
    690                 695                 700
Pro Val Glu Glu Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp
705                 710                 715                 720
Lys Pro Ser Asn Cys Thr Asn Glu Leu Tyr Met Met Met Arg Asp Cys
                725                 730                 735
Trp His Ala Val Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu
            740                 745                 750
Asp Leu Asp Arg Ile Val Ala Leu Thr Ser Asn Gln Glu Tyr Leu Asp
        755                 760                 765
Leu Ser Met Pro Leu Asp Gln Tyr Ser Pro Ser Phe Pro Asp Thr Arg
    770                 775                 780
Ser Ser Thr Cys Ser Ser Gly Glu Asp Ser Val Phe Ser His Glu Pro
785                 790                 795                 800
Leu Pro Glu Glu Pro Cys Leu Pro Arg His Pro Ala Gln Leu Ala Asn
                805                 810                 815
Gly Gly Leu Lys Arg Arg
            820
```

<210> 309
<211> 374
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> ví dụ về vùng ngoại bào của FGFR1c

<400> 309

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

<210> 310
<211> 2466
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Trình tự mã hóa của FGFR2c của người (NM_000141.4)

<400> 310
atggtcagct ggggtcgttt catctgcctg gtcgtggtca ccatggcaac cttgtccctg 60
gcccggccct ccttcagttt agttgaggat accacattag agccagaaga gccaccaacc 120
aaataccaaa tctctcaacc agaagtgtac gtggctgcgc caggggagtc gctagaggtg 180
cgctgcctgt tgaaagatgc cgccgtgatc agttggacta aggatggggt gcacttgggg 240
cccaacaata ggacagtgct tattggggag tacttgcaga taaagggcgc cacgcctaga 300
gactccggcc tctatgcttg tactgccagt aggactgtag acagtgaaac ttggtacttc 360
atggtgaatg tcacagatgc catctcatcc ggagatgatg aggatgacac cgatggtgcg 420
gaagattttg tcagtgagaa cagtaacaac aagagagcac catactggac caacacagaa 480
aagatggaaa agcggctcca tgctgtgcct gcggccaaca ctgtcaagtt tcgctgccca 540
gccgggggga acccaatgcc aaccatgcgg tggctgaaaa acgggaagga gtttaagcag 600
gagcatcgca ttggaggcta caaggtacga aaccagcact ggagcctcat tatggaaagt 660
gtggtcccat ctgacaaggg aaattatacc tgtgtagtgg agaatgaata cgggtccatc 720
aatcacacgt accacctgga tgttgtggag cgatcgcctc accggcccat cctccaagcc 780
ggactgccgg caaatgcctc cacagtggtc ggaggagacg tagagtttgt ctgcaaggtt 840
tacagtgatg cccagcccca catccagtgg atcaagcacg tggaaaagaa cggcagtaaa 900
tacgggcccg acgggctgcc ctacctcaag gttctcaagg ccgccggtgt taacaccacg 960
gacaaagaga ttgaggttct ctatattcgg aatgtaactt ttgaggacgc tggggaatat 1020
acgtgcttgg cgggtaattc tattgggata tcctttcact ctgcatggtt gacagttctg 1080
ccagcgcctg gaagagaaaa ggagattaca gcttccccag actacctgga gatagccatt 1140
tactgcatag gggtcttctt aatcgcctgt atggtggtaa cagtcatcct gtgccgaatg 1200
aagaacacga ccaagaagcc agacttcagc agccagccgg ctgtgcacaa gctgaccaaa 1260
cgtatccccc tgcggagaca ggtaacagtt tcggctgagt ccagctcctc catgaactcc 1320
aacaccccgc tggtgaggat aacaacacgc ctctcttcaa cggcagacac ccccatgctg 1380
gcaggggtct ccgagtatga acttccagag gacccaaaat gggagtttcc aagagataag 1440
ctgacactgg gcaagccccc gggagaaggt tgctttgggc aagtggtcat ggcggaagca 1500
gtgggaattg acaaagacaa gcccaaggag gcggtcaccg tggccgtgaa gatgttgaaa 1560
gatgatgcca cagagaaaga cctttctgat ctggtgtcag agatggagat gatgaagatg 1620
attgggaaac acaagaatat cataaatctt cttggagcct gcacacagga tgggcctctc 1680
tatgtcatag ttgagtatgc ctctaaaggc aacctccgag aatacctccg agcccggagg 1740
ccacccggga tggagtactc ctatgacatt aaccgtgttc ctgaggagca gatgaccttc 1800
aaggacttgg tgtcatgcac ctaccagctg gccagaggca tggagtactt ggcttcccaa 1860
aaatgtattc atcgagattt agcagccaga aatgttttgg taacagaaaa caatgtgatg 1920
aaaatagcag actttggact cgccagagat atcaacaata tagactatta caaaaagacc 1980
accaatgggc ggcttccagt caagtggatg gctccagaag ccctgtttga tagagtatac 2040
actcatcaga gtgatgtctg gtccttcggg gtgttaatgt gggagatctt cactttaggg 2100
ggctcgccct acccagggat tcccgtggag gaacttttta agctgctgaa ggaaggacac 2160
agaatggata agccagccaa ctgcaccaac gaactgtaca tgatgatgag ggactgttgg 2220
catgcagtgc cctcccagag accaacgttc aagcagttgg tagaagactt ggatcgaatt 2280
ctcactctca caaccaatga ggaatacttg gacctcagcc aacctctcga acagtattca 2340
cctagttacc ctgacacaag aagttcttgt tcttcaggag atgattctgt tttttctcca 2400
gaccccatgc cttacgaacc atgccttcct cagtatccac acataaacgg cagtgttaaa 2460
acatga 2466

<210> 311
<211> 821
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> FGFR2c của người(NP_000132.3)

<400> 311
Met Val Ser Trp Gly Arg Phe Ile Cys Leu Val Val Val Thr Met Ala
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Ala Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr
20 25 30

Leu Glu Pro Glu Glu Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu
35 40 45

Val Tyr Val Ala Ala Pro Gly Glu Ser Leu Glu Val Arg Cys Leu Leu
50 55 60

Lys Asp Ala Ala Val Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly
65 70 75 80

Pro Asn Asn Arg Thr Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly
85 90 95

Ala Thr Pro Arg Asp Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr
100 105 110

Val Asp Ser Glu Thr Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile
115 120 125

Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Ala Glu Asp Phe Val
130 135 140

Ser Glu Asn Ser Asn Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu
145 150 155 160

Lys Met Glu Lys Arg Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys
165 170 175

Phe Arg Cys Pro Ala Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu

180 185 190

Lys Asn Gly Lys Glu Phe Lys Gln Glu His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys
195 200 205

Val Arg Asn Gln His Trp Ser Leu Ile Met Glu Ser Val Val Pro Ser
210 215 220

Asp Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile
225 230 235 240

Asn His Thr Tyr His Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro
245 250 255

Ile Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly
260 265 270

Asp Val Glu Phe Val Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile
275 280 285

Gln Trp Ile Lys His Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp
290 295 300

Gly Leu Pro Tyr Leu Lys Val Leu Lys Ala Ala Gly Val Asn Thr Thr
305 310 315 320

Asp Lys Glu Ile Glu Val Leu Tyr Ile Arg Asn Val Thr Phe Glu Asp
325 330 335

Ala Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Ile Ser Phe
340 345 350

His Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu Pro Ala Pro Gly Arg Glu Lys Glu
355 360 365

Ile Thr Ala Ser Pro Asp Tyr Leu Glu Ile Ala Ile Tyr Cys Ile Gly
370 375 380

Val Phe Leu Ile Ala Cys Met Val Val Thr Val Ile Leu Cys Arg Met
385 390 395 400

Lys Asn Thr Thr Lys Lys Pro Asp Phe Ser Ser Gln Pro Ala Val His
405 410 415

Lys Leu Thr Lys Arg Ile Pro Leu Arg Arg Gln Val Thr Val Ser Ala
420 425 430

Glu Ser Ser Ser Ser Met Asn Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile Thr
435 440 445

Thr Arg Leu Ser Ser Thr Ala Asp Thr Pro Met Leu Ala Gly Val Ser
450 455 460

Glu Tyr Glu Leu Pro Glu Asp Pro Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asp Lys
465 470 475 480

Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val Val
485 490 495

Met Ala Glu Ala Val Gly Ile Asp Lys Asp Lys Pro Lys Glu Ala Val
500 505 510

Thr Val Ala Val Lys Met Leu Lys Asp Asp Ala Thr Glu Lys Asp Leu
515 520 525

Ser Asp Leu Val Ser Glu Met Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys His
530 535 540

Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Gln Asp Gly Pro Leu
545 550 555 560

Tyr Val Ile Val Glu Tyr Ala Ser Lys Gly Asn Leu Arg Glu Tyr Leu
565 570 575

Arg Ala Arg Arg Pro Pro Gly Met Glu Tyr Ser Tyr Asp Ile Asn Arg
580 585 590

Val Pro Glu Glu Gln Met Thr Phe Lys Asp Leu Val Ser Cys Thr Tyr
595 600 605

Gln Leu Ala Arg Gly Met Glu Tyr Leu Ala Ser Gln Lys Cys Ile His

610 615 620

Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Thr Glu Asn Asn Val Met
625 630 635 640

Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile Asn Asn Ile Asp Tyr
645 650 655

Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro
660 665 670

Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser
675 680 685

Phe Gly Val Leu Met Trp Glu Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr
690 695 700

Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His
705 710 715 720

Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn Cys Thr Asn Glu Leu Tyr Met Met Met
725 730 735

Arg Asp Cys Trp His Ala Val Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln
740 745 750

Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg Ile Leu Thr Leu Thr Thr Asn Glu Glu
755 760 765

Tyr Leu Asp Leu Ser Gln Pro Leu Glu Gln Tyr Ser Pro Ser Tyr Pro
770 775 780

Asp Thr Arg Ser Ser Cys Ser Ser Gly Asp Asp Ser Val Phe Ser Pro
785 790 795 800

Asp Pro Met Pro Tyr Glu Pro Cys Leu Pro Gln Tyr Pro His Ile Asn
805 810 815

Gly Ser Val Lys Thr
820

<210> 312
<211> 2421
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> FGFR3c của người(NM_000142.4)

<400> 312
atgggcgccc ctgcctgcgc cctcgcgctc tgcgtggccg tggccatcgt ggccggcgcc 60
tcctcggagt ccttggggac ggagcagcgc gtcgtggggc gagcggcaga agtcccgggc 120
ccagagcccg gccagcagga gcagttggtc ttcggcagcg gggatgctgt ggagctgagc 180
tgtcccccgc ccgggggtgg tcccatgggg cccactgtct gggtcaagga tggcacaggg 240
ctggtgccct cggagcgtgt cctggtgggg ccccagcggc tgcaggtgct gaatgcctcc 300
cacgaggact ccggggccta cagctgccgg cagcggctca cgcagcgcgt actgtgccac 360
ttcagtgtgc gggtgacaga cgctccatcc tcgggagatg acgaagacgg ggaggacgag 420
gctgaggaca caggtgtgga cacaggggcc ccttactgga cacggcccga gcggatggac 480
aagaagctgc tggccgtgcc ggccgccaac accgtccgct tccgctgccc agccgctggc 540
aaccccactc cctccatctc ctggctgaag aacggcaggg agttccgcgg cgagcaccgc 600
attggaggca tcaagctgcg gcatcagcag tggagcctgg tcatggaaag cgtggtgccc 660
tcggaccgcg gcaactacac ctgcgtcgtg gagaacaagt ttggcagcat ccggcagacg 720
tacacgctgg acgtgctgga gcgctccccg caccggccca tcctgcaggc ggggctgccg 780
gccaaccaga cggcggtgct gggcagcgac gtggagttcc actgcaaggt gtacagtgac 840
gcacagcccc acatccagtg gctcaagcac gtggaggtga atggcagcaa ggtgggcccg 900
gacggcacac cctacgttac cgtgctcaag acggcgggcg ctaacaccac cgacaaggag 960
ctagaggttc tctccttgca caacgtcacc tttgaggacg ccggggagta cacctgcctg 1020
gcgggcaatt ctattgggtt ttctcatcac tctgcgtggc tggtggtgct gccagccgag 1080
gaggagctgg tggaggctga cgaggcgggc agtgtgtatg caggcatcct cagctacggg 1140
gtgggcttct tcctgttcat cctggtggtg gcggctgtga cgctctgccg cctgcgcagc 1200
ccccccaaga aaggcctggg ctcccccacc gtgcacaaga tctcccgctt cccgctcaag 1260
cgacaggtgt ccctggagtc caacgcgtcc atgagctcca acacaccact ggtgcgcatc 1320
gcaaggctgt cctcagggga gggccccacg ctggccaatg tctccgagct cgagctgcct 1380
gccgacccca aatgggagct gtctcgggcc cggctgaccc tgggcaagcc ccttggggag 1440
ggctgcttcg gccaggtggt catggcggag gccatcggca ttgacaagga ccgggccgcc 1500
aagcctgtca ccgtagccgt gaagatgctg aaagacgatg ccactgacaa ggacctgtcg 1560
gacctggtgt ctgagatgga gatgatgaag atgatcggga aacacaaaaa catcatcaac 1620
ctgctgggcg cctgcacgca gggcgggccc ctgtacgtgc tggtggagta cgcggccaag 1680
ggtaacctgc gggagtttct gcgggcgcgg cggcccccgg gcctggacta ctccttcgac 1740
acctgcaagc cgcccgagga gcagctcacc ttcaaggacc tggtgtcctg tgcctaccag 1800
gtggcccggg gcatggagta cttggcctcc cagaagtgca tccacaggga cctggctgcc 1860
cgcaatgtgc tggtgaccga ggacaacgtg atgaagatcg cagacttcgg gctggcccgg 1920
gacgtgcaca acctcgacta ctacaagaag acaaccaacg gccggctgcc cgtgaagtgg 1980
atggcgcctg aggccttgtt tgaccgagtc tacactcacc agagtgacgt ctggtccttt 2040
ggggtcctgc tctgggagat cttcacgctg gggggctccc cgtaccccgg catccctgtg 2100
gaggagctct tcaagctgct gaaggagggc caccgcatgg acaagcccgc caactgcaca 2160
cacgacctgt acatgatcat gcgggagtgc tggcatgccg cgccctccca gaggcccacc 2220
ttcaagcagc tggtggagga cctggaccgt gtccttaccg tgacgtccac cgacgagtac 2280
ctggacctgt cggcgccttt cgagcagtac tccccgggtg gccaggacac ccccagctcc 2340
agctcctcag gggacgactc cgtgtttgcc cacgacctgc tgccccggc cccacccagc 2400
agtgggggct cgcggacgtg a 2421

<210> 313
<211> 806

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> FGFR3c của người(NP_000133.1)

<400> 313

```
Met Gly Ala Pro Ala Cys Ala Leu Ala Leu Cys Val Ala Val Ala Ile
1               5                  10                  15

Val Ala Gly Ala Ser Ser Glu Ser Leu Gly Thr Glu Gln Arg Val Val
            20                  25                  30

Gly Arg Ala Ala Glu Val Pro Gly Pro Glu Pro Gly Gln Gln Glu Gln
        35                  40                  45

Leu Val Phe Gly Ser Gly Asp Ala Val Glu Leu Ser Cys Pro Pro Pro
    50                  55                  60

Gly Gly Gly Pro Met Gly Pro Thr Val Trp Val Lys Asp Gly Thr Gly
65                  70                  75                  80

Leu Val Pro Ser Glu Arg Val Leu Val Gly Pro Gln Arg Leu Gln Val
                85                  90                  95

Leu Asn Ala Ser His Glu Asp Ser Gly Ala Tyr Ser Cys Arg Gln Arg
            100                 105                 110

Leu Thr Gln Arg Val Leu Cys His Phe Ser Val Arg Val Thr Asp Ala
        115                 120                 125

Pro Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Gly Glu Asp Glu Ala Glu Asp Thr
    130                 135                 140

Gly Val Asp Thr Gly Ala Pro Tyr Trp Thr Arg Pro Glu Arg Met Asp
145                 150                 155                 160

Lys Lys Leu Leu Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Arg Phe Arg Cys
                165                 170                 175

Pro Ala Ala Gly Asn Pro Thr Pro Ser Ile Ser Trp Leu Lys Asn Gly
            180                 185                 190
```

Arg Glu Phe Arg Gly Glu His Arg Ile Gly Gly Ile Lys Leu Arg His
195 200 205

Gln Gln Trp Ser Leu Val Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Arg Gly
210 215 220

Asn Tyr Thr Cys Val Val Glu Asn Lys Phe Gly Ser Ile Arg Gln Thr
225 230 235 240

Tyr Thr Leu Asp Val Leu Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln
245 250 255

Ala Gly Leu Pro Ala Asn Gln Thr Ala Val Leu Gly Ser Asp Val Glu
260 265 270

Phe His Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Leu
275 280 285

Lys His Val Glu Val Asn Gly Ser Lys Val Gly Pro Asp Gly Thr Pro
290 295 300

Tyr Val Thr Val Leu Lys Thr Ala Gly Ala Asn Thr Thr Asp Lys Glu
305 310 315 320

Leu Glu Val Leu Ser Leu His Asn Val Thr Phe Glu Asp Ala Gly Glu
325 330 335

Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Phe Ser His His Ser Ala
340 345 350

Trp Leu Val Val Leu Pro Ala Glu Glu Glu Leu Val Glu Ala Asp Glu
355 360 365

Ala Gly Ser Val Tyr Ala Gly Ile Leu Ser Tyr Gly Val Gly Phe Phe
370 375 380

Leu Phe Ile Leu Val Val Ala Ala Val Thr Leu Cys Arg Leu Arg Ser
385 390 395 400

Pro Pro Lys Lys Gly Leu Gly Ser Pro Thr Val His Lys Ile Ser Arg

405 410 415

Phe Pro Leu Lys Arg Gln Val Ser Leu Glu Ser Asn Ala Ser Met Ser
420 425 430

Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile Ala Arg Leu Ser Ser Gly Glu Gly
435 440 445

Pro Thr Leu Ala Asn Val Ser Glu Leu Glu Leu Pro Ala Asp Pro Lys
450 455 460

Trp Glu Leu Ser Arg Ala Arg Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu Gly Glu
465 470 475 480

Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Met Ala Glu Ala Ile Gly Ile Asp Lys
485 490 495

Asp Arg Ala Ala Lys Pro Val Thr Val Ala Val Lys Met Leu Lys Asp
500 505 510

Asp Ala Thr Asp Lys Asp Leu Ser Asp Leu Val Ser Glu Met Glu Met
515 520 525

Met Lys Met Ile Gly Lys His Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu Gly Ala
530 535 540

Cys Thr Gln Gly Gly Pro Leu Tyr Val Leu Val Glu Tyr Ala Ala Lys
545 550 555 560

Gly Asn Leu Arg Glu Phe Leu Arg Ala Arg Arg Pro Pro Gly Leu Asp
565 570 575

Tyr Ser Phe Asp Thr Cys Lys Pro Pro Glu Glu Gln Leu Thr Phe Lys
580 585 590

Asp Leu Val Ser Cys Ala Tyr Gln Val Ala Arg Gly Met Glu Tyr Leu
595 600 605

Ala Ser Gln Lys Cys Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu
610 615 620

Val Thr Glu Asp Asn Val Met Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg
625 630 635 640

Asp Val His Asn Leu Asp Tyr Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly Arg Leu
645 650 655

Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val Tyr Thr
660 665 670

His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe
675 680 685

Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu Leu Phe
690 695 700

Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn Cys Thr
705 710 715 720

His Asp Leu Tyr Met Ile Met Arg Glu Cys Trp His Ala Ala Pro Ser
725 730 735

Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg Val Leu
740 745 750

Thr Val Thr Ser Thr Asp Glu Tyr Leu Asp Leu Ser Ala Pro Phe Glu
755 760 765

Gln Tyr Ser Pro Gly Gly Gln Asp Thr Pro Ser Ser Ser Ser Ser Gly
770 775 780

Asp Asp Ser Val Phe Ala His Asp Leu Leu Pro Pro Ala Pro Pro Ser
785 790 795 800

Ser Gly Gly Ser Arg Thr
805

<210> 314
<211> 2409
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<220>
<223> FGFR4 của người(NM_002011.4)

<400> 314
atgcggctgc tgctggccct gttgggggtc ctgctgagtg tgcctgggcc tccagtcttg 60
tccctggagg cctctgagga agtggagctt gagccctgcc tggctcccag cctggagcag 120
caagagcagg agctgacagt agcccttggg cagcctgtgc gtctgtgctg tgggcgggct 180
gagcgtggtg gccactggta caaggagggc agtcgcctgg cacctgctgg ccgtgtacgg 240
ggctggaggg gccgcctaga gattgccagc ttcctacctg aggatgctgg ccgctacctc 300
tgcctggcac gaggctccat gatcgtcctg cagaatctca ccttgattac aggtgactcc 360
ttgacctcca gcaacgatga tgaggacccc aagtcccata gggacccctc gaataggcac 420
agttaccccc agcaagcacc ctactggaca cacccccagc gcatggagaa gaaactgcat 480
gcagtacctg cggggaacac cgtcaagttc cgctgtccag ctgcaggcaa ccccacgccc 540
accatccgct ggcttaagga tggacaggcc tttcatgggg agaaccgcat tggaggcatt 600
cggctgcgcc atcagcactg gagtctcgtg atggagagcg tggtgccctc ggaccgcggc 660
acatacacct gcctggtaga gaacgctgtg ggcagcatcc gctataacta cctgctagat 720
gtgctggagc ggtccccgca ccggcccatc ctgcaggccg ggctcccggc caacaccaca 780
gccgtggtgg gcagcgacgt ggagctgctg tgcaaggtgt acagcgatgc ccagccccac 840
atccagtggc tgaagcacat cgtcatcaac ggcagcagct tcggagccga cggtttcccc 900
tatgtgcaag tcctaaagac tgcagacatc aatagctcag aggtggaggt cctgtacctg 960
cggaacgtgt cagccgagga cgcaggcgag tacacctgcc tcgcaggcaa ttccatcggc 1020
ctctcctacc agtctgcctg gctcacggtg ctgccagagg aggaccccac atggaccgca 1080
gcagcgcccg aggccaggta tacggacatc atcctgtacg cgtcgggctc cctggccttg 1140
gctgtgctcc tgctgctggc cgggctgtat cgagggcagg cgctccacgg ccggcacccc 1200
cgcccgcccg ccactgtgca gaagctctcc cgcttccctc tggcccgaca gttctccctg 1260
gagtcaggct cttccggcaa gtcaagctca tccctggtac gaggcgtgcg tctctcctcc 1320
agcggccccg ccttgctcgc cggcctcgtg agtctagatc tacctctcga cccactatgg 1380
gagttccccc gggacaggct ggtgcttggg aagcccctag gcgagggctg ctttggccag 1440
gtagtacgtg cagaggcctt tggcatggac cctgcccggc ctgaccaagc cagcactgtg 1500
gccgtcaaga tgctcaaaga caacgcctct gacaaggacc tggccgacct ggtctcggag 1560
atggaggtga tgaagctgat cggccgacac aagaacatca tcaacctgct tggtgtctgc 1620
acccaggaag ggcccctgta cgtgatcgtg gagtgcgccg ccaagggaaa cctgcgggag 1680
ttcctgcggg cccggcgccc cccaggcccc gacctcagcc ccgacggtcc tcggagcagt 1740
gaggggccgc tctccttccc agtcctggtc tcctgcgcct accaggtggc ccgaggcatg 1800
cagtatctgg agtcccggaa gtgtatccac cgggacctgg ctgcccgcaa tgtgctggtg 1860
actgaggaca atgtgatgaa gattgctgac tttgggctgg cccgcggcgt ccaccacatt 1920
gactactata agaaaaccag caacggccgc ctgcctgtga agtggatggc gcccgaggcc 1980
ttgtttgacc gggtgtacac acaccagagt gacgtgtggt cttttgggat cctgctatgg 2040
gagatcttca ccctcggggg ctccccgtat cctggcatcc cggtggagga gctgttctcg 2100
ctgctgcggg agggacatcg gatggaccga cccccacact gccccccaga gctgtacggg 2160
ctgatgcgtg agtgctggca cgcagcgccc tcccagaggc ctaccttcaa gcagctggtg 2220
gaggcgctgg acaaggtcct gctggccgtc tctgaggagt acctcgacct ccgcctgacc 2280
ttcggaccct attcccccctc tggtggggac gccagcagca cctgctcctc cagcgattct 2340
gtcttcagcc acgacccccct gccattggga tccagctcct tccccttcgg gtctggggtg 2400
cagacatga 2409

<210> 315
<211> 802
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> FGFR4 của người(NP_002002.3)

<400> 315
Met Arg Leu Leu Leu Ala Leu Leu Gly Val Leu Leu Ser Val Pro Gly
1 5 10 15

Pro Pro Val Leu Ser Leu Glu Ala Ser Glu Glu Val Glu Leu Glu Pro
20 25 30

Cys Leu Ala Pro Ser Leu Glu Gln Gln Glu Gln Glu Leu Thr Val Ala
35 40 45

Leu Gly Gln Pro Val Arg Leu Cys Cys Gly Arg Ala Glu Arg Gly Gly
50 55 60

His Trp Tyr Lys Glu Gly Ser Arg Leu Ala Pro Ala Gly Arg Val Arg
65 70 75 80

Gly Trp Arg Gly Arg Leu Glu Ile Ala Ser Phe Leu Pro Glu Asp Ala
85 90 95

Gly Arg Tyr Leu Cys Leu Ala Arg Gly Ser Met Ile Val Leu Gln Asn
100 105 110

Leu Thr Leu Ile Thr Gly Asp Ser Leu Thr Ser Ser Asn Asp Asp Glu
115 120 125

Asp Pro Lys Ser His Arg Asp Pro Ser Asn Arg His Ser Tyr Pro Gln
130 135 140

Gln Ala Pro Tyr Trp Thr His Pro Gln Arg Met Glu Lys Lys Leu His
145 150 155 160

Ala Val Pro Ala Gly Asn Thr Val Lys Phe Arg Cys Pro Ala Ala Gly
165 170 175

Asn Pro Thr Pro Thr Ile Arg Trp Leu Lys Asp Gly Gln Ala Phe His
180 185 190

Gly Glu Asn Arg Ile Gly Gly Ile Arg Leu Arg His Gln His Trp Ser
195 200 205

Leu Val Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Arg Gly Thr Tyr Thr Cys

210 215 220

Leu Val Glu Asn Ala Val Gly Ser Ile Arg Tyr Asn Tyr Leu Leu Asp
225 230 235 240

Val Leu Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly Leu Pro
245 250 255

Ala Asn Thr Thr Ala Val Val Gly Ser Asp Val Glu Leu Leu Cys Lys
260 265 270

Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Leu Lys His Ile Val
275 280 285

Ile Asn Gly Ser Ser Phe Gly Ala Asp Gly Phe Pro Tyr Val Gln Val
290 295 300

Leu Lys Thr Ala Asp Ile Asn Ser Ser Glu Val Glu Val Leu Tyr Leu
305 310 315 320

Arg Asn Val Ser Ala Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala Gly
325 330 335

Asn Ser Ile Gly Leu Ser Tyr Gln Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu Pro
340 345 350

Glu Glu Asp Pro Thr Trp Thr Ala Ala Ala Pro Glu Ala Arg Tyr Thr
355 360 365

Asp Ile Ile Leu Tyr Ala Ser Gly Ser Leu Ala Leu Ala Val Leu Leu
370 375 380

Leu Leu Ala Gly Leu Tyr Arg Gly Gln Ala Leu His Gly Arg His Pro
385 390 395 400

Arg Pro Pro Ala Thr Val Gln Lys Leu Ser Arg Phe Pro Leu Ala Arg
405 410 415

Gln Phe Ser Leu Glu Ser Gly Ser Ser Gly Lys Ser Ser Ser Ser Leu
420 425 430

Val Arg Gly Val Arg Leu Ser Ser Ser Gly Pro Ala Leu Leu Ala Gly
435 440 445

Leu Val Ser Leu Asp Leu Pro Leu Asp Pro Leu Trp Glu Phe Pro Arg
450 455 460

Asp Arg Leu Val Leu Gly Lys Pro Leu Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln
465 470 475 480

Val Val Arg Ala Glu Ala Phe Gly Met Asp Pro Ala Arg Pro Asp Gln
485 490 495

Ala Ser Thr Val Ala Val Lys Met Leu Lys Asp Asn Ala Ser Asp Lys
500 505 510

Asp Leu Ala Asp Leu Val Ser Glu Met Glu Val Met Lys Leu Ile Gly
515 520 525

Arg His Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu Gly Val Cys Thr Gln Glu Gly
530 535 540

Pro Leu Tyr Val Ile Val Glu Cys Ala Ala Lys Gly Asn Leu Arg Glu
545 550 555 560

Phe Leu Arg Ala Arg Arg Pro Pro Gly Pro Asp Leu Ser Pro Asp Gly
565 570 575

Pro Arg Ser Ser Glu Gly Pro Leu Ser Phe Pro Val Leu Val Ser Cys
580 585 590

Ala Tyr Gln Val Ala Arg Gly Met Gln Tyr Leu Glu Ser Arg Lys Cys
595 600 605

Ile His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Thr Glu Asp Asn
610 615 620

Val Met Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg Gly Val His His Ile
625 630 635 640

Asp Tyr Tyr Lys Lys Thr Ser Asn Gly Arg Leu Pro Val Lys Trp Met

645 650 655

Ala Pro Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val Tyr Thr His Gln Ser Asp Val
660 665 670

Trp Ser Phe Gly Ile Leu Leu Trp Glu Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser
675 680 685

Pro Tyr Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu Leu Phe Ser Leu Leu Arg Glu
690 695 700

Gly His Arg Met Asp Arg Pro Pro His Cys Pro Pro Glu Leu Tyr Gly
705 710 715 720

Leu Met Arg Glu Cys Trp His Ala Ala Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe
725 730 735

Lys Gln Leu Val Glu Ala Leu Asp Lys Val Leu Leu Ala Val Ser Glu
740 745 750

Glu Tyr Leu Asp Leu Arg Leu Thr Phe Gly Pro Tyr Ser Pro Ser Gly
755 760 765

Gly Asp Ala Ser Ser Thr Cys Ser Ser Ser Asp Ser Val Phe Ser His
770 775 780

Asp Pro Leu Pro Leu Gly Ser Ser Ser Phe Pro Phe Gly Ser Gly Val
785 790 795 800

Gln Thr

<210> 316
<211> 330
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IgG1 Fc của người có hai sự thay đổi axit amin thành alanin

<400> 316
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

<210> 317
<211> 472
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IgG1 của người 5H23-vH3 được nhân hóa
(E233A)(L235A)

<400> 317
```
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1               5                   10                  15
```

```
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu
            20                  25                  30

Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
        35                  40                  45

Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
    50                  55                  60

Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr
65                  70                  75                  80

Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Ile Thr Arg Asp Thr
                85                  90                  95

Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
            100                 105                 110

Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser
        115                 120                 125

Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
    130                 135                 140

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
145                 150                 155                 160

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
                165                 170                 175

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
            180                 185                 190

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
        195                 200                 205

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
    210                 215                 220
```

```
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
225                 230                 235                 240

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
                245                 250                 255

Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
            260                 265                 270

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
        275                 280                 285

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
    290                 295                 300

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
305                 310                 315                 320

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
                325                 330                 335

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
            340                 345                 350

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
        355                 360                 365

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
    370                 375                 380

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

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
                405                 410                 415

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
            420                 425                 430

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
        435                 440                 445
```

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
450 455 460

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 318
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Vùng ổn định kapa của chuỗi nhẹ của người

<400> 318
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 319
<211> 240
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> vùng ổn định kapa 5H23-vL2 của người của chuỗi nhẹ được nhân hóa

<400> 319
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser
20 25 30

Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser
35 40 45

Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln
50 55 60

Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu
65 70 75 80

Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
85 90 95

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr
100 105 110

Tyr Cys Gln His Ser Arg Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr
115 120 125

Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
130 135 140

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
145 150 155 160

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
165 170 175

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
180 185 190

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
195 200 205

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
210 215 220

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235 240

<210> 320
<211> 120

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> vH7

<400> 320
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1   5   10   15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20   25   30
Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35   40   45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
    50   55   60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
            100   105   110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115   120

<210> 321
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> vH8

<400> 321
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1   5   10   15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20   25   30
Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35   40   45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
    50   55   60
Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Arg Thr Ala Tyr
65   70   75   80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
            100   105   110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115   120

<210> 322
<211> 120

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> vH9

<400> 322
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1   5   10   15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20   25   30
Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35   40   45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
    50   55   60
Lys Gly Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
            100   105   110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115   120

<210> 323
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23v1-3

<400> 323
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1   5   10   15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20   25   30
Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
        35   40   45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
    50   55   60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
            100   105   110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115   120

<210> 324
<211> 120

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23v1-46

<400> 324
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 325
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> vL4

<400> 325
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80
Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 326
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> vL5

<400> 326
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1   5   10   15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20   25   30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
        35   40   45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
    50   55   60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65   70   75   80
Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85   90   95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100   105   110

<210> 327
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v1-39a

<400> 327
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1   5   10   15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20   25   30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
        35   40   45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
    50   55   60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65   70   75   80
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85   90   95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100   105   110

<210> 328
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v1-39b

<400> 328
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1   5   10   15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20   25   30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
        35   40   45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
    50   55   60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65   70   75   80
Ser Val Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85   90   95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100   105   110

<210> 329
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v1-39c

<400> 329
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1   5   10   15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20   25   30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
        35   40   45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
    50   55   60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65   70   75   80
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85   90   95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100   105   110

<210> 330
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v1-39d

<400> 330
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1   5   10   15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser

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

<210> 331
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v1-39e

<400> 331

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

<210> 332
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v1-39f

<400> 332

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20                  25                  30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro
        35                  40                  45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
```

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

<210> 333
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v1-39g

<400> 333

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

<210> 334
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v1-39h

<400> 334

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

```
                85                  90                  95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110


<210> 335
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v1-39i

<400> 335
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20                  25                  30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
        35                  40                  45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
    50                  55                  60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65                  70                  75                  80
Ser Leu Gln Glu Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85                  90                  95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110


<210> 336
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v1-39j

<400> 336
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20                  25                  30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
        35                  40                  45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
    50                  55                  60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65                  70                  75                  80
Ser Val Gln Glu Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85                  90                  95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 337
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v1-39k

<400> 337
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80
Ser Val Gln Glu Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 338
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v1-39l

<400> 338
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80
Ser Val Gln Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 339
<211> 111
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v1-39m

<400> 339
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1   5   10   15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20   25   30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro
        35   40   45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
    50   55   60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65   70   75   80
Ser Val Gln Glu Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85   90   95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100   105   110

<210> 340
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v1-39n

<400> 340
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1   5   10   15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20   25   30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro
        35   40   45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
    50   55   60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65   70   75   80
Ser Val Gln Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85   90   95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100   105   110

<210> 341
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v1-39o

<400> 341
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80
Ser Val Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gln Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 342
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v1-39p

<400> 342
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80
Ser Val Gln Glu Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gln Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 343
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v3-20a

<400> 343
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

<210> 344
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v3-20b

<400> 344

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

<210> 345
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v3-20c

<400> 345

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1               5                  10                  15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20                  25                  30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
        35                  40                  45
```

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

<210> 346
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v3-20d

<400> 346

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

<210> 347
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v3-20e

<400> 347

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

```
Arg Leu Glu Pro Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85                  90                  95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110


<210> 348
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v3-20f

<400> 348
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1               5                  10                  15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20                  25                  30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
        35                  40                  45
Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
    50                  55                  60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65                  70                  75                  80
Arg Val Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85                  90                  95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110


<210> 349
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v3-20g

<400> 349
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1               5                  10                  15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20                  25                  30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
        35                  40                  45
Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
    50                  55                  60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65                  70                  75                  80
Arg Val Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85                  90                  95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
```

<210> 350
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v3-20h

<400> 350
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1   5   10   15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20   25   30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
        35   40   45
Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
    50   55   60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65   70   75   80
Arg Leu Glu Glu Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85   90   95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100   105   110

<210> 351
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v3-20i

<400> 351
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1   5   10   15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20   25   30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
        35   40   45
Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
    50   55   60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65   70   75   80
Arg Val Glu Glu Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85   90   95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100   105   110

<210> 352
<211> 111

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> v3-20j

<400> 352
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1   5   10   15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20   25   30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
        35   40   45
Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
    50   55   60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65   70   75   80
Arg Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85   90   95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100   105   110

<210> 353
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hz5H23v1-39

<400> 353
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1   5   10   15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20   25   30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
        35   40   45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
    50   55   60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65   70   75   80
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85   90   95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100   105   110

<210> 354
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> hz5H23v3-20

<400> 354
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1   5   10   15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20   25   30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
        35   40   45
Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
    50   55   60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65   70   75   80
Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85   90   95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100   105   110

<210> 355
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hz5H23v4-1

<400> 355
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1   5   10   15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20   25   30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
        35   40   45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
    50   55   60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65   70   75   80
Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85   90   95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100   105   110

<210> 356
<211> 1043
<212> PRT
<213> Rattus

<220>
<223> Beta klotho của chuột cống

<400> 356
Met Lys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Ser Pro Gly Asn Glu Trp Val Phe

```
 1               5                  10                  15
Phe Ser Ser Asp Glu Arg Ser Thr Arg Ser Arg Lys Thr Met Ser Asn
            20                  25                  30
Gly Ala Leu Gln Arg Ser Ala Val Leu Ser Ala Leu Val Leu Leu Arg
        35                  40                  45
Ala Val Thr Gly Phe Ser Gly Asp Gly Lys Ala Ile Trp Asp Lys Lys
    50                  55                  60
Gln Tyr Val Ser Pro Val Asn Pro Gly Gln Leu Phe Leu Tyr Asp Thr
65                  70                  75                  80
Phe Pro Lys Asn Phe Ser Trp Gly Val Gly Thr Gly Ala Phe Gln Val
                85                  90                  95
Glu Gly Ser Trp Lys Ala Asp Gly Arg Gly Pro Ser Ile Trp Asp Arg
            100                 105                 110
Tyr Val Asp Ser His Leu Arg Gly Val Asn Ser Thr Asp Arg Ser Thr
        115                 120                 125
Asp Ser Tyr Val Phe Leu Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Phe Leu
    130                 135                 140
Gly Val Ser Phe Tyr Gln Phe Ser Ile Ser Trp Pro Arg Leu Phe Pro
145                 150                 155                 160
Asn Gly Thr Val Ala Ala Val Asn Ala Lys Gly Leu Gln Tyr Tyr Arg
                165                 170                 175
Ala Leu Leu Asp Ser Leu Val Leu Arg Asn Ile Glu Pro Ile Val Thr
            180                 185                 190
Leu Tyr His Trp Asp Leu Pro Leu Thr Leu Gln Glu Glu Tyr Gly Gly
        195                 200                 205
Trp Lys Asn Ala Thr Met Ile Asp Leu Phe Asn Asp Tyr Ala Thr Tyr
    210                 215                 220
Cys Phe Gln Thr Phe Gly Asp Arg Val Lys Tyr Trp Ile Thr Ile His
225                 230                 235                 240
Asn Pro Tyr Leu Val Ala Trp His Gly Phe Gly Thr Gly Met His Ala
                245                 250                 255
Pro Gly Glu Lys Gly Asn Leu Thr Ala Val Tyr Thr Val Gly His Asn
            260                 265                 270
Leu Ile Lys Ala His Ser Lys Val Trp His Asn Tyr Asp Lys Asn Phe
        275                 280                 285
Arg Pro His Gln Lys Gly Trp Leu Ser Ile Thr Leu Gly Ser His Trp
    290                 295                 300
Ile Glu Pro Asn Arg Thr Glu Asn Met Glu Asp Val Ile Asn Cys Gln
305                 310                 315                 320
His Ser Met Ser Ser Val Leu Gly Trp Phe Ala Asn Pro Ile His Gly
                325                 330                 335
Asp Gly Asp Tyr Pro Glu Phe Met Lys Thr Ser Ser Val Ile Pro Glu
            340                 345                 350
Phe Ser Glu Ala Glu Lys Glu Glu Val Arg Gly Thr Ala Asp Phe Phe
        355                 360                 365
Ala Phe Ser Phe Gly Pro Asn Asn Phe Arg Pro Ser Asn Thr Val Val
    370                 375                 380
Lys Met Gly Gln Asn Val Ser Leu Asn Leu Arg Gln Val Leu Asn Trp
385                 390                 395                 400
Ile Lys Leu Glu Tyr Asp Asn Pro Arg Ile Leu Ile Ser Glu Asn Gly
                405                 410                 415
Trp Phe Thr Asp Ser Tyr Ile Lys Thr Glu Asp Thr Thr Ala Ile Tyr
            420                 425                 430
Met Met Lys Asn Phe Leu Asn Gln Val Leu Gln Ala Ile Lys Phe Asp
```

```
        435                 440                 445
Glu Ile Gln Val Phe Gly Tyr Thr Ala Trp Thr Leu Leu Asp Gly Phe
    450                 455                 460
Glu Trp Gln Asp Ala Tyr Thr Thr Arg Arg Gly Leu Phe Tyr Val Asp
465                 470                 475                 480
Phe Asn Ser Glu Gln Lys Glu Arg Lys Pro Lys Ser Ser Ala His Tyr
                485                 490                 495
Tyr Lys Gln Ile Ile Gln Asp Asn Gly Phe Pro Leu Gln Glu Ser Thr
            500                 505                 510
Pro Asp Met Lys Gly Gln Phe Pro Cys Asp Phe Ser Trp Gly Val Thr
        515                 520                 525
Glu Ser Val Leu Lys Pro Glu Phe Thr Val Ser Ser Pro Gln Phe Thr
    530                 535                 540
Asp Pro His Leu Tyr Val Trp Asn Val Thr Gly Asn Arg Leu Leu Tyr
545                 550                 555                 560
Arg Val Glu Gly Val Arg Leu Lys Thr Arg Pro Ser Gln Cys Thr Asp
                565                 570                 575
Tyr Val Ser Ile Lys Lys Arg Val Glu Met Leu Ala Lys Met Lys Val
            580                 585                 590
Thr His Tyr Gln Phe Ala Leu Asp Trp Thr Ser Ile Leu Pro Thr Gly
        595                 600                 605
Asn Leu Ser Lys Ile Asn Arg Gln Val Leu Arg Tyr Tyr Arg Cys Val
    610                 615                 620
Val Ser Glu Gly Leu Lys Leu Gly Ile Ser Pro Met Val Thr Leu Tyr
625                 630                 635                 640
His Pro Thr His Ser His Leu Gly Leu Pro Met Pro Leu Leu Ser Ser
                645                 650                 655
Gly Gly Trp Leu Asn Thr Asn Thr Ala Lys Ala Phe Gln Asp Tyr Ala
            660                 665                 670
Gly Leu Cys Phe Lys Glu Leu Gly Asp Leu Val Lys Leu Trp Ile Thr
        675                 680                 685
Ile Asn Glu Pro Asn Arg Leu Ser Asp Met Tyr Asn Arg Thr Ser Asn
    690                 695                 700
Asp Thr Tyr Arg Ala Ala His Asn Leu Met Ile Ala His Ala Gln Val
705                 710                 715                 720
Trp His Leu Tyr Asp Arg Gln Tyr Arg Pro Val Gln His Gly Ala Val
                725                 730                 735
Ser Leu Ser Leu His Ser Asp Trp Ala Glu Pro Ala Asn Pro Tyr Val
            740                 745                 750
Glu Ser His Trp Lys Ala Ala Glu Arg Phe Leu Gln Phe Glu Ile Ala
        755                 760                 765
Trp Phe Ala Asp Pro Leu Phe Lys Thr Gly Asp Tyr Pro Leu Ala Met
    770                 775                 780
Lys Glu Tyr Ile Ala Ser Lys Lys Gln Arg Gly Leu Ser Ser Ser Val
785                 790                 795                 800
Leu Pro Arg Phe Thr Leu Lys Glu Ser Arg Leu Val Lys Gly Thr Ile
                805                 810                 815
Asp Phe Tyr Ala Leu Asn His Phe Thr Thr Arg Phe Val Ile His Lys
            820                 825                 830
Gln Leu Asn Thr Asn Cys Ser Val Ala Asp Arg Asp Val Gln Phe Leu
        835                 840                 845
Gln Asp Ile Thr Arg Leu Ser Ser Pro Ser Arg Leu Ala Val Thr Pro
    850                 855                 860
Trp Gly Met Arg Lys Leu Leu Gly Trp Ile Arg Arg Asn Tyr Arg Asp
```

```
865                 870                 875                 880
Met Asp Ile Tyr Val Thr Ala Asn Gly Ile Asp Asp Leu Ala Leu Glu
                885                 890                 895
Asp Asp Gln Ile Arg Lys Tyr Tyr Leu Glu Lys Tyr Val Gln Glu Ala
            900                 905                 910
Leu Lys Ala Tyr Leu Ile Asp Lys Val Lys Ile Lys Gly Tyr Tyr Ala
        915                 920                 925
Phe Lys Leu Thr Glu Glu Lys Ser Lys Pro Arg Phe Gly Phe Phe Thr
    930                 935                 940
Ser Asp Phe Lys Ala Lys Ser Ser Val Gln Phe Tyr Ser Lys Leu Ile
945                 950                 955                 960
Ser Ser Ser Gly Phe Ser Ser Glu Asn Arg Ser Pro Ala Cys Gly Gln
                965                 970                 975
Pro Pro Glu Asp Thr Glu Cys Ala Ile Cys Ser Phe Leu Thr Gln Lys
            980                 985                 990
Lys Pro Leu Ile Phe Phe Gly Cys Cys Phe Ile Ser Thr Leu Ala Ala
        995                 1000                1005
Leu Leu Ser Ile Thr Ile Phe His His Arg Lys Arg Arg Lys Phe Gln
    1010                1015                1020
Lys Ala Arg Asn Leu Gln Asn Ile Pro Leu Lys Lys Gly His Ser Arg
1025                1030                1035                1040
Val Phe Ser
```

<210> 357
<211> 3132
<212> ADN
<213> Rattus

<220>
<223> Beta klotho của chuột cống

<400> 357

```
atgaagacag gctgtgcagc agggtctcca gggaatgaat gggttttctt cagctctgat 60
gaaagaagca cacgctctag gaaaacaatg tccaacggag cactgcaaag atctgccgtg 120
ctgtctgcat tggttctgct gcgagctgtt accggcttct ctggagacgg aaaagcaata 180
tgggataaaa aacaatacgt gagtccggta aacccaggtc agctgttcct ctatgacact 240
ttccctaaaa acttttcctg gggcgttggg accggagcat ttcaagtgga agggagttgg 300
aaggcagatg gaagaggacc ctcgatctgg gaccgttatg tcgactcaca cctgagaggt 360
gtcaacagca cagacagatc cactgacagt tatgtctttc tggaaaagga cttgctggct 420
ctggattttt taggagtttc tttttatcag ttctcaatct cctggccgcg gttgttcccc 480
aacggaacag tagcagctgt gaatgcaaaa ggtctccagt actacagagc acttctggac 540
tcgctggtac ttaggaatat cgaacccatt gttaccttat accattggga tttgcctttg 600
acgctacagg aagaatatgg gggctggaaa aatgcaacta tgatagatct cttcaatgac 660
tatgccacat actgcttcca gacctttgga gaccgtgtca aatattggat tacaattcac 720
aacccttacc tcgttgcttg gcatgggttt ggcacaggta tgcatgcgcc aggagagaag 780
ggaaatttaa cagctgtcta cactgtggga cacaacctga tcaaggcgca ttcgaaagtg 840
tggcataact acgacaaaaa cttccgccct catcagaagg gttggctctc catcaccttg 900
gggtcccatt ggatagaacc aaacagaaca gaaaacatgg aggacgtgat caactgccag 960
cactccatgt cttctgtgct cggatggttt gccaacccca tccacggaga cggcgactac 1020
cccgagttca tgaagacgag ctccgtaatc cctgagttct ctgaggcaga gaaggaggag 1080
gtgcggggca ctgctgactt ctttgccttt tccttcgggc ccaacaattt caggccctcg 1140
aacaccgtgg taaaaatggg acaaaatgta tcactcaact taagacaggt gctgaactgg 1200
```

attaaactag aatatgacaa ccctcgaatc ttgatttcgg agaacggctg gttcacagat 1260
agttatataa agacggaaga taccacggcc atctacatga tgaagaattt cctcaaccag 1320
gttcttcaag caataaagtt tgatgaaata caagtgtttg gttatacggc ttggactctc 1380
ctggatggct ttgagtggca ggatgcctac acgacccgac gagggctgtt ttatgtggac 1440
tttaatagtg agcagaaaga gaggaaaccc aagtcctccg ctcattacta caaacagatt 1500
atacaagaca acggtttccc tttgcaagaa tccacaccag acatgaaggg tcagtttccc 1560
tgtgacttct cctggggagt cactgagtct gttcttaagc cggagtttac ggtgtcctcc 1620
ccacagttta ctgatcctca cctgtatgtg tggaatgtca ctggcaacag attgctatac 1680
cgagtggaag gagtcaggct aaaaacaaga ccgtcccaat gcacagatta tgtgagcatc 1740
aaaaaacgag ttgaaatgtt ggccaaaatg aaagtcaccc actaccagtt tgctctggac 1800
tggacctcta tcctccctac cggaaatctg tctaaaatta atagacaagt gttgaggtac 1860
tataggtgtg tggtgagcga aggactgaag ctgggcatct cccctatggt gacgttgtac 1920
cacccgaccc actcccatct aggcctcccc atgccacttc tgagcagtgg gggatggcta 1980
aacaccaaca cagccaaggc cttccaggac tacgcaggcc tgtgcttcaa ggagctgggg 2040
gacttggtaa agctctggat caccatcaat gaacccaata ggctgagtga catgtacaac 2100
cgcacgagta acgacaccta ccgtgcggcc cacaacctga tgatcgccca tgcccaggtc 2160
tggcacctct atgataggca gtataggccg gtccagcacg gggctgtgtc gctgtcctta 2220
cattccgact gggcagaacc tgccaacccc tatgtggagt ctcactggaa ggcagccgag 2280
cgcttcctcc agtttgagat cgcctggttt gcggatccac tcttcaagac tggtgactac 2340
ccgctggcca tgaaggaata catcgcctcc aagaagcagc gagggctgtc tagctcagtc 2400
ctgccgcgct ttaccttgaa ggagagcagg ctggtgaagg ggaccatcga cttttacgca 2460
ctgaaccact tcactactag attcgtgata cacaagcagt tgaataccaa ctgctcagtg 2520
gcagacaggg acgtccagtt cctgcaggac atcacccgcc tgagctcgcc cagtcgccta 2580
gccgtaacgc cctggggaat gcgcaagctc cttgggtgga tccggaggaa ctacagagac 2640
atggatatct acgtcacagc caatggcatt gatgatcttg ctctagagga cgatcagatt 2700
agaaagtact acttggagaa gtacgtccag gaggctctga aagcatatct gattgacaag 2760
gtcaaaatca aaggctacta tgcattcaaa ctgactgaag agaaatctaa gcctagattt 2820
ggatttttca catctgactt caaagctaaa tcttctgtac agttttatag caagctgatc 2880
agcagcagcg gcttctcctc tgagaacaga agtcctgcct gtggtcagcc tccagaagac 2940
acagaatgcg ccatttgctc cttccttaca cagaagaaac cactcatctt ctttggttgt 3000
tgcttcatct ccactctggc tgcactgcta tcaatcacta tttttcatca tcggaagaga 3060
agaaaattcc agaaagcaag gaacttacaa aatataccat tgaagaaagg gcacagcaga 3120
gtttttagct aa 3132

<210> 358
<211> 472
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng SEQ ID NO: 32 trong tài liệu công bố của Mỹ US20110135657

<400> 358
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1   5   10   15
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val
            20   25   30
Leu Val Lys Pro Thr Glu Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly
        35   40   45
Phe Ser Leu Asn Asn Ala Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro
    50   55   60
Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu
65   70   75   80

```
Lys Ser Tyr Ser Thr Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp
                85                  90                  95
Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Ile Met Thr Asn Met Asp Pro Val
            100                 105                 110
Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Val Val Thr Gly Gly Tyr
        115                 120                 125
Tyr Tyr Asp Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val
    130                 135                 140
Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys
145                 150                 155                 160
Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
                165                 170                 175
Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
            180                 185                 190
Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
        195                 200                 205
Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr
    210                 215                 220
Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
225                 230                 235                 240
Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro
                245                 250                 255
Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
            260                 265                 270
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
        275                 280                 285
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
    290                 295                 300
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
305                 310                 315                 320
Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln
                325                 330                 335
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
            340                 345                 350
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro
        355                 360                 365
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
    370                 375                 380
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
385                 390                 395                 400
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
                405                 410                 415
Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
            420                 425                 430
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
        435                 440                 445
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
    450                 455                 460
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465                 470
```

<210> 359
<211> 1419

<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa của chuỗi nặng SEQ ID NO: 32 trong tài liệu công bố của Mỹ US20110135657

<400> 359
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctggct ccgaggtgcc 60
agatgtcagg tgacgctgaa agagtccgga ccggtcctgg tgaaaccaac tgaaacccta 120
actctcacgt gcactgtcag cggcttctct ctcaacaacg caagaatggg tgtgtcttgg 180
atcagacagc caccaggtaa agcgcttgag tggctggcac acatcttctc caacgatgag 240
aagagctact ctaccagcct caagtctcgt ctgaccatca gtaaagatac gtccaagtcc 300
caagtagtcc tcatcatgac taacatggac cccgtggata ccgcgaccta ctactgtgcg 360
aggagcgtcg tgaccggtgg ctactactac gacggcatgg atgtgtgggg tcagggtacg 420
acggtgaccg tcagcagcgc gagcaccaag ggtccgtccg tgtttccgct cgccccttgt 480
agccggagca cctcagagtc tactgccgca ctaggctgcc tggtgaagga ctacttccct 540
gaacccgtga cagtgagctg gaactccgga gcactgacta gcggcgtgca caccttcccc 600
gctgtcttgc agtctagcgg cctgtattcg ctctccagcg tggtcactgt accgtccagc 660
aatttcggaa cccagaccta cacatgtaac gtcgatcata aaccgtccaa cactaaggta 720
gacaaaaccg tggaaaggaa atgctgcgtg gagtgtcccc cctgcccagc tccgccagtg 780
gcaggcccca gcgtgttcct gttcccccca aagccaaaag acaccctgat gatctcgaga 840
acccccgagg tgacttgcgt cgtcgtcgat gtctcccatg aggatccaga agtacagttc 900
aactggtacg tggacggcgt ggaagtgcac aatgcaaaaa cgaagccccg agaagagcag 960
ttcaactcca cattccgggt ggtatcagtc ctgactgtgg tccaccagga ttggctgaac 1020
gggaaggaat acaaatgtaa agtgagcaat aagggtctgc ccgcaccgat cgagaaaact 1080
atctcaaaaa ctaagggtca gcctcgcgag cctcaagtgt atacgctgcc gccaagtagg 1140
gaggagatga ccaaaaacca ggtgtcactg acatgtctgg tgaaaggctt ctaccccagc 1200
gacatcgccg tggagtggga gtcaaatggc cagccggaga acaactacaa gaccacaccg 1260
ccgatgctgg actcagacgg gtccttttttc ctctattcca agctcaccgt cgacaaaagc 1320
cgttggcagc agggaaacgt attctcatgc tctgtgatgc acgaggccct tcacaaccat 1380
tacactcaga aatcgttgtc cctttctccc ggaaaatga 1419

<210> 360
<211> 236
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ SEQ ID No: 14 trong tài liệu công bố của Mỹ US20110135657

<400> 360
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1   5   10   15
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val
            20   25   30
Ser Val Ala Pro Gly Gln Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn
        35   40   45
Ile Gly Ser Glu Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
    50   55   60
Pro Val Leu Val Val Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro
65   70   75   80
Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile
                85   90   95

```
Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp
            100                 105                 110
Asp Gly Asn Ser Asp His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
        115                 120                 125
Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro
    130                 135                 140
Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile
145                 150                 155                 160
Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly
                165                 170                 175
Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser
            180                 185                 190
Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln
        195                 200                 205
Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser
    210                 215                 220
Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
225                 230                 235
```

<210> 361
<211> 711
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa cho chuỗi nhẹ SEQ ID No: 14 trong tài liệu công bố của Mỹ US20110135657

<400> 361
```
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctggct ccgaggtgcc 60
agatgttcat acgtgctgac tcagccccca tccgtgtctg tggcacccgg acaaactgcc 120
aggatcactt gcggagggaa taacatcggt agcgagagcg tccactggta ccagcaaaaa 180
ccaggccagg caccggtcct cgtggtatac gacgattctg accgaccgtc cggcatccca 240
gaaagattct cgggtagcaa ctctggcaac acggctaccc tgaccatcag ccgtgtcgag 300
gccggtgacg aggcggatta ctactgccag gtgtgggacg ggaactccga tcatgtggtg 360
ttcggcggag gcactaagct gaccgtattg ggtcagccca aagcaaatcc caccgtgacg 420
ctctttcccc ctagctccga ggagctgcag gcgaacaagg caactcttgt ctgtctcatc 480
tcggacttct atccgggagc ggtgaccgtc gcatggaaag cagatggttc tccggtcaaa 540
gcaggcgtgg aaacgaccaa gccttccaaa cagagtaaca acaagtatgc tgccagctcc 600
tacctaagcc tgacaccgga gcagtggaag agccaccggt catacagctg ccaggtaact 660
catgaaggct caacagtgga gaaaaccgtg gcgccaaccg agtgttcctg a          711
```

<210> 362
<211> 98
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IGHV1-3

<400> 362
```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
```

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

<210> 363
<211> 98
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IGHV1-18

```
<400> 363
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45
Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
    50                  55                  60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg
```

<210> 364
<211> 98
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IGHV1-46

```
<400> 364
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45
```

```
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val 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
```

<210> 365
<211> 98
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IGHV1-69

<400> 365

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

<210> 366
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> U00583

<400> 366

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

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

<210> 367
<211> 101
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IGKV4-1

<400> 367

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

<210> 368
<211> 95
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IGKV1-39

<400> 368

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

<210> 369
<211> 90
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> IGKV3-20

<400> 369
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1   5   10   15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
            20   25   30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
        35   40   45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser
    50   55   60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65   70   75   80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln
                85   90

<210> 370
<211> 450
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hIgK-5H23(VH)-hIgG1(E233A)(L235A) (5H23 khảm)

<400> 370
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1   5   10   15
Leu Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
            20   25   30
Asp Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35   40   45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
    50   55   60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Arg Thr Ala Tyr
65   70   75   80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asn Ser Ala Val Tyr Phe Cys
                85   90   95
Ala Arg Ser Asp Tyr Tyr Gly Ser Arg Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
            100   105   110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115   120   125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130   135   140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145   150   155   160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

```
                165                 170                 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly
225                 230                 235                 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met 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> 371
<211> 1419
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa của hIgK-5H23(VH)-hIgG1(E233A)(L235A)
(5H23 khảm)

<400> 371
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctggct ccgaggtgcc 60
agatgtcaag tgcaacttca acagtcaggc ccagaactcg tcaaacccgg agcactcgtg 120
aagatctcgt gcaaggcgtc gggttacact ttcacgtcct acgacatcaa ttgggtgaag 180
cagaggcctg gacagggcct ggagtggatt ggatggatct acccggggga tgggtctacc 240
aagtacaacg aaaagttcaa aggcaaagcc actctgaccg cagacaagag cagcagaacc 300

```
gcgtacatgc agttgtcatc cctgaccagc gagaactcgg ccgtctactt ttgtgctcgc 360
tccgattact atggatcccg gagcttcgcc tactggggac agggaactct ggtgactgtg 420
tcatcggcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg caccctcctc caagagcacc 480
tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 540
gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 600
tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 660
cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt 720
gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgcactcgcg 780
gggggaccgt cagtcttcct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 840
acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 900
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 960
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1020
ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1080
atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1140
gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1200
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1260
cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1320
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1380
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaatga                          1419

<210> 372
<211> 218
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hIgK-5H23(VL)-hIgK (5H23 khảm)

<400> 372
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1               5                  10                  15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
            20                  25                  30
Gly Tyr Val Tyr Met His Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
        35                  40                  45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
    50                  55                  60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65                  70                  75                  80
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85                  90                  95
Asp Leu Thr Phe Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
            100                 105                 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
        115                 120                 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
    130                 135                 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145                 150                 155                 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
                165                 170                 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
            180                 185                 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
```

```
        195                 200                 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215
```

<210> 373
<211> 723
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa của hIgK-5H23(VL)-hIgK (5H23 khảm)

<400> 373
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg gggctcctgc tactctggct ccgaggtgcc 60
agatgtgaca tcgtcctgac tcagagcccc gcatccctcg ccgtgtcact tggtcaaaga 120
gctaccattt cctgccgcgc atcgaagtct gtgagcactt ccggctacgt ctacatgcac 180
tggaaccagc agaagccagg acaaccgccg aagctgctga tctatctcgc gtcatacctg 240
gaatcgggag tgccggcgag gttttcggga tcgggctccg gaaccgactt caccctgaat 300
atccatccag tggaagagga ggatgccgcc atctactact gtcagcacag ccgggatctc 360
actttccctt tcggcggagg gacgaaattg gaaatcaaac gtacggtggc tgcaccatct 420
gtcttcatct tcccgccatc tgatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc 480
ctgctgaata acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaaggtgga taacgccctc 540
caatcgggta actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc 600
ctcagcagca ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc 660
gaagtcaccc atcagggcct gagctcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt 720
tag   723

<210> 374
<211> 1045
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> KLB của người(M1-F508)- KLB của chuột nhắt(P507-S1043)

<400> 374

```
Met Lys Pro Gly Cys Ala Ala Gly Ser Pro Gly Asn Glu Trp Ile Phe
 1               5                  10                  15
Phe Ser Thr Asp Glu Ile Thr Thr Arg Tyr Arg Asn Thr Met Ser Asn
            20                  25                  30
Gly Gly Leu Gln Arg Ser Val Ile Leu Ser Ala Leu Ile Leu Leu Arg
        35                  40                  45
Ala Val Thr Gly Phe Ser Gly Asp Gly Arg Ala Ile Trp Ser Lys Asn
    50                  55                  60
Pro Asn Phe Thr Pro Val Asn Glu Ser Gln Leu Phe Leu Tyr Asp Thr
65                  70                  75                  80
Phe Pro Lys Asn Phe Phe Trp Gly Ile Gly Thr Gly Ala Leu Gln Val
                85                  90                  95
Glu Gly Ser Trp Lys Lys Asp Gly Lys Gly Pro Ser Ile Trp Asp His
            100                 105                 110
Phe Ile His Thr His Leu Lys Asn Val Ser Ser Thr Asn Gly Ser Ser
        115                 120                 125
Asp Ser Tyr Ile Phe Leu Glu Lys Asp Leu Ser Ala Leu Asp Phe Ile
```

```
    130                 135                 140
Gly Val Ser Phe Tyr Gln Phe Ser Ile Ser Trp Pro Arg Leu Phe Pro
145                 150                 155                 160
Asp Gly Ile Val Thr Val Ala Asn Ala Lys Gly Leu Gln Tyr Tyr Ser
                165                 170                 175
Thr Leu Leu Asp Ala Leu Val Leu Arg Asn Ile Glu Pro Ile Val Thr
            180                 185                 190
Leu Tyr His Trp Asp Leu Pro Leu Ala Leu Gln Glu Lys Tyr Gly Gly
        195                 200                 205
Trp Lys Asn Asp Thr Ile Ile Asp Ile Phe Asn Asp Tyr Ala Thr Tyr
    210                 215                 220
Cys Phe Gln Met Phe Gly Asp Arg Val Lys Tyr Trp Ile Thr Ile His
225                 230                 235                 240
Asn Pro Tyr Leu Val Ala Trp His Gly Tyr Gly Thr Gly Met His Ala
                245                 250                 255
Pro Gly Glu Lys Gly Asn Leu Ala Ala Val Tyr Thr Val Gly His Asn
            260                 265                 270
Leu Ile Lys Ala His Ser Lys Val Trp His Asn Tyr Asn Thr His Phe
        275                 280                 285
Arg Pro His Gln Lys Gly Trp Leu Ser Ile Thr Leu Gly Ser His Trp
    290                 295                 300
Ile Glu Pro Asn Arg Ser Glu Asn Thr Met Asp Ile Phe Lys Cys Gln
305                 310                 315                 320
Gln Ser Met Val Ser Val Leu Gly Trp Phe Ala Asn Pro Ile His Gly
                325                 330                 335
Asp Gly Asp Tyr Pro Glu Gly Met Arg Lys Lys Leu Phe Ser Val Leu
            340                 345                 350
Pro Ile Phe Ser Glu Ala Glu Lys His Glu Met Arg Gly Thr Ala Asp
        355                 360                 365
Phe Phe Ala Phe Ser Phe Gly Pro Asn Asn Phe Lys Pro Leu Asn Thr
    370                 375                 380
Met Ala Lys Met Gly Gln Asn Val Ser Leu Asn Leu Arg Glu Ala Leu
385                 390                 395                 400
Asn Trp Ile Lys Leu Glu Tyr Asn Asn Pro Arg Ile Leu Ile Ala Glu
                405                 410                 415
Asn Gly Trp Phe Thr Asp Ser Arg Val Lys Thr Glu Asp Thr Thr Ala
            420                 425                 430
Ile Tyr Met Met Lys Asn Phe Leu Ser Gln Val Leu Gln Ala Ile Arg
        435                 440                 445
Leu Asp Glu Ile Arg Val Phe Gly Tyr Thr Ala Trp Ser Leu Leu Asp
    450                 455                 460
Gly Phe Glu Trp Gln Asp Ala Tyr Thr Ile Arg Arg Gly Leu Phe Tyr
465                 470                 475                 480
Val Asp Phe Asn Ser Lys Gln Lys Glu Arg Lys Pro Lys Ser Ser Ala
                485                 490                 495
His Tyr Tyr Lys Gln Ile Ile Arg Glu Asn Gly Phe Pro Leu Lys Glu
            500                 505                 510
Ser Thr Pro Asp Met Lys Gly Arg Phe Pro Cys Asp Phe Ser Trp Gly
        515                 520                 525
Val Thr Glu Ser Val Leu Lys Pro Glu Phe Thr Val Ser Ser Pro Gln
    530                 535                 540
Phe Thr Asp Pro His Leu Tyr Val Trp Asn Val Thr Gly Asn Arg Leu
545                 550                 555                 560
Leu Tyr Arg Val Glu Gly Val Arg Leu Lys Thr Arg Pro Ser Gln Cys
```

```
                565                 570                 575
Thr Asp Tyr Val Ser Ile Lys Lys Arg Val Glu Met Leu Ala Lys Met
            580                 585                 590
Lys Val Thr His Tyr Gln Phe Ala Leu Asp Trp Thr Ser Ile Leu Pro
        595                 600                 605
Thr Gly Asn Leu Ser Lys Val Asn Arg Gln Val Leu Arg Tyr Tyr Arg
    610                 615                 620
Cys Val Val Ser Glu Gly Leu Lys Leu Gly Val Phe Pro Met Val Thr
625                 630                 635                 640
Leu Tyr His Pro Thr His Ser His Leu Gly Leu Pro Leu Pro Leu Leu
                645                 650                 655
Ser Ser Gly Gly Trp Leu Asn Met Asn Thr Ala Lys Ala Phe Gln Asp
            660                 665                 670
Tyr Ala Glu Leu Cys Phe Arg Glu Leu Gly Asp Leu Val Lys Leu Trp
        675                 680                 685
Ile Thr Ile Asn Glu Pro Asn Arg Leu Ser Asp Met Tyr Asn Arg Thr
    690                 695                 700
Ser Asn Asp Thr Tyr Arg Ala Ala His Asn Leu Met Ile Ala His Ala
705                 710                 715                 720
Gln Val Trp His Leu Tyr Asp Arg Gln Tyr Arg Pro Val Gln His Gly
                725                 730                 735
Ala Val Ser Leu Ser Leu His Cys Asp Trp Ala Glu Pro Ala Asn Pro
            740                 745                 750
Phe Val Asp Ser His Trp Lys Ala Ala Glu Arg Phe Leu Gln Phe Glu
        755                 760                 765
Ile Ala Trp Phe Ala Asp Pro Leu Phe Lys Thr Gly Asp Tyr Pro Ser
    770                 775                 780
Val Met Lys Glu Tyr Ile Ala Ser Lys Asn Gln Arg Gly Leu Ser Ser
785                 790                 795                 800
Ser Val Leu Pro Arg Phe Thr Ala Lys Glu Ser Arg Leu Val Lys Gly
                805                 810                 815
Thr Val Asp Phe Tyr Ala Leu Asn His Phe Thr Thr Arg Phe Val Ile
            820                 825                 830
His Lys Gln Leu Asn Thr Asn Arg Ser Val Ala Asp Arg Asp Val Gln
        835                 840                 845
Phe Leu Gln Asp Ile Thr Arg Leu Ser Ser Pro Ser Arg Leu Ala Val
    850                 855                 860
Thr Pro Trp Gly Val Arg Lys Leu Leu Ala Trp Ile Arg Arg Asn Tyr
865                 870                 875                 880
Arg Asp Arg Asp Ile Tyr Ile Thr Ala Asn Gly Ile Asp Asp Leu Ala
                885                 890                 895
Leu Glu Asp Asp Gln Ile Arg Lys Tyr Tyr Leu Glu Lys Tyr Val Gln
            900                 905                 910
Glu Ala Leu Lys Ala Tyr Leu Ile Asp Lys Val Lys Ile Lys Gly Tyr
        915                 920                 925
Tyr Ala Phe Lys Leu Thr Glu Glu Lys Ser Lys Pro Arg Phe Gly Phe
    930                 935                 940
Phe Thr Ser Asp Phe Arg Ala Lys Ser Ser Val Gln Phe Tyr Ser Lys
945                 950                 955                 960
Leu Ile Ser Ser Ser Gly Leu Pro Ala Glu Asn Arg Ser Pro Ala Cys
                965                 970                 975
Gly Gln Pro Ala Glu Asp Thr Asp Cys Thr Ile Cys Ser Phe Leu Val
            980                 985                 990
Glu Lys Lys Pro Leu Ile Phe Phe Gly Cys Cys Phe Ile Ser Thr Leu
```

```
        995                 1000                1005
Ala Val Leu Leu Ser Ile Thr Val Phe His His Gln Lys Arg Arg Lys
    1010                1015                1020
Phe Gln Lys Ala Arg Asn Leu Gln Asn Ile Pro Leu Lys Lys Gly His
1025                1030                1035                1040
Ser Arg Val Phe Ser
                1045
```

<210> 375
<211> 3138
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa của KLB của người(M1-F508)- KLB của chuột nhắt(P507-S1043)

<400> 375

```
atgaagccag gctgtgcggc aggatctcca gggaatgaat ggattttctt cagcactgat 60
gaaataacca cacgctatag gaatacaatg tccaacgggg gattgcaaag atctgtcatc 120
ctgtcagcac ttattctgct acgagctgtt actggattct ctggagatgg aagagctata 180
tggtctaaaa atcctaattt tactccggta aatgaaagtc agctgtttct ctatgacact 240
ttccctaaaa acttttctg gggtattggg actggagcat tgcaagtgga agggagttgg 300
aagaaggatg gaaaaggacc ttctatatgg gatcatttca tccacacaca ccttaaaaat 360
gtcagcagca cgaatggttc cagtgacagt tatatttttc tggaaaaaga cttatcagcc 420
ctggatttta taggagtttc tttttatcaa ttttcaattt cctggccaag gcttttcccc 480
gatggaatag taacagttgc caacgcaaaa ggtctgcagt actacagtac tcttctggac 540
gctctagtgc ttagaaacat tgaacctata gttactttat accactggga tttgcctttg 600
gcactacaag aaaaatatgg ggggtggaaa aatgatacca taatagatat cttcaatgac 660
tatgccacat actgtttcca gatgtttggg gaccgtgtca aatattggat tacaattcac 720
aacccatatc tagtggcttg gcatgggtat gggacaggta tgcatgcccc tggagagaag 780
ggaaatttag cagctgtcta cactgtggga cacaacttga tcaaggctca ctcgaaagtt 840
tggcataact acaacacaca tttccgccca catcagaagg gttggttatc gatcacgttg 900
ggatctcatt ggatcgagcc aaaccggtcg gaaaacacga tggatatatt caaatgtcaa 960
caatccatgg tttctgtgct tggatggttt gccaacccta tccatgggga tggcgactat 1020
ccagagggga tgagaaagaa gttgttctcc gttctaccca ttttctctga agcagagaag 1080
catgagatga gaggcacagc tgatttcttt gccttttctt ttggacccaa caacttcaag 1140
cccctaaaca ccatggctaa aatgggacaa aatgtttcac ttaatttaag agaagcgctg 1200
aactggatta aactggaata caacaaccct cgaatcttga ttgctgagaa tggctggttc 1260
acagacagtc gtgtgaaaac agaagacacc acggccatct acatgatgaa gaatttcctc 1320
agccaggtgc ttcaagcaat aaggttagat gaaatacgag tgtttggtta tactgcctgg 1380
tctctcctgg atggctttga atggcaggat gcttacacca tccgccgagg attattttat 1440
gtggatttta acagtaaaca gaaagagcgg aaacctaagt cttcagcaca ctactacaaa 1500
cagatcatac gagaaaatgg ttttcctttg aaagagtcca cgccagacat gaagggtcgg 1560
ttcccctgtg atttctcttg gggagtcact gagtctgttc ttaagcccga gtttacggtc 1620
tcctccccgc agtttaccga tcctcacctg tatgtgtgga atgtcactgg caacagattg 1680
ctctaccgag tggaaggggt aaggctgaaa acaagaccat cccagtgcac agattatgtg 1740
agcatcaaaa aacgagttga aatgttggca aaaatgaaag tcacccacta ccagtttgct 1800
ctggactgga cctctatcct tcccactggc aatctgtcca aagttaacag acaagtgtta 1860
aggtactata ggtgtgtggt gagcgaagga ctgaagctgg gcgtcttccc catggtgacg 1920
ttgtaccacc caacccactc ccatctcggc ctccccctgc cacttctgag cagtgggggg 1980
tggctaaaca tgaacacagc caaggccttc caggactacg ctgagctgtg cttccgggag 2040
ttgggggact tggtgaagct ctggatcacc atcaatgagc ctaacaggct gagtgacatg 2100
```

```
tacaaccgca cgagtaatga cacctaccgt gcagcccaca acctgatgat cgcccatgcc 2160
caggtctggc acctctatga taggcagtat aggccggtcc agcatggggc tgtgtcgctg 2220
tccttacatt gcgactgggc agaacctgcc aacccctttg tggattcaca ctggaaggca 2280
gccgagcgct tcctccagtt tgagatcgcc tggtttgcag atccgctctt caagactggc 2340
gactatccat cggttatgaa ggaatacatc gcctccaaga accagcgagg gctgtctagc 2400
tcagtcctgc cgcgcttcac cgcgaaggag agcaggctgg tgaagggtac cgtcgacttc 2460
tacgcactga accacttcac tacgaggttc gtgatacaca agcagctgaa caccaaccgc 2520
tcagttgcag acagggacgt ccagttcctg caggacatca cccgcctaag ctcgcccagc 2580
cgcctggctg taacaccctg gggagtgcgc aagctccttg cgtggatccg gaggaactac 2640
agagacaggg atatctacat cacagccaat ggcatcgatg acctggctct agaggatgat 2700
cagatccgaa agtactactt ggagaagtat gtccaggagg ctctgaaagc atatctcatt 2760
gacaaggtca aaatcaaagg ctactatgca ttcaaactga ctgaagagaa atctaagcct 2820
agatttggat ttttcacctc tgacttcaga gctaagtcct ctgtccagtt ttacagcaag 2880
ctgatcagca gcagtggcct ccccgctgag aacagaagtc ctgcgtgtgg tcagcctgcg 2940
gaagacacag actgcaccat ttgctcattt ctcgtggaga agaaaccact catcttcttc 3000
ggttgctgct tcatctccac tctggctgta ctgctatcca tcaccgtttt tcatcatcaa 3060
aagagaagaa aattccagaa agcaaggaac ttacaaaata taccattgaa gaaaggccac 3120
agcagagttt tcagctga                                              3138
```

<210> 376
<211> 1042
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> KLB của chuột nhắt(M1-F506) - KLB của người(S509-S1044)

<400> 376

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

```
Trp Lys Asn Ala Thr Met Ile Asp Leu Phe Asn Asp Tyr Ala Thr Tyr
    210                 215                 220
Cys Phe Gln Thr Phe Gly Asp Arg Val Lys Tyr Trp Ile Thr Ile His
225                 230                 235                 240
Asn Pro Tyr Leu Val Ala Trp His Gly Phe Gly Thr Gly Met His Ala
                245                 250                 255
Pro Gly Glu Lys Gly Asn Leu Thr Ala Val Tyr Thr Val Gly His Asn
            260                 265                 270
Leu Ile Lys Ala His Ser Lys Val Trp His Asn Tyr Asp Lys Asn Phe
        275                 280                 285
Arg Pro His Gln Lys Gly Trp Leu Ser Ile Thr Leu Gly Ser His Trp
    290                 295                 300
Ile Glu Pro Asn Arg Thr Asp Asn Met Glu Asp Val Ile Asn Cys Gln
305                 310                 315                 320
His Ser Met Ser Ser Val Leu Gly Trp Phe Ala Asn Pro Ile His Gly
                325                 330                 335
Asp Gly Asp Tyr Pro Glu Phe Met Lys Thr Gly Ala Met Ile Pro Glu
            340                 345                 350
Phe Ser Glu Ala Glu Lys Glu Glu Val Arg Gly Thr Ala Asp Phe Phe
        355                 360                 365
Ala Phe Ser Phe Gly Pro Asn Asn Phe Arg Pro Ser Asn Thr Val Val
    370                 375                 380
Lys Met Gly Gln Asn Val Ser Leu Asn Leu Arg Gln Val Leu Asn Trp
385                 390                 395                 400
Ile Lys Leu Glu Tyr Asp Asp Pro Gln Ile Leu Ile Ser Glu Asn Gly
                405                 410                 415
Trp Phe Thr Asp Ser Tyr Ile Lys Thr Glu Asp Thr Thr Ala Ile Tyr
            420                 425                 430
Met Met Lys Asn Phe Leu Asn Gln Val Leu Gln Ala Ile Lys Phe Asp
        435                 440                 445
Glu Ile Arg Val Phe Gly Tyr Thr Ala Trp Thr Leu Leu Asp Gly Phe
    450                 455                 460
Glu Trp Gln Asp Ala Tyr Thr Thr Arg Arg Gly Leu Phe Tyr Val Asp
465                 470                 475                 480
Phe Asn Ser Glu Gln Lys Glu Arg Lys Pro Lys Ser Ser Ala His Tyr
                485                 490                 495
Tyr Lys Gln Ile Ile Gln Asp Asn Gly Phe Ser Leu Lys Glu Ser Thr
            500                 505                 510
Pro Asp Val Gln Gly Gln Phe Pro Cys Asp Phe Ser Trp Gly Val Thr
        515                 520                 525
Glu Ser Val Leu Lys Pro Glu Ser Val Ala Ser Ser Pro Gln Phe Ser
    530                 535                 540
Asp Pro His Leu Tyr Val Trp Asn Ala Thr Gly Asn Arg Leu Leu His
545                 550                 555                 560
Arg Val Glu Gly Val Arg Leu Lys Thr Arg Pro Ala Gln Cys Thr Asp
                565                 570                 575
Phe Val Asn Ile Lys Lys Gln Leu Glu Met Leu Ala Arg Met Lys Val
            580                 585                 590
Thr His Tyr Arg Phe Ala Leu Asp Trp Ala Ser Val Leu Pro Thr Gly
        595                 600                 605
Asn Leu Ser Ala Val Asn Arg Gln Ala Leu Arg Tyr Tyr Arg Cys Val
    610                 615                 620
Val Ser Glu Gly Leu Lys Leu Gly Ile Ser Ala Met Val Thr Leu Tyr
625                 630                 635                 640
```

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

<210> 377

<211> 3129
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa của KLB của chuột nhắt (M1-F506) - KLB của người(S509-S1044)

<400> 377
atgaagacag gctgtgcagc agggtctccg gggaatgaat ggattttctt cagctctgat 60
gaaagaaaca cacgctctag gaaaacaatg tccaacaggg cactgcaaag atctgccgtg 120
ctgtctgcgt ttgttctgct gcgagctgtt accggcttct ccggagacgg gaaagcaata 180
tgggataaaa aacagtacgt gagtccggta aacccaagtc agctgttcct ctatgacact 240
ttccctaaaa acttttcctg gggcgttggg accggagcat ttcaagtgga agggagttgg 300
aagacagatg gaagaggacc ctcgatctgg gatcggtacg tctactcaca cctgagaggt 360
gtcaacggca cagacagatc cactgacagt tacatctttc tggaaaaaga cttgttggct 420
ctggattttt taggagtttc tttttatcag ttctcaatct cctggccacg gttgtttccc 480
aatggaacag tagcagcagt gaatgcgcaa ggtctccggt actaccgtgc acttctggac 540
tcgctggtac ttaggaatat cgagcccatt gttaccttgt accattggga tttgcctctg 600
acgctccagg aagaatatgg gggctggaaa aatgcaacta tgatagatct cttcaacgac 660
tatgccacat actgcttcca gacctttgga gaccgtgtca aatattggat tacaattcac 720
aacccttacc ttgttgcttg gcatgggttt ggcacaggta tgcatgcacc aggagagaag 780
ggaaatttaa cagctgtcta cactgtggga cacaacctga tcaaggcaca ttcgaaagtg 840
tggcataact acgacaaaaa cttccgccct catcagaagg gttggctctc catcaccttg 900
gggtcccatt ggatagagcc aaacagaaca gacaacatgg aggacgtgat caactgccag 960
cactccatgt cctctgtgct tggatggttc gccaacccca tccacgggga cggcgactac 1020
cctgagttca tgaagacggg cgccatgatc cccgagttct ctgaggcaga gaaggaggag 1080
gtgaggggca cggctgattt ctttgccttt tccttcgggc ccaacaactt caggccctca 1140
aacaccgtgg tgaaaatggg acaaaatgta tcactcaact taaggcaggt gctgaactgg 1200
attaaactgg aatacgatga ccctcaaatc ttgatttcgg agaacggctg gttcacagat 1260
agctatataa agacagagga caccacggcc atctacatga tgaagaattt cctaaaccag 1320
gttcttcaag caataaaatt tgatgaaatc cgcgtgtttg gttatacggc ctggactctc 1380
ctggatggct ttgagtggca ggatgcctat acgacccgac gagggctgtt ttatgtggac 1440
tttaacagtg agcagaaaga gaggaaaccc aagtcctcgg ctcattacta caagcagatc 1500
atacaagaca acggcttctc tttaaaagag tccacgccag atgtgcaggg ccagtttccc 1560
tgtgacttct cctggggtgt cactgaatct gttcttaagc ccgagtctgt ggcttcgtcc 1620
ccacagttca gcgatcctca tctgtacgtg tggaacgcca ctggcaacag actgttgcac 1680
cgagtggaag gggtgaggct gaaaacacga cccgctcaat gcacagattt tgtaaacatc 1740
aaaaaacaac ttgagatgtt ggcaagaatg aaagtcaccc actaccggtt tgctctggat 1800
tgggcctcgg tccttcccac tggcaacctg tccgcggtga accgacaggc cctgaggtac 1860
tacaggtgcg tggtcagtga ggggctgaag cttggcatct ccgcgatggt caccctgtat 1920
tatccgaccc acgcccacct aggcctcccc gagcctctgt tgcatgccga cgggtggctg 1980
aacccatcga cggccgaggc cttccaggcc tacgctgggc tgtgcttcca ggagctgggg 2040
gacctggtga agctctggat caccatcaac gagcctaacc ggctaagtga catctacaac 2100
cgctctggca acgacaccta cggggcggcg cacaacctgc tggtggccca cgccctggcc 2160
tggcgcctct acgaccggca gttcaggccc tcacagcgcg gggccgtgtc gctgtcgctg 2220
cacgcggact gggcggaacc cgccaacccc tatgctgact cgcactggag ggcggccgag 2280
cgcttcctgc agttcgagat cgcctggttc gccgagccgc tcttcaagac cggggactac 2340
cccgcggcca tgagggaata cattgcctcc aagcaccgac gggggctttc cagctcggcc 2400
ctgccgcgcc tcaccgaggc cgaaaggagg ctgctcaagg gcacggtcga cttctgcgcg 2460
ctcaaccact tcaccactag gttcgtgatg cacgagcagc tggccggcag ccgctacgac 2520
tcggacaggg acatccagtt tctgcaggac atcacccgcc tgagctcccc cacgcgcctg 2580
gctgtgattc cctgggggtt gcgcaagctg ctgcggtggg tccggaggaa ctacggcgac 2640
atggacattt acatcaccgc cagtggcatc gacgaccagg ctctggagga tgaccggctc 2700

cggaagtact acctagggaa gtaccttcag gaggtgctga aagcatacct gattgataaa 2760
gtcagaatca aaggctatta tgcattcaaa ctggctgaag agaaatctaa acccagattt 2820
ggattcttca catctgattt taaagctaaa tcctcaatac aattttacaa caaagtgatc 2880
agcagcaggg gcttcccttt tgagaacagt agttctagat gcagtcagac ccaagaaaat 2940
acagagtgca ctgtctgctt attccttgtg cagaagaaac cactgatatt cctgggttgt 3000
tgcttcttct ccaccctggt tctactctta tcaattgcca tttttcaaag gcagaagaga 3060
agaaagtttt ggaaagcaaa aaacttacaa cacataccat taaagaaagg caagagagtt 3120
gttagctag 3129

<210> 378
<211> 25
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH FR1 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 378
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser
20 25

<210> 379
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 379
Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 380
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 380
Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Arg Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 381
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 381
Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 1   5   10   15
Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
            20   25   30

<210> 382
<211> 23
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR1 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 382
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
            20

<210> 383
<211> 23
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR1 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 383
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1   5   10   15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
            20

<210> 384
<211> 23
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR1 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 384
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys
20

<210> 385
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR2 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 385
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 386
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR2 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 386
Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 387
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR2 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 387
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 388
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR2 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 388
Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 389
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR2 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 389
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 390
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR2 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 390
Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 391
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR2 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 391
Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 392
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR2 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 392
Trp Asn Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 393
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 393
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 394
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 394
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 395
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 395
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 396
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> VL FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 396
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Glu Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 397
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 397
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Glu Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 398
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 398
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 399
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 399
Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 400
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 400
Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 401
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa
<400> 401
Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 402
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa
<400> 402
Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Glu Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 403
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa
<400> 403

Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Glu Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 404
<211> 32
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR3 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 404
Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15
Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 405
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR4 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 405
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 406
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR4 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 406
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 407
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VL FR4 kháng Beta Klotho được nhân hóa

<400> 407
Phe Gly Gly Gln Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 408
<211> 1042
<212> PRT
<213> Cricetulus griseus

<220>
<223> beta klotho của chuột túi má

<400> 408
Met Lys Ala Gly Cys Ala Ala Gly Ser Pro Gly Asn Glu Trp Ile Phe
1 5 10 15
Leu Ser Ser Tyr Glu Arg Asn Thr Arg Ser Lys Lys Thr Met Ser Asn
20 25 30
Arg Ala Leu Gln Arg Ser Val Val Leu Ser Ala Phe Val Leu Leu Arg
35 40 45
Ala Val Thr Gly Leu Ser Gly Asp Gly Lys Ala Ile Trp Asp Lys Lys
50 55 60
Gln Tyr Val Ser Pro Val Asn Ala Ser Gln Leu Phe Leu Tyr Asp Thr
65 70 75 80
Phe Pro Lys Asn Phe Phe Trp Gly Val Gly Thr Gly Ala Phe Gln Val
85 90 95
Glu Gly Asn Trp Gln Ala Asp Gly Arg Gly Pro Ser Ile Trp Asp Arg
100 105 110
Phe Ile Tyr Thr His Leu Arg Asp Val Ser Ile Thr Glu Lys Ser Ala
115 120 125
Asp Ser Tyr Ile Phe Leu Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Phe Leu
130 135 140
Gly Val Ser Phe Tyr Gln Phe Ser Ile Ser Trp Pro Arg Leu Phe Pro
145 150 155 160
Asn Gly Thr Val Ala Ser Val Asn Ala Lys Gly Leu Gln Tyr Tyr Asn
165 170 175
Lys Leu Leu Asp Ser Leu Ile Leu Arg Asn Ile Glu Pro Val Val Thr
180 185 190
Leu Tyr His Trp Asp Leu Pro Leu Ala Leu Gln Glu Asp Tyr Gly Gly
195 200 205
Trp Lys Asn Ala Thr Met Ile Asp Leu Phe Asn Asp Tyr Ala Thr Tyr
210 215 220
Cys Phe Gln Thr Phe Gly Asp Arg Val Lys Tyr Trp Ile Thr Ile His
225 230 235 240
Asn Pro Tyr Leu Val Ala Trp His Gly Phe Ala Thr Gly Met His Ala
245 250 255
Pro Gly Glu Thr Gly Asn Leu Thr Ala Val Tyr Ile Val Gly His Asn
260 265 270
Leu Ile Lys Ala His Ser Lys Val Trp His Asn Tyr Asp Lys Asn Phe
275 280 285
Arg Pro His Gln Lys Gly Leu Leu Ser Ile Thr Leu Gly Ser His Trp
290 295 300
Ile Glu Pro Asn Lys Thr Glu Asn Met Ala Asp Thr Ile Ser Cys Gln

305 310 315 320
His Ser Met Ala Phe Val Leu Gly Trp Phe Ala Asn Pro Ile His Ala
325 330 335
Asp Gly Asp Tyr Pro Glu Phe Met Lys Thr Leu Ser Thr Met Pro Val
340 345 350
Phe Ser Glu Ala Glu Lys Glu Glu Val Arg Gly Thr Ala Asp Phe Phe
355 360 365
Ala Phe Ser Phe Gly Pro Asn Asn Phe Arg Pro Ser Asn Thr Val Val
370 375 380
Lys Met Gly Gln Asn Val Ser Leu Asn Leu Arg Gln Val Leu Asn Trp
385 390 395 400
Ile Lys Leu Glu Tyr Asp Asn Pro Arg Ile Leu Ile Ser Glu Asn Gly
405 410 415
Trp Phe Thr Asp Ser Asp Ile Lys Thr Glu Asp Thr Thr Ala Ile Tyr
420 425 430
Met Met Lys His Phe Leu Asn Gln Val Leu Gln Ala Ile Gln Phe Asp
435 440 445
Glu Ile Arg Val Phe Gly Tyr Thr Ala Trp Ser Leu Leu Asp Gly Phe
450 455 460
Glu Trp Gln Tyr Ala Tyr Thr Ser Arg Arg Gly Leu Phe Tyr Val Asp
465 470 475 480
Phe Asn Ser Glu Gln Lys Glu Arg Lys Pro Lys Thr Ser Ala His Tyr
485 490 495
Tyr Lys Gln Ile Ile Gln Glu Asn Gly Phe Pro Leu Lys Glu Ser Thr
500 505 510
Pro Asp Met Gln Gly Gln Phe Pro Cys Asp Phe Ser Trp Gly Val Thr
515 520 525
Glu Ser Val Leu Lys Pro Glu Phe Met Val Ser Ser Pro Gln Phe Thr
530 535 540
Asp Pro His Leu Tyr Val Trp Asn Ala Thr Gly Asn Arg Leu Leu Gln
545 550 555 560
Arg Val Glu Gly Val Arg Leu Lys Thr Lys Pro Ser His Cys Thr Asp
565 570 575
Tyr Val Ser Ile Lys Lys Arg Val Glu Met Leu Ala Lys Met Lys Val
580 585 590
Thr His Tyr Gln Phe Ala Leu Asp Trp Ala Thr Ile Leu Pro Thr Gly
595 600 605
Asn Leu Ser Glu Val Asn Arg Gln Val Leu Arg Tyr Tyr Arg Cys Val
610 615 620
Val Ser Glu Gly Leu Lys Leu Gly Val Ser Pro Met Val Thr Leu Tyr
625 630 635 640
His Pro Thr His Ser His Leu Gly Leu Pro Glu Pro Leu Leu Asn Ser
645 650 655
Gly Gly Trp Leu Asn Thr Tyr Thr Ala Lys Ala Phe Gln Asp Tyr Ala
660 665 670
Gly Leu Cys Phe Gln Glu Leu Gly Asp Leu Val Lys Leu Trp Ile Thr
675 680 685
Ile Asn Glu Pro Asn Arg Leu Ser Asp Met Tyr Asn Arg Thr Ser Asn
690 695 700
Asp Thr Tyr Arg Ala Ala His Asn Leu Met Ile Ala His Ala Gln Val
705 710 715 720
Trp Arg Leu Tyr Asp Arg Gln Tyr Arg Pro Val Gln His Gly Ala Val
725 730 735
Ser Leu Ser Leu His Ser Asp Trp Val Glu Pro Ala Asn Pro Tyr Val

```
            740                 745                 750
Asp Ser His Trp Lys Ala Ala Glu Arg Phe Leu Leu Phe Glu Ile Ala
        755                 760                 765
Trp Phe Ala Asp Pro Leu Phe Lys Thr Gly Asp Tyr Pro Leu Ala Met
    770                 775                 780
Lys Glu Tyr Ile Ala Ser Lys Asn Gln Gln Gly Leu Ser Arg Ser Val
785                 790                 795                 800
Leu Pro Arg Phe Thr Pro Glu Glu Ser Arg Leu Val Lys Gly Thr Ile
                805                 810                 815
Asp Phe Tyr Ala Leu Asn His Phe Thr Thr Arg Phe Val Ile His Lys
            820                 825                 830
Gln Leu Asn Ser Ser Arg Ser Met Ala Asp Arg Asp Val Gln Phe Leu
        835                 840                 845
Gln Asp Ile Thr Arg Leu Ser Ser Pro Ser Arg Leu Ala Val Met Pro
    850                 855                 860
Trp Gly Ala Arg Lys Leu Leu Gly Trp Ile Gln Arg Asn Tyr Gly Asp
865                 870                 875                 880
Met Asp Ile Tyr Ile Thr Ala Asn Gly Ile Asp Asp Leu Ala Leu Glu
                885                 890                 895
Asn Asp Gly Ile Arg Lys Tyr Tyr Leu Glu Lys Tyr Ile Gln Glu Ala
            900                 905                 910
Leu Lys Ala Tyr Leu Ile Asp Lys Val Lys Ile Lys Gly Tyr Tyr Ala
        915                 920                 925
Phe Lys Leu Thr Glu Glu Lys Ser Lys Pro Arg Phe Gly Phe Phe Thr
    930                 935                 940
Ser Asp Phe Lys Ala Lys Ser Ser Val Glu Phe Tyr Ser Lys Leu Ile
945                 950                 955                 960
Ser Arg Ser Gly Phe Pro Ser Glu Thr Ser Asn Pro Ala Cys Gly Gln
                965                 970                 975
Pro Pro Glu Asp Thr Asp Cys Thr Ile Cys Ser Phe Phe Thr Gln Lys
            980                 985                 990
Lys Ser Leu Ile Phe Phe Gly Cys Cys Phe Ile Ser Thr Leu Ala Val
        995                 1000                1005
Leu Leu Ser Ile Thr Ile Phe His His Arg Lys Arg Arg Phe His Lys
    1010                1015                1020
Ser Lys Asn Leu Glu Asn Ile Pro Leu Lys Glu Gly His Ser Arg Val
1025                1030                1035                1040
Leu Ser
```

<210> 409
<211> 3042
<212> ADN
<213> Cricetulus griseus

<220>
<223> Trình tự mã hóa của beta klotho chuột túi má

<400> 409
atgtccaaca gggcactgca aagatctgtc gtgctgtcag cgtttgttct gctgcgagct 60
gttaccggat tgtctggaga cgggaaagcg atatgggata aaaaacagta cgtgagtccg 120
gtgaatgcaa gtcagctgtt tctctatgac actttcccta aaaacttttt ctggggtgtt 180
ggaactggag catttcaagt ggaagggaat tggcaggcag acggaagagg accctcgatt 240

tgggatcgtt tcatctacac acacctgaga gatgtcagca tcacagagaa atccgccgac 300
agttacattt ttctggaaaa agatttgttg gctctggatt ttttaggagt ttctttttat 360
cagttctcaa tctcctggcc acggttgttc cccaatggaa cagtagcatc cgtgaatgca 420
aaaggtctcc aatactacaa caaacttctg gactcgctga tacttaggaa tattgagccc 480
gttgttacct tataccattg ggatttgcct ttggcgctac aggaagacta tgggggttgg 540
aaaaatgcaa ctatgataga tctcttcaat gactatgcca catactgctt ccagaccttt 600
ggagaccgtg tcaagtattg gattacaatt cacaaccctt acctggttgc ttggcatggg 660
tttgccacag gtatgcatgc gccaggagag acgggaaatt taacagctgt ctacattgtg 720
ggacacaacc tgatcaaggc tcattcgaaa gtgtggcata actacgacaa aaacttccgc 780
ccccatcaga agggtttgct gtccattacc ttggggtccc actggataga accaaacaaa 840
acagaaaaca tggccgatac aatcagctgc cagcactcta tggcttttgt gcttgggtgg 900
tttgccaacc ccatccatgc agacggcgac taccctgagt tcatgaaaac attgtccacc 960
atgccagtgt tctctgaggc agagaaggag gaggtgaggg gcacagctga cttctttgcc 1020
ttttcctttg ggcccaacaa tttcaggccc tcgaacactg tagtgaaaat gggacaaaat 1080
gtatcactca acttaagaca ggtgctgaac tggattaaat tagaatatga caaccctcga 1140
atcttgattt cggagaatgg ctggttcaca gatagtgaca taaagacaga ggacaccaca 1200
gccatctaca tgatgaagca tttcctcaac caggttcttc aagcaataca gtttgatgaa 1260
atacgagtgt ttggttacac ggcctggtct ctcctggatg gctttgaatg gcagtatgcc 1320
tacacgtctc gccgaggact gttttatgtg gactttaata gtgaacagaa agaaaggaaa 1380
cccaagacct cggcacatta ctacaaacag atcatacaag aaaatggttt ccctttgaaa 1440
gagtccacgc cagacatgca gggtcagttt ccctgtgact tctcctgggg ggtcaccgag 1500
tctgttctta agccggagtt tatggtttcc tccccacagt ttaccgaccc tcacctgtat 1560
gtgtggaatg ccactggcaa cagattgcta cagcgagtag aaggagtaag gctaaaaaca 1620
aaaccatccc actgcacaga ctatgttagc atcaaaaaac gagttgagat gttggccaaa 1680
atgaaagtca cccactacca gtttgctctg gactgggcca ccatccttcc cactggcaat 1740
ctgtctgaag ttaatagaca agtactaagg tactataggt gtgtggtgag cgaaggactg 1800
aagctgggcg tctctcccat ggtgacgttg taccacccca cccactccca tctaggcctc 1860
cctgagccgc ttcttaacag tgggggatgg ctaaacactt acaccgccaa ggccttccag 1920
gactacgcag gactgtgctt ccaggaacta ggggacttgg tgaagctctg gatcaccatc 1980
aatgagccta ataggctgag tgacatgtac aaccgcacga gtaatgacac ctaccgtgca 2040
gcccataacc tgatgattgc ccatgcccag gtctggcgtc tctacgacag gcagtatagg 2100
ccagtccagc atggagctgt gtcgctgtcc ctacattctg actgggtgga acctgccaac 2160
ccctatgtgg actcacactg gaaggcagcg gagcgcttcc tcctgtttga gatcgcctgg 2220
ttcgctgatc cgctcttcaa gactggcgac tatccactgg ccatgaagga gtacatcgcc 2280
tccaagaacc agcaagggct gtcccgctca gtcctgccgc gcttcacccc agaggagagc 2340
aggctggtga agggcaccat cgacttctac gcactgaacc acttcactac taggttcgtg 2400
atacacaaac agctcaacag cagccgctct atggcagaca gggacgtcca gttcctgcag 2460
gacatcaccc gcctgagctc gcccagccgc ctggctgtta tgccctgggg agcacgcaag 2520
ctgcttgggt ggatccagag gaactatggg gacatggaca tctacatcac agccaatggc 2580
atcgatgatc tggctctgga gaatgatggg atccgaaagt actacttgga gaagtacatc 2640
caggaggctc tgaaagcata cctcattgac aaagtcaaaa tcaaaggcta ttatgcattc 2700
aaactgactg aagagaaatc taagcctaga tttggatttt tcacatctga cttcaaagct 2760
aagtcatctg tagagtttta tagcaagttg atcagcagaa gtggcttccc ctctgagact 2820
agcaatcccg catgtggtca gcctccagaa gacacagact gcaccatctg ctcatttttc 2880
actcagaaga aatctctgat cttctttggt tgttgcttca tctccactct ggctgtactg 2940
ctgtcaatca ccatttttca tcatcgaaag agaagatttc ataaatcaaa gaacttagaa 3000
aatataccat tgaaggaagg ccacagtaga gttcttagct aa 3042

<210> 410
<211> 1044
<212> PRT
<213> Oryctolagus cuniculus

<220>

<223> Beta klotho của thỏ

<400> 410

```
Met Lys Pro Gly Cys Ala Ala Gly Ser Pro Gly Asn Glu Trp Val Ser
 1               5                  10                  15
Phe Cys Thr Asp Glu Arg Asn Arg Arg Cys Arg Glu Thr Met Ser Ser
            20                  25                  30
Gly Arg Leu Arg Arg Ser Val Met Leu Ser Ala Phe Ile Leu Leu Arg
        35                  40                  45
Ala Val Thr Gly Phe Pro Gly Asp Gly Arg Ala Val Trp Ser Gln Asn
    50                  55                  60
Pro Asn Leu Ser Pro Val Asn Glu Ser Gln Leu Phe Leu Tyr Asp Thr
65                  70                  75                  80
Phe Pro Lys Asn Phe Phe Trp Gly Val Gly Thr Gly Ala Phe Gln Val
                85                  90                  95
Glu Gly Ser Trp Lys Lys Asp Gly Lys Gly Leu Ser Val Trp Asp His
            100                 105                 110
Phe Ile Ala Thr His Leu Asn Val Ser Ser Arg Asp Gly Ser Ser Asp
        115                 120                 125
Ser Tyr Ile Phe Leu Glu Lys Asp Leu Ser Ala Leu Asp Phe Leu Gly
    130                 135                 140
Val Ser Phe Tyr Gln Phe Ser Ile Ser Trp Pro Arg Leu Phe Pro Asp
145                 150                 155                 160
Gly Thr Val Ala Val Ala Asn Ala Lys Gly Leu Gln Tyr Tyr Asn Arg
                165                 170                 175
Leu Leu Asp Ser Leu Leu Leu Arg Asn Ile Glu Pro Val Val Thr Leu
            180                 185                 190
Tyr His Trp Asp Leu Pro Trp Ala Leu Gln Glu Lys Tyr Gly Gly Trp
        195                 200                 205
Lys Asn Glu Thr Leu Ile Asp Leu Phe Asn Asp Tyr Ala Thr Tyr Cys
    210                 215                 220
Phe Gln Thr Phe Gly Asp Arg Val Lys Tyr Trp Ile Thr Ile His Asn
225                 230                 235                 240
Pro Tyr Leu Val Ala Trp His Gly Tyr Gly Thr Gly Leu His Ala Pro
                245                 250                 255
Gly Glu Lys Gly Asn Val Ala Ala Val Tyr Thr Val Gly His Asn Leu
            260                 265                 270
Leu Lys Ala His Ser Lys Val Trp His Asn Tyr Asn Arg Asn Phe Arg
        275                 280                 285
Pro His Gln Lys Gly Trp Leu Ser Ile Thr Leu Gly Ser His Trp Ile
    290                 295                 300
Glu Pro Asn Arg Ala Glu Ser Ile Val Asp Ile Leu Lys Cys Gln Gln
305                 310                 315                 320
Ser Met Val Ser Val Leu Gly Trp Phe Ala Asn Pro Ile His Gly Asp
                325                 330                 335
Gly Asp Tyr Pro Glu Val Met Thr Lys Lys Leu Leu Ser Val Leu Pro
            340                 345                 350
Ala Phe Ser Glu Ala Glu Lys Asn Glu Val Arg Gly Thr Ala Asp Phe
        355                 360                 365
Phe Ala Phe Ser Phe Gly Pro Asn Asn Phe Lys Pro Leu Asn Thr Met
    370                 375                 380
Ala Lys Met Gly Gln Asn Val Ser Leu Asn Leu Arg Gln Val Leu Asn
385                 390                 395                 400
Trp Ile Lys Leu Glu Tyr Gly Asn Pro Arg Ile Leu Ile Ala Glu Asn
```

```
                405                 410                 415
Gly Trp Phe Thr Asp Ser Tyr Val Gln Thr Glu Asp Thr Thr Ala Ile
            420                 425                 430
Tyr Met Met Lys Asn Phe Leu Asn Gln Val Leu Gln Ala Ile Arg Leu
        435                 440                 445
Asp Gly Val Arg Val Phe Gly Tyr Thr Ala Trp Ser Leu Leu Asp Gly
    450                 455                 460
Phe Glu Trp Gln Asp Ala Tyr Asn Thr Arg Arg Gly Leu Phe Tyr Val
465                 470                 475                 480
Asp Phe Asn Ser Glu Gln Arg Glu Arg Arg Pro Lys Ser Ser Ala His
                485                 490                 495
Tyr Tyr Lys Gln Val Ile Gly Glu Asn Gly Phe Thr Leu Arg Glu Ala
            500                 505                 510
Thr Pro Asp Leu Gln Gly Gln Phe Pro Cys Asp Phe Ser Trp Gly Val
        515                 520                 525
Thr Glu Ser Val Leu Lys Pro Glu Ser Val Ala Ser Ser Pro Gln Phe
    530                 535                 540
Ser Asp Pro His Leu Tyr Val Trp Asn Ala Thr Gly Asn Arg Met Leu
545                 550                 555                 560
His Arg Val Glu Gly Val Arg Leu Lys Thr Arg Pro Ala Gln Cys Thr
                565                 570                 575
Asp Phe Ile Thr Ile Lys Lys Gln Leu Glu Met Leu Ala Arg Met Lys
            580                 585                 590
Val Thr His Phe Arg Phe Ala Leu Asp Trp Ala Ser Val Leu Pro Thr
        595                 600                 605
Gly Asn Leu Ser Glu Val Asn Arg Gln Ala Leu Arg Tyr Tyr Arg Cys
    610                 615                 620
Val Val Thr Glu Gly Leu Lys Leu Asn Ile Ser Pro Met Val Thr Leu
625                 630                 635                 640
Tyr Tyr Pro Thr His Ala His Leu Gly Leu Pro Ala Pro Leu Leu His
                645                 650                 655
Ser Gly Gly Trp Leu Asp Pro Ser Thr Ala Lys Ala Phe Arg Asp Tyr
            660                 665                 670
Ala Gly Leu Cys Phe Arg Glu Leu Gly Asp Leu Val Lys Leu Trp Ile
        675                 680                 685
Thr Ile Asn Glu Pro Asn Arg Leu Ser Asp Val Tyr Asn Arg Thr Ser
    690                 695                 700
Asn Asp Thr Tyr Gln Ala Ala His Asn Leu Leu Ile Ala His Ala Leu
705                 710                 715                 720
Val Trp His Leu Tyr Asp Arg Gln Tyr Arg Pro Ser Gln Arg Gly Ala
                725                 730                 735
Leu Ser Leu Ser Leu His Ser Asp Trp Ala Glu Pro Ala Asn Pro Tyr
            740                 745                 750
Val Ala Ser His Trp Gln Ala Ala Glu Arg Phe Leu Gln Phe Glu Ile
        755                 760                 765
Ala Trp Phe Ala Glu Pro Leu Phe Lys Thr Gly Asp Tyr Pro Val Ala
    770                 775                 780
Met Arg Glu Tyr Ile Ala Ser Lys Thr Arg Arg Gly Leu Ser Ser Ser
785                 790                 795                 800
Val Leu Pro Arg Phe Ser Asp Ala Glu Arg Arg Leu Val Lys Gly Ala
                805                 810                 815
Ala Asp Phe Tyr Ala Leu Asn His Phe Thr Thr Arg Phe Val Met His
            820                 825                 830
Glu Gln Gln Asn Gly Ser Arg Tyr Asp Ser Asp Arg Asp Val Gln Phe
```

```
        835                 840                 845
Leu Gln Asp Ile Thr Arg Leu Ala Ser Pro Ser Arg Leu Ala Val Met
    850                 855                 860
Pro Trp Gly Glu Gly Lys Leu Leu Arg Trp Met Arg Asn Asn Tyr Gly
865                 870                 875                 880
Asp Leu Asp Val Tyr Ile Thr Ala Asn Gly Ile Asp Asp Gln Ala Leu
                885                 890                 895
Gln Asn Asp Gln Leu Arg Gln Tyr Tyr Leu Glu Lys Tyr Val Gln Glu
            900                 905                 910
Ala Leu Lys Ala Tyr Leu Ile Asp Lys Ile Lys Ile Lys Gly Tyr Tyr
        915                 920                 925
Ala Phe Lys Leu Thr Glu Glu Lys Ser Lys Pro Arg Phe Gly Phe Phe
    930                 935                 940
Thr Ser Asp Phe Lys Ala Lys Ser Ser Ile Gln Phe Tyr Asn Lys Leu
945                 950                 955                 960
Ile Thr Ser Asn Gly Phe Pro Ser Glu Asn Gly Gly Pro Arg Cys Asn
                965                 970                 975
Gln Thr Gln Gly Asn Pro Glu Cys Thr Val Cys Leu Leu Leu Leu Gln
            980                 985                 990
Lys Lys Pro Leu Ile Phe Phe Ser Cys Cys Phe Phe Cys Thr Leu Val
        995                 1000                1005
Leu Leu Ser Ser Ile Thr Ile Phe His Arg Arg Lys Arg Arg Lys Phe
    1010                1015                1020
Trp Lys Ala Lys Asp Leu Gln His Ile Pro Leu Lys Lys Gly His Lys
1025                1030                1035                1040
Arg Val Leu Ser
```

<210> 411
<211> 5737
<212> ADN
<213> Oryctolagus cuniculus

<220>
<223> Trình tự mã hóa của beta klotho của thỏ

<400> 411

```
tgaagccgtg ataagacggt cccgcagttc gtggcaaatg aagccaggct gtgcggcagg 60
atctccaggg aatgaatggg tttccttctg caccgatgaa agaaacagac gctgtaggga 120
aacgatgtcc agcggacgcc tgcggagatc tgtcatgctg tcagccttca tcctgctgcg 180
agccgtgact gggttccccg gagacggaag agctgtatgg tcgcaaaatc ctaatttgag 240
tccggtaaac gaaagtcagc tgtttctcta tgacactttc ccaaaaaact ttttctgggg 300
tgtggggact ggagccttcc aagtggaagg gagttggaag aaggatggga aaggactctc 360
tgtatgggat catttcatcg ctacacacct gaacgtcagc agccgcgatg gctccagtga 420
cagctacatt tttttggaga aagacttatc ggcgctggat tttttaggag tctcttttta 480
tcagttttca atttcctggc caagactgtt cccggatggc acagtagcag tcgccaatgc 540
aaaaggtctc cagtactata atcggctcct ggactctctg ctacttagaa acattgaacc 600
tgtagtcact ttataccatt gggatctgcc ttgggcgcta caagaaaaat acgggggtg 660
gaaaaacgag acgttgattg atttattcaa tgactatgcc acctactgtt tccagacgtt 720
tggggaccgt gtcaaatact ggatcaccat tcacaatccc tatctggtgg cttggcatgg 780
ctacgggaca ggtctgcatg ctccgggaga gaaggggaat gtggcagctg tctacactgt 840
gggacacaac ctgcttaagg ctcattcaaa agtctggcac aactacaaca ggaatttccg 900
cccgcatcag aaaggctggc tgtcgatcac gctgggatcc cactggattg agccaaacag 960
```

agcggaaagc atcgtggaca tactcaagtg ccagcagtcc atggtctcgg tgctgggctg 1020
gtttgccaac ccgatccacg gggacgggga ctacccagag gtgatgacaa agaagctgct 1080
ctccgtcctg cccgctttct cagaagcaga gaagaacgag gtacgaggca ccgcagactt 1140
ctttgccttt tcgtttggac ccaacaactt caagccctta aacaccatgg ctaaaatggg 1200
gcagaatgtg tcactcaatc taagacaggt gctgaactgg attaaactgg aatatggcaa 1260
ccctcgaatc ctgatcgctg agaacggctg gttcacagac agttacgtgc aaacagaaga 1320
caccacagcc atctacatga tgaagaattt cctcaaccag gttcttcaag caataaggtt 1380
ggatggagtc cgagtgtttg gctacactgc ctggtctctc ctggatggct tcgaatggca 1440
ggacgcttac aacacccgcc gtggactgtt ttatgtggac ttcaacagcg aacagagaga 1500
aagaaggccc aagtcctcgg cgcattacta taaacaggtc ataggagaaa acggcttcac 1560
gctcagagag gccacccccgg atctgcaggg gcagtttccc tgtgacttct cctggggcgt 1620
caccgagtct gttcttaagc ccgagtcggt ggcttcctcg ccacagttca gcgaccctca 1680
cctctacgtg tggaacgcca ctggcaaccg aatgcttcac cgggtggaag gggtgaggct 1740
gaaaacacgg cccgctcagt gcacagattt catcaccatc aagaaacaac tcgagatgtt 1800
ggcaagaatg aaagtcaccc acttccggtt tgctctggac tgggcctcgg tccttcccac 1860
gggcaacctg tccgaggtga accgacaagc cctgaggtac tacaggtgtg tggtcaccga 1920
ggggctgaag ctcaacatct cgcccatggt caccttgtac tacccgaccc atgcccacct 1980
gggcctgccc gcgccgctgc tgcacagcgg ggggtggctg gacccatcca cggccaaggc 2040
cttccgcgac tacgcagggc tgtgcttccg ggagctgggg gacctggtga agctctggat 2100
caccatcaac gagcccaacc ggctgagcga cgtctacaac cgcaccagca acgacaccta 2160
ccaggccgcc cacaacctgc tgatcgcgca cgcgctcgtg tggcacctgt acgaccgcca 2220
gtaccggccg tcgcagcgcg gggcgctgtc gctgtccctg cactcggact gggccgagcc 2280
cgccaacccc tacgtggcct cgcactggca ggcggccgag cgcttcctgc agttcgagat 2340
tgcgtggttc gccgagcccc tgttcaagac cggggactac ccggtggcca tgagggagta 2400
catcgcctcc aagacccggc gcgggctctc cagctccgtg ctgccccgct tcagcgacgc 2460
cgagcggcgg ctggtcaagg gcgccgccga cttctacgcc ctcaaccact tcaccaccag 2520
gttcgtgatg cacgagcagc agaacggcag ccgctacgac tcggacaggg acgtgcagtt 2580
cctgcaggac atcacccgcc tggcctcacc cagccgcctg gccgtgatgc cctggggcga 2640
gggcaagctg ctgcggtgga tgcggaacaa ctacggagac ctggacgtct acatcacggc 2700
caatggcatc gacgaccagg ccctgcagaa cgaccagctt cgccagtact acctggagaa 2760
gtacgtccag gaggctctga aagcatatct gatagataaa ataaaaatca aaggctatta 2820
tgcattcaaa ctgactgaag aaaaatctaa acccaggttt ggattcttca cctctgattt 2880
caaagccaag tcttcaatac agttttacaa caaactaatt accagcaacg gcttcccgtc 2940
tgagaacggc ggtcctagat gcaatcagac tcaaggaaat cccgagtgca ccgtctgctt 3000
actcctcctg cagaagaagc cgctgatatt ctttagctgc tgcttcttct gcaccctggt 3060
tctactctca tcaattacca tctttcacag acggaagaga agaaaatttt ggaaagcaaa 3120
ggacttacaa cacataccat taaagaaagg ccacaagaga gtccttagct aaagtgaact 3180
tatttctctc tgaagagttt agaaattcac tccagttcca tatgctggta acacaaaaga 3240
catacccgta ttgtacacag agtatttgag atactgtgct aaccaaggcg atgacaatca 3300
aaacctctgc catgtggttg aatgcatttt cccttaagcg gtgacaatca gcgaactcag 3360
ttcttggttc taaaggaggc ttcgcactgc cactaggcta tgagtattac ctgacgcatt 3420
gctttgtcaa gtttgatgag ctgtttcgca tcattctcta gctttcttta gataccaata 3480
gctactatgg taaaagttgt ttttaaaagt caaactctgt aaggcttcac agcagattta 3540
aaactattct ttacactgga tctgtgattt tgtcactcgt agcaaggtgc tttccccttt 3600
tggtcctagt ggctctcaaa tagaaagcaa acacatctta gggtaatcta cttatctata 3660
gccaatcaca gcactgaccc acaactacac aaatccgtta gctcttctcc ataaaacacc 3720
taattttgtg atcttttaag taatctgaaa tgtaaaagta tgacttccgt aacccatctc 3780
atggaaagat cgactaagga gagccatacc cagctgtgag gacaatttag tcactaatct 3840
caccgtactg caacttcctc ctttagagca ggcattcctt accatttttg taagatgaca 3900
tgatttagca tctagaaccc ctatctgcag tttctttcta tggcttacct acatttcaag 3960
aatattgaac ggaaaatttc agaaagattt ccaagtttta aattgtgtac tagcattagt 4020
gcatgatgaa atctcatttt ctttgctcca tcctgcacag gatgtgaaac atccctctgt 4080
ccagcaagtc caagctacct atattactca cttgatagtc accatggtta tccagctgtt 4140
attacttgct catacccagg taacccttttt ttattttaat atagctccaa agtataagac 4200

```
tagtgatgaa aaggaggtaa gtcatcaaat atggaaggac agattaactc tggcactaag 4260
tgggaatgct gcaggtttta caggaaaaca aaattcagtc agtggtttaa agcatcctct 4320
gaggtacctg gggcacaatc tccacagata aggggaaaga gcactgacaa agactaaaca 4380
tcctaaaaag acgcaatgtt ctacttactg gccatcagaa taatggccaa aggaccctat 4440
acttgcttgc tctctagcca agtttcgctg cacataggtg tagaatgcag cgactgaccc 4500
tggatgcgat tcagaatgct gatctgagtg aactagtttt ttatacagca ctttttaaag 4560
cctagaattc ttccatctga acttgggagt tttgactttt ttgaaattaa ttgtgcttaa 4620
gatttattca gtgattctaa acactggagg tagaaaactg tatacccatt atgcctatta 4680
atttttcttg attagccaac atttaaataa ccacaaagtg gccagtcgtt gtctttccct 4740
ttcaggaatt taagtcaaag gatgctgctg cctgcgatgc tggcacttca taggggtgac 4800
agtttgtgtc cctgcggttc cacttcctat ccagctccct gctaatggct tgggagagcc 4860
ctgcacccac atgggagacc caaaagcaga tcctgctgct ttcagcctgc tgcggccact 4920
tggagtatga accagtggat ggaagatcaa tgtctctccc aacaattctt tgaataaatt 4980
ttttcaaaag tcaaaataaa attctccagc tcaaaaagct ttagtagaaa acgatcctac 5040
attaaggcgg ttgtgattgt atcccaagtg catctacgtt acaaaccaaa ttgagtatgc 5100
aattcagtat gctactagac tataaggaga aaacagccaa ttcaaacaaa ataccaaagt 5160
cacgtgcagt taatttgctt tctggttggc caaatgtttt ttttctcttc ttgccaccac 5220
tgttttacat gtactttaga agaaattttg acttttgct tcctttgaga aatcactatt 5280
atcaaaggca attcataatt acaagtggtc cattgtctta agagctcaag attatagccc 5340
ttcaaacttg ccaaactcct caaatagtga agctcctaac gaagggttta caacatcctg 5400
ttccttaggg gttatatttt taagtgactg taatttacct aacaaattta atctggctat 5460
ctattggtaa tacatgtaat attcaggttt atcataaacc cacttaaaaa ctaaaggtta 5520
agtggaagtt gctgcttttc aaagtaacag gcttctcagg ggaaaatatc accttagcgt 5580
ccacctggta ctacatctcg tgtattcact gtaacccatc tttccgaaca tgtctgatat 5640
atatggaaac aacactagtg cttagcctct ggaaatgagg ccaggatttt gtgattaaat 5700
gtctaattta ttccaaataa actgatttac gccaata                          5737
```

<210> 412
<211> 1045
<212> PRT
<213> Canis lupus familiaris

<220>
<223> Beta klotho của chó

<400> 412

```
Met Lys Pro Gly Cys Ala Ala Gly Ser Pro Gly Asn Glu Trp Ile Phe
 1               5                  10                  15
Leu Ser Thr Asp Glu Ser Asn Thr His Tyr Arg Lys Thr Met Cys Asn
            20                  25                  30
His Gly Leu Gln Arg Ser Val Ile Leu Ser Ala Phe Ile Leu Leu Gly
        35                  40                  45
Ala Val Pro Gly Phe Ser Gly Asp Gly Arg Ala Ile Trp Ser Lys Asn
    50                  55                  60
Pro His Phe Ser Pro Val Asn Glu Ser Gln Leu Phe Leu Tyr Asp Thr
65                  70                  75                  80
Phe Pro Lys Asn Phe Phe Trp Gly Val Gly Thr Gly Ala Phe Gln Val
                85                  90                  95
Glu Gly Asn Trp Lys Thr Asp Gly Lys Gly Pro Ser Ile Trp Asp His
            100                 105                 110
Phe Ile His Thr His Leu Lys Asn Val Asn Ser Met Asn Ser Ser Ser
        115                 120                 125
```

```
Asp Ser Tyr Ile Phe Leu Glu Lys Asp Leu Ser Ala Leu Asp Phe Ile
    130                 135                 140
Gly Val Ser Phe Tyr Gln Phe Ser Ile Ser Trp Pro Arg Leu Phe Pro
145                 150                 155                 160
Asp Gly Ile Ala Ala Val Ala Asn Ala Lys Gly Leu Gln Tyr Tyr Asn
                165                 170                 175
Ser Leu Leu Asp Ala Leu Val Leu Arg Asn Ile Glu Pro Ile Val Thr
            180                 185                 190
Leu Tyr His Trp Asp Leu Pro Leu Ala Leu Gln Glu Lys Tyr Gly Gly
        195                 200                 205
Trp Lys Asn Glu Thr Ile Thr Asp Ile Phe Asn Asp Tyr Ala Thr Tyr
    210                 215                 220
Cys Phe Gln Thr Phe Gly Asp Arg Val Lys Tyr Trp Ile Thr Ile His
225                 230                 235                 240
Asn Pro Tyr Leu Val Ala Trp His Gly Tyr Gly Thr Gly Met His Ala
                245                 250                 255
Pro Gly Glu Lys Gly Asn Leu Ala Ala Val Tyr Thr Val Gly His Asn
            260                 265                 270
Leu Ile Lys Ala His Ser Lys Val Trp His Asn Tyr Asn Thr Asn Phe
        275                 280                 285
Arg Pro Tyr Gln Lys Gly Leu Leu Ser Ile Thr Leu Gly Ser His Trp
    290                 295                 300
Ile Glu Pro Asn Arg Ser Glu Asn Met Met Asp Ile Leu Lys Cys Gln
305                 310                 315                 320
Gln Ser Met Val Ser Val Leu Gly Trp Phe Ala Asn Pro Ile His Gly
                325                 330                 335
Asn Gly Asp Tyr Pro Glu Val Met Lys Lys Lys Leu Leu Ser Thr Leu
            340                 345                 350
Pro Leu Phe Ser Glu Ala Glu Lys Asn Glu Val Arg Gly Thr Ala Asp
        355                 360                 365
Phe Phe Ala Phe Ser Phe Gly Pro Asn Asn Phe Lys Pro Gln Asn Thr
    370                 375                 380
Met Ala Lys Met Gly Gln Asn Val Ser Leu Asn Leu Arg Glu Val Leu
385                 390                 395                 400
Asn Trp Ile Lys Leu Glu Tyr Gly Asn Pro Arg Ile Leu Ile Ala Glu
                405                 410                 415
Asn Gly Trp Phe Thr Asp Ser His Val Lys Thr Glu Asp Thr Thr Ala
            420                 425                 430
Ile Tyr Met Met Lys Asn Phe Leu Asn Gln Val Leu Gln Ala Ile Arg
        435                 440                 445
Phe Asp Glu Ile Gln Val Phe Gly Tyr Thr Ala Trp Ser Leu Leu Asp
    450                 455                 460
Gly Phe Glu Trp Gln Asp Ala Tyr Ser Thr Arg Arg Gly Leu Phe Tyr
465                 470                 475                 480
Val Asp Phe Asn Ser Lys Gln Lys Glu Arg Lys Pro Lys Ser Ser Ala
                485                 490                 495
Tyr Tyr Tyr Lys Gln Ile Ile Gln Glu Asn Gly Phe Thr Phe Lys Glu
            500                 505                 510
Ser Thr Pro Asp Val Gln Gly Gln Phe Pro Cys Asp Phe Ser Trp Gly
        515                 520                 525
Val Thr Glu Ser Val Leu Lys Pro Lys Val Val Ala Ser Ser Pro Gln
    530                 535                 540
Phe Ser Asp Pro His Leu Tyr Val Trp Asn Val Thr Gly Asn Arg Leu
545                 550                 555                 560
```

```
Leu His Arg Val Glu Gly Val Arg Leu Lys Thr Arg Pro Ala Gln Cys
                565                 570                 575
Thr Asp Phe Val Ser Ile Lys Arg Gln Leu Glu Met Leu Ala Arg Met
            580                 585                 590
Asn Val Thr His Tyr Arg Phe Ala Leu Asp Trp Pro Ser Ile Leu Pro
        595                 600                 605
Thr Gly Asn Leu Ser Thr Val Asn Arg Gln Ala Leu Arg Tyr Tyr Arg
    610                 615                 620
Cys Val Val Ser Glu Ser Leu Lys Leu Ser Ile Ser Pro Met Val Thr
625                 630                 635                 640
Leu Tyr Tyr Pro Thr His Ala His Leu Gly Leu Pro Ser Pro Leu Leu
                645                 650                 655
His Ser Gly Gly Trp Leu Asn Ala Ser Thr Ala Arg Ala Phe Gln Asp
            660                 665                 670
Tyr Ala Gly Leu Cys Phe Gln Glu Leu Gly Asp Leu Val Lys Leu Trp
        675                 680                 685
Ile Thr Ile Asn Glu Pro Asn Arg Leu Ser Asp Val Tyr Ser His Thr
    690                 695                 700
Ser Ser Asp Thr Tyr Arg Ala Ala His Asn Leu Leu Ile Ala His Ala
705                 710                 715                 720
Leu Val Trp His Leu Tyr Asp Arg Arg Tyr Arg Pro Ala Gln Arg Gly
                725                 730                 735
Ala Val Ser Leu Ser Leu His Ser Asp Trp Ala Glu Pro Ala Asn Pro
            740                 745                 750
Tyr Ala Asp Ser His Trp Lys Ala Ala Glu Arg Phe Leu Gln Phe Glu
        755                 760                 765
Ile Ala Trp Phe Ala Glu Pro Leu Phe Lys Thr Gly Asp Tyr Pro Pro
    770                 775                 780
Ala Met Arg Glu Tyr Ile Ala Ser Lys Asn Arg Gln Gly Leu Ser Arg
785                 790                 795                 800
Ser Thr Leu Pro Arg Phe Thr Asp Glu Glu Arg Arg Leu Val Lys Gly
                805                 810                 815
Ala Ala Asp Phe Tyr Ala Leu Asn His Phe Thr Thr Arg Phe Val Met
            820                 825                 830
His Ala Arg Gln Asn Gly Ser Arg Tyr Asp Ala Asp Arg Asp Val Gln
        835                 840                 845
Phe Leu Gln Asp Ile Thr Cys Leu Ser Ser Pro Ser Arg Leu Ala Val
    850                 855                 860
Leu Pro Trp Gly Glu Arg Lys Val Leu Arg Trp Ile Gln Lys Asn Tyr
865                 870                 875                 880
Gly Asp Val Asp Val Tyr Ile Thr Ala Ser Gly Ile Asp Asp Gln Ser
                885                 890                 895
Leu Glu Asn Asp Glu Leu Arg Lys Tyr Tyr Leu Glu Lys Tyr Ile Gln
            900                 905                 910
Glu Ala Leu Lys Ala His Leu Ile Asp Lys Val Lys Val Lys Gly Tyr
        915                 920                 925
Tyr Ala Phe Lys Leu Thr Glu Glu Lys Ser Lys Pro Arg Phe Gly Phe
    930                 935                 940
Phe Thr Ser Glu Phe Lys Ala Lys Ser Ser Val Gln Leu Tyr Asn Lys
945                 950                 955                 960
Leu Ile Ser Asn Ser Gly Phe Pro Ser Glu Asn Arg Ser Pro Arg Cys
                965                 970                 975
Ser Glu Thr Gln Arg Asn Thr Glu Cys Met Val Cys Leu Phe Leu Val
            980                 985                 990
```

```
Gln Lys Lys Pro Leu Ile Phe Phe Ser Cys Cys Phe Phe Ser Thr Leu
        995                 1000                1005
Val Leu Leu Ser Ser Ile Thr Ile Leu His Lys Arg Lys Arg Arg Lys
    1010                1015                1020
Ile Trp Lys Ala Lys Asn Leu Gln His Ile Pro Leu Lys Lys Ser Lys
1025                1030                1035                1040
Asn Ser Leu Gln Ser
                1045
```

<210> 413
<211> 4350
<212> ADN
<213> Canis lupus familiaris

<220>
<223> Trình tự mã hóa của beta klotho của chó

<400> 413

```
acaatcacaa gcttttactg aagcgttgat aagacaggcg agcagttagt ggcaaatgaa 60
gccaggctgt gcggctggat ctccagggaa tgaatggatt ttcctcagca ccgatgaaag 120
caacacacac tataggaaaa caatgtgcaa ccacgggcta cagagatctg tcatcctgtc 180
agcatttatt ctcctaggag ctgttcctgg attctctgga gacggaagag ctatatggtc 240
taaaaatcct cattttagtc cggtaaatga aagtcagctg tttctctatg acacttttcc 300
taaaaacttt ttttggggcg ttgggactgg agcatttcaa gtggaaggga attggaagac 360
agatggaaaa ggaccctcta tatgggatca tttcatccac acacacctta aaaatgtcaa 420
cagcatgaat agttccagtg acagttacat ttttctggaa aaagacctat cagccctgga 480
ttttatcgga gtttcttttt atcaattttc aatttcctgg ccaaggcttt tccccgatgg 540
aatagcagca gttgccaacg caaaaggtct ccagtactac aattctcttc tcgatgctct 600
agtacttagg aacattgaac ctatagttac tttataccat tgggatttgc ctttggcact 660
acaagaaaaa tatgggggct ggaaaaatga aaccataacg gatatcttca atgactatgc 720
cacctactgt ttccagacgt tcggggatcg tgtcaaatac tggattacaa ttcacaatcc 780
atatctagtt gcttggcatg ggtatgggac aggtatgcac gcgcctggag agaagggaaa 840
cttagcagct gtctacactg tgggacacaa cctaatcaag gctcattcga aagtttggca 900
taactacaac acaaatttcc gcccatatca gaagggtttg ttatcaatca cgttgggatc 960
ccattggatt gaaccaaaca gatcagaaaa catgatggat atactcaaat gtcaacaatc 1020
catggtttca gtgctcgggt ggtttgccaa ccccatccat gggaatggag actatccaga 1080
agtgatgaaa aagaagttgc tctccactct acccctttc tctgaagcag agaagaatga 1140
agtgaggggc acagctgact tctttgcctt ttcctttgga cccaacaatt tcaagcccca 1200
gaacaccatg gctaaaatgg gacaaaatgt gtcactcaat ttaagagaag tgctgaattg 1260
gattaaactg gaatatggca acccccgaat cttgattgct gagaatggct ggttcacaga 1320
cagtcatgtg aaaacagaag ataccacagc catttacatg atgaagaatt tcctcaacca 1380
ggttcttcaa gcaataaggt ttgacgaaat acaagtgttt ggctacactg cttggtctct 1440
cctggatggc tttgaatggc aggatgctta ctccactcgc cgaggattat tttatgtgga 1500
ttttaatagt aaacaaaaag aaagaaagcc caagtcttcg gcatattact ataaacagat 1560
catacaagaa aatggtttta ctttcaaaga gtccacccca gatgtgcagg gtcagtttcc 1620
ctgtgacttc tcatggggtg tcaccgaatc tgtccttaag cccaaagtcg tggcttcctc 1680
cccacagttc agcgaccctc acctgtacgt gtggaatgtg acaggcaaca gactgttgca 1740
ccgagtggaa ggggtgaggc tgaagacacg gccggctcaa tgcacagatt ttgtcagcat 1800
caaaagacaa cttgagatgt tggcgaggat gaacgtcact cactacaggt ttgctctgga 1860
ctggccctcc atccttccca ccggcaacct gtccacggtt aaccgacaag ccctgaggta 1920
ctacaggtgt gtggtcagcg agtcgctgaa gctcagcatc tccccgatgg tcacgctgta 1980
ctacccgacc cacgcccacc tgggcctccc ctcgccgctg ctgcacagcg ggggctggct 2040
gaacgcgtcc accgcccgcg ccttccagga ctatgccggg ctgtgcttcc aggagctggg 2100
```

ggacctggtg aagctctgga tcaccatcaa tgagcccaac cggctgagtg acgtctacag 2160
ccacaccagc agcgacacct accgggcagc gcacaacctg ctgatcgccc acgccctggt 2220
gtggcacctg tacgaccggc ggtaccggcc ggcgcagcgc ggggccgtgt cgctgtccct 2280
gcactcggac tgggcggagc ccgccaaccc ctacgccgac tcgcactgga aggcggccga 2340
gcgcttcctg cagttcgaaa tcgcctggtt cgccgagccg ctcttcaaga ccggggacta 2400
cccgccggcc atgagggagt acatcgcctc caagaacagg caggggctct cgcgctccac 2460
cctgccccgc ttcaccgacg aggagaggag gctggtcaag ggcgccgccg acttctacgc 2520
gctgaaccac ttcaccacca ggttcgtgat gcacgcgcgc cagaacggca gccgctacga 2580
cgcggaccgc gacgtccagt tcctgcagga catcacctgc ctgagctccc ccagccgcct 2640
ggccgtcctg ccctgggggg agcgcaaggt gctcaggtgg atccagaaga actacggaga 2700
cgtggacgtg tacatcacgg ccagtggcat cgatgaccag tctctggaaa atgatgagct 2760
cagaaaatac tacttggaga aatacatcca ggaggctctg aaagcacacc taattgataa 2820
agtcaaagtc aaaggctatt atgcattcaa actgactgaa gaaaaatcta aacccagatt 2880
tggattcttc acgtctgaat tcaaagctaa atcctcagtt cagctttaca acaaactgat 2940
cagcaacagt ggcttccctt ctgagaacag gagtcctaga tgcagtgaga ctcaaagaaa 3000
cacagagtgc atggtctgct tatttcttgt gcaaaagaaa ccactgatat tctttagttg 3060
ttgcttcttc tctaccctgg ttctactttc atcgattacc attcttcata agcgaaagag 3120
aagaaaaatt tggaaagcaa agaacttaca acatatacca ttaaagtgag gccacagaaa 3180
gttcttagtg aaactgatcc tatttctgtc tgcatgatag aaagtctaaa aattcactcc 3240
agtcccaaat actggtaaca tagaagacaa tttgaaacac tagtagtaac caaggtgatg 3300
acaatcaagg tctctgctgt gtggtccaaa tgaattttcc attaggtgtt gacatcactg 3360
aatacagttt ttagatctga agactaagat ctagagagta agctaggatt atctgataca 3420
atgcttcatt aagtttaata agctgttatc catcattctt ctctggcttc cttctagaaa 3480
taccaatagc taattatagc aacttagaaa aaagtgcaac ttttgctaga ctccatagca 3540
gaaatctaaa actcttaaca ctggatattc agtgattatt ctatcacttc taacaaggtg 3600
ctttttcccct ttagaagata tacaataggg taaatagtgc tcctttatca tccattccag 3660
cactttttt ttccagcata gactcttaaa cacattgatc ctagtttttc tcaatagaaa 3720
taaaaaatca tttagaaaac atggaatttt gtgaggtctc tccttgcatt agatctgagt 3780
ttttttaaa aaaaagactt aacttccata acccatctca tgggaagatc acaggactaa 3840
gattaaggag agttagaccc atcaactgcc tgaggagaca gcactcaacc tcacagtaca 3900
gcaaattcct tgggacaaac tgacagcaat cttccgcact tggattgttg aggcagcaca 3960
caagatctta acatacttag gaaagttaaa tattctaaaa agatgtaaag ttttatttt 4020
attatcaagt cttcaaagga ccatattatt ccataagact tgctctctcc tgagttccac 4080
tcttctgaca ctatgtgtat atggggacac tcaaactgca ccttgacatt gcaactttgg 4140
atacaattca gaatgtaaat gtttgaagga cttaaaactt tctccactgc acctttgaa 4200
gctgggatta agtaaatacg aactgggagt ttgacttttt tgaactctgt gcttgattta 4260
ttcactgtat tctaaatttt aaggaaaacc tgaatgtaaa cccattcata ccctttcttt 4320
gggttagtaa acatttaacc acccatttca 4350

<210> 414
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> 5H23v1-69

<400> 414
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

<210> 415
<211> 710
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> FGFR1 beta-IIIc của người, NP_075594.1

<400> 415

```
Arg Pro Ser Pro Thr Leu Pro Glu Gln Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu
 1               5                  10                  15
Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp
            20                  25                  30
Asn Thr Lys Pro Asn Pro Val Ala Pro Tyr Trp Thr Ser Pro Glu Lys
        35                  40                  45
Met Glu Lys Lys Leu His Ala Val Pro Ala Ala Lys Thr Val Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Cys Pro Ser Ser Gly Thr Pro Asn Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys
65                  70                  75                  80
Asn Gly Lys Glu Phe Lys Pro Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val
                85                  90                  95
Arg Tyr Ala Thr Trp Ser Ile Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp
            100                 105                 110
Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Ile Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn
        115                 120                 125
His Thr Tyr Gln Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile
    130                 135                 140
Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn
145                 150                 155                 160
Val Glu Phe Met Cys Lys Val Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln
                165                 170                 175
Trp Leu Lys His Ile Glu Val Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn
            180                 185                 190
Leu Pro Tyr Val Gln Ile Leu Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp
        195                 200                 205
Lys Glu Met Glu Val Leu His Leu Arg Asn Val Ser Phe Glu Asp Ala
    210                 215                 220
Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His
225                 230                 235                 240
Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu Glu Ala Leu Glu Glu Arg Pro Ala Val
                245                 250                 255
Met Thr Ser Pro Leu Tyr Leu Glu Ile Ile Ile Tyr Cys Thr Gly Ala
```

```
            260                 265                 270
Phe Leu Ile Ser Cys Met Val Gly Ser Val Ile Val Tyr Lys Met Lys
        275                 280                 285
Ser Gly Thr Lys Lys Ser Asp Phe His Ser Gln Met Ala Val His Lys
    290                 295                 300
Leu Ala Lys Ser Ile Pro Leu Arg Arg Gln Val Thr Val Ser Ala Asp
305                 310                 315                 320
Ser Ser Ala Ser Met Asn Ser Gly Val Leu Leu Val Arg Pro Ser Arg
                325                 330                 335
Leu Ser Ser Ser Gly Thr Pro Met Leu Ala Gly Val Ser Glu Tyr Glu
            340                 345                 350
Leu Pro Glu Asp Pro Arg Trp Glu Leu Pro Arg Asp Arg Leu Val Leu
        355                 360                 365
Gly Lys Pro Leu Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Leu Ala Glu
    370                 375                 380
Ala Ile Gly Leu Asp Lys Asp Lys Pro Asn Arg Val Thr Lys Val Ala
385                 390                 395                 400
Val Lys Met Leu Lys Ser Asp Ala Thr Glu Lys Asp Leu Ser Asp Leu
                405                 410                 415
Ile Ser Glu Met Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys His Lys Asn Ile
            420                 425                 430
Ile Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Gln Asp Gly Pro Leu Tyr Val Ile
        435                 440                 445
Val Glu Tyr Ala Ser Lys Gly Asn Leu Arg Glu Tyr Leu Gln Ala Arg
    450                 455                 460
Arg Pro Pro Gly Leu Glu Tyr Cys Tyr Asn Pro Ser His Asn Pro Glu
465                 470                 475                 480
Glu Gln Leu Ser Ser Lys Asp Leu Val Ser Cys Ala Tyr Gln Val Ala
                485                 490                 495
Arg Gly Met Glu Tyr Leu Ala Ser Lys Lys Cys Ile His Arg Asp Leu
            500                 505                 510
Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Thr Glu Asp Asn Val Met Lys Ile Ala
        515                 520                 525
Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile His His Ile Asp Tyr Tyr Lys Lys
    530                 535                 540
Thr Thr Asn Gly Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu
545                 550                 555                 560
Phe Asp Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val
                565                 570                 575
Leu Leu Trp Glu Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Val
            580                 585                 590
Pro Val Glu Glu Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp
        595                 600                 605
Lys Pro Ser Asn Cys Thr Asn Glu Leu Tyr Met Met Met Arg Asp Cys
    610                 615                 620
Trp His Ala Val Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu
625                 630                 635                 640
Asp Leu Asp Arg Ile Val Ala Leu Thr Ser Asn Gln Glu Tyr Leu Asp
                645                 650                 655
Leu Ser Met Pro Leu Asp Gln Tyr Ser Pro Ser Phe Pro Asp Thr Arg
            660                 665                 670
Ser Ser Thr Cys Ser Ser Gly Glu Asp Ser Val Phe Ser His Glu Pro
        675                 680                 685
Leu Pro Glu Glu Pro Cys Leu Pro Arg His Pro Ala Gln Leu Ala Asn
```

690 695 700
Gly Gly Leu Lys Arg Arg
705 710

<210> 416
<211> 710
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> FGFR1 của chuột nhắt(R22-E287) (Beta-IIIc, NP_001073378) dung hợp với FGFR1 của người(I286-R731, NP_075594)

<400> 416
Arg Pro Ala Pro Thr Leu Pro Glu Gln Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15
Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp
20 25 30
Asn Thr Lys Pro Asn Pro Val Ala Pro Tyr Trp Thr Ser Pro Glu Lys
35 40 45
Met Glu Lys Lys Leu His Ala Val Pro Ala Ala Lys Thr Val Lys Phe
50 55 60
Lys Cys Pro Ser Ser Gly Thr Pro Asn Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys
65 70 75 80
Asn Gly Lys Glu Phe Lys Pro Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val
85 90 95
Arg Tyr Ala Thr Trp Ser Ile Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp
100 105 110
Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Ile Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn
115 120 125
His Thr Tyr Gln Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile
130 135 140
Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn
145 150 155 160
Val Glu Phe Met Cys Lys Val Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln
165 170 175
Trp Leu Lys His Ile Glu Val Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn
180 185 190
Leu Pro Tyr Val Gln Ile Leu Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp
195 200 205
Lys Glu Met Glu Val Leu His Leu Arg Asn Val Ser Phe Glu Asp Ala
210 215 220
Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His
225 230 235 240
Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu Glu Ala Leu Glu Glu Arg Pro Ala Val
245 250 255
Met Thr Ser Pro Leu Tyr Leu Glu Ile Ile Ile Tyr Cys Thr Gly Ala
260 265 270
Phe Leu Ile Ser Cys Met Val Gly Ser Val Ile Val Tyr Lys Met Lys
275 280 285
Ser Gly Thr Lys Lys Ser Asp Phe His Ser Gln Met Ala Val His Lys
290 295 300
Leu Ala Lys Ser Ile Pro Leu Arg Arg Gln Val Thr Val Ser Ala Asp

305 310 315 320
Ser Ser Ala Ser Met Asn Ser Gly Val Leu Leu Val Arg Pro Ser Arg
325 330 335
Leu Ser Ser Ser Gly Thr Pro Met Leu Ala Gly Val Ser Glu Tyr Glu
340 345 350
Leu Pro Glu Asp Pro Arg Trp Glu Leu Pro Arg Asp Arg Leu Val Leu
355 360 365
Gly Lys Pro Leu Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Leu Ala Glu
370 375 380
Ala Ile Gly Leu Asp Lys Asp Lys Pro Asn Arg Val Thr Lys Val Ala
385 390 395 400
Val Lys Met Leu Lys Ser Asp Ala Thr Glu Lys Asp Leu Ser Asp Leu
405 410 415
Ile Ser Glu Met Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys His Lys Asn Ile
420 425 430
Ile Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Gln Asp Gly Pro Leu Tyr Val Ile
435 440 445
Val Glu Tyr Ala Ser Lys Gly Asn Leu Arg Glu Tyr Leu Gln Ala Arg
450 455 460
Arg Pro Pro Gly Leu Glu Tyr Cys Tyr Asn Pro Ser His Asn Pro Glu
465 470 475 480
Glu Gln Leu Ser Ser Lys Asp Leu Val Ser Cys Ala Tyr Gln Val Ala
485 490 495
Arg Gly Met Glu Tyr Leu Ala Ser Lys Lys Cys Ile His Arg Asp Leu
500 505 510
Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Thr Glu Asp Asn Val Met Lys Ile Ala
515 520 525
Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile His His Ile Asp Tyr Tyr Lys Lys
530 535 540
Thr Thr Asn Gly Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu
545 550 555 560
Phe Asp Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val
565 570 575
Leu Leu Trp Glu Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Val
580 585 590
Pro Val Glu Glu Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp
595 600 605
Lys Pro Ser Asn Cys Thr Asn Glu Leu Tyr Met Met Met Arg Asp Cys
610 615 620
Trp His Ala Val Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu
625 630 635 640
Asp Leu Asp Arg Ile Val Ala Leu Thr Ser Asn Gln Glu Tyr Leu Asp
645 650 655
Leu Ser Met Pro Leu Asp Gln Tyr Ser Pro Ser Phe Pro Asp Thr Arg
660 665 670
Ser Ser Thr Cys Ser Ser Gly Glu Asp Ser Val Phe Ser His Glu Pro
675 680 685
Leu Pro Glu Glu Pro Cys Leu Pro Arg His Pro Ala Gln Leu Ala Asn
690 695 700
Gly Gly Leu Lys Arg Arg
705 710

<210> 417

<211> 710
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> FGFR1 của chuột túi má(R54-E319) (Beta-IIIc) XP_007610900.1
dung hợp với FGFR1 của người(I286-R731, NP_075594)

<400> 417
Arg Pro Ala Pro Thr Leu Pro Glu Gln Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15
Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp
20 25 30
Asn Thr Lys Pro Asn Pro Val Ala Pro Tyr Trp Thr Ser Pro Glu Lys
35 40 45
Met Glu Lys Lys Leu His Ala Val Pro Ala Ala Lys Thr Val Lys Phe
50 55 60
Lys Cys Pro Ser Ser Gly Thr Pro Asn Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys
65 70 75 80
Asn Gly Lys Glu Phe Lys Pro Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val
85 90 95
Arg Tyr Ala Thr Trp Ser Ile Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp
100 105 110
Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Ile Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn
115 120 125
His Thr Tyr Gln Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile
130 135 140
Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn
145 150 155 160
Val Glu Phe Met Cys Lys Val Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln
165 170 175
Trp Leu Lys His Ile Glu Val Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn
180 185 190
Leu Pro Tyr Val Gln Ile Leu Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp
195 200 205
Lys Glu Met Glu Val Leu His Leu Arg Asn Val Ser Phe Glu Asp Ala
210 215 220
Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His
225 230 235 240
Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu Glu Ala Leu Glu Glu Arg Pro Ala Val
245 250 255
Met Thr Ser Pro Leu Tyr Leu Glu Ile Ile Ile Tyr Cys Thr Gly Ala
260 265 270
Phe Leu Ile Ser Cys Met Val Gly Ser Val Ile Val Tyr Lys Met Lys
275 280 285
Ser Gly Thr Lys Lys Ser Asp Phe His Ser Gln Met Ala Val His Lys
290 295 300
Leu Ala Lys Ser Ile Pro Leu Arg Arg Gln Val Thr Val Ser Ala Asp
305 310 315 320
Ser Ser Ala Ser Met Asn Ser Gly Val Leu Leu Val Arg Pro Ser Arg
325 330 335
Leu Ser Ser Ser Gly Thr Pro Met Leu Ala Gly Val Ser Glu Tyr Glu
340 345 350
Leu Pro Glu Asp Pro Arg Trp Glu Leu Pro Arg Asp Arg Leu Val Leu

```
        355                 360                 365
Gly Lys Pro Leu Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Leu Ala Glu
    370                 375                 380
Ala Ile Gly Leu Asp Lys Asp Lys Pro Asn Arg Val Thr Lys Val Ala
385                 390                 395                 400
Val Lys Met Leu Lys Ser Asp Ala Thr Glu Lys Asp Leu Ser Asp Leu
                405                 410                 415
Ile Ser Glu Met Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys His Lys Asn Ile
            420                 425                 430
Ile Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Gln Asp Gly Pro Leu Tyr Val Ile
        435                 440                 445
Val Glu Tyr Ala Ser Lys Gly Asn Leu Arg Glu Tyr Leu Gln Ala Arg
    450                 455                 460
Arg Pro Pro Gly Leu Glu Tyr Cys Tyr Asn Pro Ser His Asn Pro Glu
465                 470                 475                 480
Glu Gln Leu Ser Ser Lys Asp Leu Val Ser Cys Ala Tyr Gln Val Ala
                485                 490                 495
Arg Gly Met Glu Tyr Leu Ala Ser Lys Lys Cys Ile His Arg Asp Leu
            500                 505                 510
Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Thr Glu Asp Asn Val Met Lys Ile Ala
        515                 520                 525
Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile His His Ile Asp Tyr Tyr Lys Lys
    530                 535                 540
Thr Thr Asn Gly Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu
545                 550                 555                 560
Phe Asp Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val
                565                 570                 575
Leu Leu Trp Glu Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Val
            580                 585                 590
Pro Val Glu Glu Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp
        595                 600                 605
Lys Pro Ser Asn Cys Thr Asn Glu Leu Tyr Met Met Met Arg Asp Cys
    610                 615                 620
Trp His Ala Val Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu
625                 630                 635                 640
Asp Leu Asp Arg Ile Val Ala Leu Thr Ser Asn Gln Glu Tyr Leu Asp
                645                 650                 655
Leu Ser Met Pro Leu Asp Gln Tyr Ser Pro Ser Phe Pro Asp Thr Arg
            660                 665                 670
Ser Ser Thr Cys Ser Ser Gly Glu Asp Ser Val Phe Ser His Glu Pro
        675                 680                 685
Leu Pro Glu Glu Pro Cys Leu Pro Arg His Pro Ala Gln Leu Ala Asn
    690                 695                 700
Gly Gly Leu Lys Arg Arg
705                 710
```

<210> 418
<211> 710
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> FGFR1 của chó (R22-E287) (Beta-IIIc), XP_005629909.1 dung hợp với FGFR1 của người (I286-R731, NP_075594)

<400> 418

```
Arg Pro Ala Pro Thr Leu Pro Glu Gln Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu
 1               5                  10                  15
Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp
            20                  25                  30
Asn Thr Lys Pro Asn Pro Val Ala Pro Tyr Trp Thr Ser Pro Glu Lys
        35                  40                  45
Met Glu Lys Lys Leu His Ala Val Pro Ala Ala Lys Thr Val Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Cys Pro Ser Ser Gly Thr Pro Asn Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys
65                  70                  75                  80
Asn Gly Lys Glu Phe Lys Pro Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val
                85                  90                  95
Arg Tyr Ala Thr Trp Ser Ile Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp
            100                 105                 110
Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Ile Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn
        115                 120                 125
His Thr Tyr Gln Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile
    130                 135                 140
Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn
145                 150                 155                 160
Val Glu Phe Met Cys Lys Val Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln
                165                 170                 175
Trp Leu Lys His Ile Glu Val Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn
            180                 185                 190
Leu Pro Tyr Val Gln Ile Leu Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp
        195                 200                 205
Lys Glu Met Glu Val Leu His Leu Arg Asn Val Ser Phe Glu Asp Ala
    210                 215                 220
Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His
225                 230                 235                 240
Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu Glu Ala Leu Glu Glu Arg Pro Ala Ala
                245                 250                 255
Met Thr Ser Pro Leu Tyr Leu Glu Ile Ile Ile Tyr Cys Thr Gly Ala
            260                 265                 270
Phe Leu Ile Ser Cys Met Val Gly Ser Val Ile Val Tyr Lys Met Lys
        275                 280                 285
Ser Gly Thr Lys Lys Ser Asp Phe His Ser Gln Met Ala Val His Lys
    290                 295                 300
Leu Ala Lys Ser Ile Pro Leu Arg Arg Gln Val Thr Val Ser Ala Asp
305                 310                 315                 320
Ser Ser Ala Ser Met Asn Ser Gly Val Leu Leu Val Arg Pro Ser Arg
                325                 330                 335
Leu Ser Ser Ser Gly Thr Pro Met Leu Ala Gly Val Ser Glu Tyr Glu
            340                 345                 350
Leu Pro Glu Asp Pro Arg Trp Glu Leu Pro Arg Asp Arg Leu Val Leu
        355                 360                 365
Gly Lys Pro Leu Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Leu Ala Glu
    370                 375                 380
Ala Ile Gly Leu Asp Lys Asp Lys Pro Asn Arg Val Thr Lys Val Ala
385                 390                 395                 400
```

```
Val Lys Met Leu Lys Ser Asp Ala Thr Glu Lys Asp Leu Ser Asp Leu
                405                 410                 415
Ile Ser Glu Met Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys His Lys Asn Ile
            420                 425                 430
Ile Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Gln Asp Gly Pro Leu Tyr Val Ile
        435                 440                 445
Val Glu Tyr Ala Ser Lys Gly Asn Leu Arg Glu Tyr Leu Gln Ala Arg
    450                 455                 460
Arg Pro Pro Gly Leu Glu Tyr Cys Tyr Asn Pro Ser His Asn Pro Glu
465                 470                 475                 480
Glu Gln Leu Ser Ser Lys Asp Leu Val Ser Cys Ala Tyr Gln Val Ala
                485                 490                 495
Arg Gly Met Glu Tyr Leu Ala Ser Lys Lys Cys Ile His Arg Asp Leu
            500                 505                 510
Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Thr Glu Asp Asn Val Met Lys Ile Ala
        515                 520                 525
Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile His His Ile Asp Tyr Tyr Lys Lys
    530                 535                 540
Thr Thr Asn Gly Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu
545                 550                 555                 560
Phe Asp Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val
                565                 570                 575
Leu Leu Trp Glu Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Val
            580                 585                 590
Pro Val Glu Glu Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp
        595                 600                 605
Lys Pro Ser Asn Cys Thr Asn Glu Leu Tyr Met Met Met Arg Asp Cys
    610                 615                 620
Trp His Ala Val Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu
625                 630                 635                 640
Asp Leu Asp Arg Ile Val Ala Leu Thr Ser Asn Gln Glu Tyr Leu Asp
                645                 650                 655
Leu Ser Met Pro Leu Asp Gln Tyr Ser Pro Ser Phe Pro Asp Thr Arg
            660                 665                 670
Ser Ser Thr Cys Ser Ser Gly Glu Asp Ser Val Phe Ser His Glu Pro
        675                 680                 685
Leu Pro Glu Glu Pro Cys Leu Pro Arg His Pro Ala Gln Leu Ala Asn
    690                 695                 700
Gly Gly Leu Lys Arg Arg
705                 710
```

<210> 419
<211> 710
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> FGFR1 của chuột cống(R22-E287) (Beta-IIIc), XP_006253387.1 dung hợp với FGFR1 của người (I286-R731, NP_075594)

<400> 419

```
Arg Pro Ala Pro Thr Leu Pro Glu Gln Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu
 1               5                  10                  15
```

```
Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp
            20                  25                  30
Asn Thr Lys Pro Asn Pro Val Ala Pro Tyr Trp Thr Ser Pro Glu Lys
        35                  40                  45
Met Glu Lys Lys Leu His Ala Val Pro Ala Ala Lys Thr Val Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Cys Pro Ser Ser Gly Thr Pro Ser Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys
65                  70                  75                  80
Asn Gly Lys Glu Phe Lys Pro Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val
                85                  90                  95
Arg Tyr Ala Thr Trp Ser Ile Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp
            100                 105                 110
Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Ile Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn
        115                 120                 125
His Thr Tyr Gln Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile
    130                 135                 140
Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn
145                 150                 155                 160
Val Glu Phe Met Cys Lys Val Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln
                165                 170                 175
Trp Leu Lys His Ile Glu Val Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn
            180                 185                 190
Leu Pro Tyr Val Gln Ile Leu Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp
        195                 200                 205
Lys Glu Met Glu Val Leu His Leu Arg Asn Val Ser Phe Glu Asp Ala
    210                 215                 220
Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His
225                 230                 235                 240
Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu Glu Ala Leu Glu Glu Arg Pro Ala Val
                245                 250                 255
Met Thr Ser Pro Leu Tyr Leu Glu Ile Ile Ile Tyr Cys Thr Gly Ala
            260                 265                 270
Phe Leu Ile Ser Cys Met Val Gly Ser Val Ile Val Tyr Lys Met Lys
        275                 280                 285
Ser Gly Thr Lys Lys Ser Asp Phe His Ser Gln Met Ala Val His Lys
    290                 295                 300
Leu Ala Lys Ser Ile Pro Leu Arg Arg Gln Val Thr Val Ser Ala Asp
305                 310                 315                 320
Ser Ser Ala Ser Met Asn Ser Gly Val Leu Leu Val Arg Pro Ser Arg
                325                 330                 335
Leu Ser Ser Ser Gly Thr Pro Met Leu Ala Gly Val Ser Glu Tyr Glu
            340                 345                 350
Leu Pro Glu Asp Pro Arg Trp Glu Leu Pro Arg Asp Arg Leu Val Leu
        355                 360                 365
Gly Lys Pro Leu Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val Val Leu Ala Glu
    370                 375                 380
Ala Ile Gly Leu Asp Lys Asp Lys Pro Asn Arg Val Thr Lys Val Ala
385                 390                 395                 400
Val Lys Met Leu Lys Ser Asp Ala Thr Glu Lys Asp Leu Ser Asp Leu
                405                 410                 415
Ile Ser Glu Met Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys His Lys Asn Ile
            420                 425                 430
Ile Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Gln Asp Gly Pro Leu Tyr Val Ile
        435                 440                 445
```

```
Val Glu Tyr Ala Ser Lys Gly Asn Leu Arg Glu Tyr Leu Gln Ala Arg
    450                 455                 460
Arg Pro Pro Gly Leu Glu Tyr Cys Tyr Asn Pro Ser His Asn Pro Glu
465                 470                 475                 480
Glu Gln Leu Ser Ser Lys Asp Leu Val Ser Cys Ala Tyr Gln Val Ala
                485                 490                 495
Arg Gly Met Glu Tyr Leu Ala Ser Lys Lys Cys Ile His Arg Asp Leu
            500                 505                 510
Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Thr Glu Asp Asn Val Met Lys Ile Ala
        515                 520                 525
Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile His His Ile Asp Tyr Tyr Lys Lys
    530                 535                 540
Thr Thr Asn Gly Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro Glu Ala Leu
545                 550                 555                 560
Phe Asp Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val
                565                 570                 575
Leu Leu Trp Glu Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr Pro Gly Val
            580                 585                 590
Pro Val Glu Glu Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His Arg Met Asp
        595                 600                 605
Lys Pro Ser Asn Cys Thr Asn Glu Leu Tyr Met Met Met Arg Asp Cys
    610                 615                 620
Trp His Ala Val Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln Leu Val Glu
625                 630                 635                 640
Asp Leu Asp Arg Ile Val Ala Leu Thr Ser Asn Gln Glu Tyr Leu Asp
                645                 650                 655
Leu Ser Met Pro Leu Asp Gln Tyr Ser Pro Ser Phe Pro Asp Thr Arg
            660                 665                 670
Ser Ser Thr Cys Ser Ser Gly Glu Asp Ser Val Phe Ser His Glu Pro
        675                 680                 685
Leu Pro Glu Glu Pro Cys Leu Pro Arg His Pro Ala Gln Leu Ala Asn
    690                 695                 700
Gly Gly Leu Lys Arg Arg
705                 710
```

<210> 420
<211> 713
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> FGFR1 của thỏ (R22-E288) (Beta-IIIc), XP_008272198.1 dung hợp với FGFR1 của người(I286-R731, NP_075594)

<400> 420

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

```
Val Lys Phe Lys Cys Pro Ser Ser Gly Thr Pro Asn Pro Thr Leu Arg
65                  70                  75                  80
Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu Phe Lys Pro Asp His Arg Ile Gly Gly
                85                  90                  95
Tyr Lys Val Arg Tyr Ala Thr Trp Ser Ile Ile Met Asp Ser Val Val
            100                 105                 110
Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Ile Val Glu Asn Glu Tyr Gly
        115                 120                 125
Ser Ile Asn His Thr Tyr Gln Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His
    130                 135                 140
Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala Asn Lys Thr Val Ala Leu
145                 150                 155                 160
Gly Ser Asn Val Glu Phe Met Cys Lys Val Tyr Ser Asp Pro Gln Pro
                165                 170                 175
His Ile Gln Trp Leu Lys His Ile Glu Val Asn Gly Ser Lys Ile Gly
            180                 185                 190
Pro Asp Asn Leu Pro Tyr Val Gln Ile Leu Lys Thr Ala Gly Val Asn
        195                 200                 205
Thr Thr Asp Lys Glu Met Glu Val Leu His Leu Arg Asn Val Ser Phe
    210                 215                 220
Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Leu
225                 230                 235                 240
Ser His His Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu Glu Ala Leu Glu Glu Arg
                245                 250                 255
Pro Ala Val Met Thr Ser Pro Leu Tyr Leu Glu Ile Ile Ile Tyr Cys
            260                 265                 270
Thr Gly Ala Phe Leu Ile Ser Cys Met Val Gly Ser Val Ile Val Tyr
        275                 280                 285
Lys Met Lys Ser Gly Thr Lys Lys Ser Asp Phe His Ser Gln Met Ala
    290                 295                 300
Val His Lys Leu Ala Lys Ser Ile Pro Leu Arg Arg Gln Val Thr Val
305                 310                 315                 320
Ser Ala Asp Ser Ser Ala Ser Met Asn Ser Gly Val Leu Leu Val Arg
                325                 330                 335
Pro Ser Arg Leu Ser Ser Ser Gly Thr Pro Met Leu Ala Gly Val Ser
            340                 345                 350
Glu Tyr Glu Leu Pro Glu Asp Pro Arg Trp Glu Leu Pro Arg Asp Arg
        355                 360                 365
Leu Val Leu Gly Lys Pro Leu Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val Val
    370                 375                 380
Leu Ala Glu Ala Ile Gly Leu Asp Lys Asp Lys Pro Asn Arg Val Thr
385                 390                 395                 400
Lys Val Ala Val Lys Met Leu Lys Ser Asp Ala Thr Glu Lys Asp Leu
                405                 410                 415
Ser Asp Leu Ile Ser Glu Met Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys His
            420                 425                 430
Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Gln Asp Gly Pro Leu
        435                 440                 445
Tyr Val Ile Val Glu Tyr Ala Ser Lys Gly Asn Leu Arg Glu Tyr Leu
    450                 455                 460
Gln Ala Arg Arg Pro Pro Gly Leu Glu Tyr Cys Tyr Asn Pro Ser His
465                 470                 475                 480
Asn Pro Glu Glu Gln Leu Ser Ser Lys Asp Leu Val Ser Cys Ala Tyr
                485                 490                 495
```

```
Gln Val Ala Arg Gly Met Glu Tyr Leu Ala Ser Lys Lys Cys Ile His
            500                 505                 510
Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Thr Glu Asp Asn Val Met
        515                 520                 525
Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile His His Ile Asp Tyr
    530                 535                 540
Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro
545                 550                 555                 560
Glu Ala Leu Phe Asp Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser
                565                 570                 575
Phe Gly Val Leu Leu Trp Glu Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr
            580                 585                 590
Pro Gly Val Pro Val Glu Glu Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His
        595                 600                 605
Arg Met Asp Lys Pro Ser Asn Cys Thr Asn Glu Leu Tyr Met Met Met
    610                 615                 620
Arg Asp Cys Trp His Ala Val Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln
625                 630                 635                 640
Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg Ile Val Ala Leu Thr Ser Asn Gln Glu
                645                 650                 655
Tyr Leu Asp Leu Ser Met Pro Leu Asp Gln Tyr Ser Pro Ser Phe Pro
            660                 665                 670
Asp Thr Arg Ser Ser Thr Cys Ser Ser Gly Glu Asp Ser Val Phe Ser
        675                 680                 685
His Glu Pro Leu Pro Glu Glu Pro Cys Leu Pro Arg His Pro Ala Gln
    690                 695                 700
Leu Ala Asn Gly Gly Leu Lys Arg Arg
705                 710
```

<210> 421
<211> 465
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hIgK alpha-KLH VH mIgG1

```
<400> 421
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1               5                  10                  15
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
            20                  25                  30
Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
        35                  40                  45
Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr His Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
    50                  55                  60
Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr
65                  70                  75                  80
Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr
                85                  90                  95
Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp
            100                 105                 110
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Gly Ser Tyr Tyr Trp Phe
```

```
        115                 120                 125
Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr
    130                 135                 140
Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr
145                 150                 155                 160
Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu
                165                 170                 175
Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His
            180                 185                 190
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser
        195                 200                 205
Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn
    210                 215                 220
Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro
225                 230                 235                 240
Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser
                245                 250                 255
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr
            260                 265                 270
Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp
        275                 280                 285
Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr
    290                 295                 300
Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser
305                 310                 315                 320
Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
                325                 330                 335
Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys
            340                 345                 350
Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr
        355                 360                 365
Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr
    370                 375                 380
Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln
385                 390                 395                 400
Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met
                405                 410                 415
Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys
            420                 425                 430
Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu
        435                 440                 445
Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly
    450                 455                 460
Lys
465
```

<210> 422
<211> 471
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hIgK alpha-KLH VH mIgG2-alpha

<400> 422
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
20 25 30
Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
35 40 45
Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr His Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
50 55 60
Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr
65 70 75 80
Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr
85 90 95
Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp
100 105 110
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Gly Ser Tyr Tyr Trp Phe
115 120 125
Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr
130 135 140
Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr
145 150 155 160
Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu
165 170 175
Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His
180 185 190
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser
195 200 205
Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn
210 215 220
Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro
225 230 235 240
Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro
245 250 255
Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys
260 265 270
Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val
275 280 285
Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn
290 295 300
Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr
305 310 315 320
Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp
325 330 335
Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu
340 345 350
Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg
355 360 365
Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys
370 375 380
Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp
385 390 395 400
Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys
405 410 415

```
Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser
            420                 425                 430
Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser
        435                 440                 445
Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser
    450                 455                 460
Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
465                 470
```

<210> 423
<211> 236
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hIgK alpha-KLH VL mKappa

```
<400> 423
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1               5                  10                  15
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
            20                  25                  30
Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
        35                  40                  45
Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val
65                  70                  75                  80
Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
                85                  90                  95
Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
            100                 105                 110
His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
        115                 120                 125
Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser
    130                 135                 140
Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn
145                 150                 155                 160
Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu
                165                 170                 175
Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp
            180                 185                 190
Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr
        195                 200                 205
Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr
    210                 215                 220
Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
225                 230                 235
```

<210> 424
<211> 471
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hIgK-KLH-(VH)-hIgG1(E233A)(L235A)

<400> 424

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

```
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
385                 390                 395                 400
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
                405                 410                 415
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
            420                 425                 430
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
        435                 440                 445
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
    450                 455                 460
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465                 470


<210> 425
<211> 236
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> hIgK-KLH-(VL)-hIgK

<400> 425
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1                  5                  10                  15
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
            20                  25                  30
Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
        35                  40                  45
Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val
65                  70                  75                  80
Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
                85                  90                  95
Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln
            100                 105                 110
His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
        115                 120                 125
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
    130                 135                 140
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145                 150                 155                 160
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
                165                 170                 175
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
            180                 185                 190
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
        195                 200                 205
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
    210                 215                 220
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225                 230                 235
```

<210> 426
<211> 264
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Ví dụ về vùng ngoại bào của FGFR1c
(beta-IIIc, NP_075594)

<400> 426
Arg Pro Ser Pro Thr Leu Pro Glu Gln Asp Ala Leu Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15
Asp Asp Asp Asp Asp Asp Asp Ser Ser Ser Glu Glu Lys Glu Thr Asp
20 25 30
Asn Thr Lys Pro Asn Pro Val Ala Pro Tyr Trp Thr Ser Pro Glu Lys
35 40 45
Met Glu Lys Lys Leu His Ala Val Pro Ala Ala Lys Thr Val Lys Phe
50 55 60
Lys Cys Pro Ser Ser Gly Thr Pro Asn Pro Thr Leu Arg Trp Leu Lys
65 70 75 80
Asn Gly Lys Glu Phe Lys Pro Asp His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val
85 90 95
Arg Tyr Ala Thr Trp Ser Ile Ile Met Asp Ser Val Val Pro Ser Asp
100 105 110
Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Ile Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn
115 120 125
His Thr Tyr Gln Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile
130 135 140
Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala Asn Lys Thr Val Ala Leu Gly Ser Asn
145 150 155 160
Val Glu Phe Met Cys Lys Val Tyr Ser Asp Pro Gln Pro His Ile Gln
165 170 175
Trp Leu Lys His Ile Glu Val Asn Gly Ser Lys Ile Gly Pro Asp Asn
180 185 190
Leu Pro Tyr Val Gln Ile Leu Lys Thr Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp
195 200 205
Lys Glu Met Glu Val Leu His Leu Arg Asn Val Ser Phe Glu Asp Ala
210 215 220
Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Leu Ser His His
225 230 235 240
Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu Glu Ala Leu Glu Glu Arg Pro Ala Val
245 250 255
Met Thr Ser Pro Leu Tyr Leu Glu
260

<210> 427
<211> 354
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Ví dụ về vùng ngoại bào của FGFR1c

(Alpha-IIIc, NP_056934)

<400> 427

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

<210> 428
<211> 630
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> FGF21 chiều dài đầy đủ, NM_019113.2

<400> 428
atggactcgg acgagaccgg gttcgagcac tcaggactgt gggtttctgt gctggctggt 60
cttctgctgg gagcctgcca ggcacacccc atccctgact ccagtcctct cctgcaattc 120
gggggccaag tccggcagcg gtacctctac acagatgatg cccagcagac agaagcccac 180
ctggagatca gggaggatgg gacggtgggg ggcgctgctg accagagccc cgaaagtctc 240
ctgcagctga aagccttgaa gccgggagtt attcaaatct tgggagtcaa gacatccagg 300
ttcctgtgcc agcggccaga tggggccctg tatggatcgc tccactttga ccctgaggcc 360
tgcagcttcc gggagctgct tcttgaggac ggatacaatg tttaccagtc cgaagcccac 420
ggcctcccgc tgcacctgcc agggaacaag tccccacacc gggaccctgc accccgagga 480
ccagctcgct tcctgccact accaggcctg ccccccgcac tcccggagcc acccggaatc 540
ctggcccccc agccccccga tgtgggctcc tcggaccctc tgagcatggt gggaccttcc 600
cagggccgaa gccccagcta cgcttcctga 630

<210> 429
<211> 209
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> FGF21 chiều dài đầy đủ, NP_061986.1

<400> 429
Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
 1   5   10   15
Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
            20   25   30
Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
        35   40   45
Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
    50   55   60
Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
65   70   75   80
Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
                85   90   95
Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
            100   105   110
Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
        115   120   125
Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
    130   135   140
His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
145   150   155   160
Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu
                165   170   175
Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
            180   185   190
Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
        195   200   205
Ser

<210> 430
<211> 124
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH SEQ ID NO: 68 trong công bố đơn Patent Mỹ số 20110135657

<400> 430
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Ala
20 25 30
Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
50 55 60
Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val
65 70 75 80
Val Leu Ile Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Ser Val Val Thr Gly Gly Tyr Tyr Tyr Asp Gly Met Asp
100 105 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 431
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> VH SEQ ID NO: 50 trong công bố đơn Patent Mỹ số 20110135657

<400> 431
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Glu Ser Val
20 25 30
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Gly Asn Ser Asp His
85 90 95
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105