



(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)



1-0036115

(51)⁷ C07K 16/28; A61K 39/395

(13) B

(21) 1-2018-05891

(22) 26/05/2017

(86) PCT/US2017/034681 26/05/2017

(87) WO2017/205742 30/11/2017

(30) 62/342,417 27/05/2016 US

(45) 26/06/2023 423

(43) 25/04/2019 373A

(73) ABBVIE BIOTHERAPEUTICS INC. (US)

1500 Seaport Boulevard, Redwood City, California 94063, United States of America

(72) HOLLENBAUGH, Diane (US); YE, Shiming (US); COHEN, Diane Sau Mun (US).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) KHÁNG THỂ KHÁNG CD40, DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY, VÀ
AXIT NUCLEIC CHỨA TRÌNH TỰ NUCLEOTIT MÃ HÓA KHÁNG THỂ NÀY

(57) Sáng chế đề xuất kháng thể kháng CD40, dược phẩm chứa kháng thể này, axit nucleic mã hóa kháng thể, và phương pháp tạo ra chúng.

Thụ thể CD40 (SEQ ID NO:40) (từ EMBO J, 8(5), 1403-1410 (1989))

10	20	30	40	50
MVRLPLQCVL	WGCLLTAVHP	EPPTACREKQ	YLINSQCCSL	CQPGQKLVSD
60	70	80	90	100
CTEPTETECL	PCGESEFLDT	WNRETHCHQH	KYCDPNLGLR	VQQKGTSSTD
110	120	130	140	150
TICTCEEGWH	CTSEACESCV	LHRSCSPGFG	VKQIATGVSD	TICEPCPVGF
160	170	180	190	200
FSNVSSAPEK	CHPWTSCETK	DLVVQQAGTN	KTDVVCQPQD	RLRALVVIPI
210	220	230	240	250
IFGILFAILL	VLVFIKKVAK	KPTNKAPHPK	QEPQEINFPD	DLPGSNTAAP
260	270			
VQETLHGCQP	VTQEDGKESR	ISVQERQ		

Phối tử CD40 (SEQ ID NO:41) (từ FEBS Letters, 315 (3), 259-266 (1993))

10	20	30	40	50
MIETYNQTSP	RSAATGLPIS	MKIPMYLLTV	FLITQMIGSA	LPAVYLHRRRL
60	70	80	90	100
DKIEDERNLH	EDFVFMKTIQ	RCNTGERSLS	LLNCEEIKSQ	FEGFVKDIML
110	120	130	140	150
NKEETKKENS	FEMQKGDQNP	QIAAHVISEA	SSKTTSVLQW	AEKGYYTMSN
160	170	180	190	200
NLVTLENGKQ	LTVKRQGLYY	IYAQVTFCSN	REASSQAPFI	ASLCLKSPGR
210	220	230	240	250
FERILLRAAN	THSSAKPCGQ	QSIHLGGVFE	LQPGASVFN	VTDPQSQVSHG
260				
TGFTSPGLLK	L			

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến, trong số những cái khác, kháng thể kháng CD40 mới, hợp phần bao gồm kháng thể mới này, axit nucleic mã hóa kháng thể này, và phương pháp tạo ra và sử dụng chúng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các trị liệu ung thư có chứa nhiều loại phương pháp trị liệu, bao gồm phẫu thuật, xạ trị, và hóa trị liệu. Mặc dù các phương pháp khác nhau cho phép chọn lựa rộng rãi các điều trị sẵn có đối với người hành nghề y tế để điều trị ung thư, các liệu pháp hiện tại chịu một số nhược điểm, chẳng hạn như thiếu tính chọn lọc tế bào ung thư đích so với các tế bào bình thường, khỏe mạnh, và sự phát triển tính kháng bởi ung thư đối với việc điều trị.

Các phương pháp gần đây dựa trên các trị liệu hướng đích, mà gây trở ngại cho các quy trình tế bào của tế bào ung thư ưu tiên hơn so với tế bào bình thường, đã dẫn đến các phác đồ hóa trị liệu có ít tác dụng phụ hơn khi so với các trị liệu không hướng đích chẳng hạn như điều trị xạ trị.

Trị liệu miễn dịch ung thư, cụ thể là sự phát triển của chất hoạt hóa tế bào T của hệ miễn dịch của vật chủ để ngăn ngừa sự tăng sinh của tế bào ung thư hoặc để tiêu diệt tế bào ung thư, nổi bật là phương pháp trị liệu hứa hẹn để bổ sung các tiêu chuẩn chăm sóc hiện tại. Xem tài liệu, ví dụ, Miller, et al. *Cancer Cell*, 27, 439-449 (2015). Phương pháp trị liệu miễn dịch này bao gồm sự phát triển của các kháng thể được sử dụng để điều biến hệ miễn dịch để tiêu diệt tế bào ung thư. Ví dụ, các kháng thể phong bế kháng PD-1 pembrolizumab (Keytruda®) và nivolumab (Opdivo®) đã được phê chuẩn ở Mỹ và Liên Minh Châu Âu để điều trị bệnh chẳng hạn như u melanin không thể cắt bỏ hoặc di căn và ung thư phổi tế bào không nhỏ di căn. Các nỗ lực để ức chế protein kìm hãm miễn dịch chẳng hạn như CTLA-4 đã dẫn đến sự phát triển và đánh giá lâm sàng của kháng thể kháng CTLA-4, chẳng hạn như tremelimumab và ipilimumab (Yervoy®).

Vẫn cần có các phương pháp thay thế và điều trị ung thư khác để bổ sung các tiêu chuẩn trị liệu chăm sóc hiện tại.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

CD40 ở người (SEQ ID NO:40) là thành viên siêu họ thụ thể yếu tố hoại tử khối u (tumor necrosis factor - TNF) (thành viên siêu họ TNF 5) được biểu hiện trên tế bào trình diện kháng nguyên chẳng hạn như tế bào B, tế bào dạng tua (dendritic cell - DC), và bạch cầu đơn nhân, và tế bào không miễn dịch, bao gồm các loại nhất định của tế bào khối u. Khi được hoạt hóa bởi phối tử CD40 ở người (SEQ ID NO:41), CD40 ở người hoạt hóa tế bào trình diện kháng nguyên và gây ra đáp ứng từ cả hệ miễn dịch bẩm sinh và hệ miễn dịch thích ứng. Chất CD40 chủ vận có thể được sử dụng để gây cảm ứng hệ miễn dịch để ngăn ngừa sự tăng sinh của tế bào khối u và/hoặc để tiêu diệt tế bào khối u, và do đó tạo ra sự điều trị trị liệu hữu hiệu của khối u rắn.

Sáng chế đề xuất kháng thể kháng CD40 và mảnh liên kết của chúng mà liên kết đặc hiệu với CD40 ở người (SEQ ID NO:40). Trình tự axit amin của các CDR ví dụ, cũng như là trình tự axit amin của các vùng V_H và V_L của các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể kháng CD40 ví dụ được đề xuất trong phần Mô Tả Chi Tiết Sáng Chế dưới đây.

Chuỗi V_H và V_L của kháng thể kháng CD40 được mô tả trong bản mô tả này đủ khả năng đáp ứng thụ thể chủ vận dị lập thể mà có thể hoạt hóa CD40 ở người khi có mặt hoặc không có mặt phối tử CD40 (CD40L), mà không cạnh tranh với tương tác liên kết CD40L-CD40. Hơn nữa, các kháng thể kháng CD40 này, bằng cách tương tác với CD40, có thể tăng cường liên kết CD40L với CD40.

Kháng thể kháng CD40 có thể bao gồm cải biến và/hoặc đột biến mà làm thay đổi tính chất của kháng thể, chẳng hạn như làm tăng thời gian bán thải, làm tăng hoặc làm giảm ADCC, hoặc làm tăng hoạt tính chủ vận, như đã biết trong lĩnh vực.

Axit nucleic có chứa trình tự nucleotit mã hóa kháng thể kháng CD40 theo sáng chế được đề xuất trong bản mô tả này, như là vật truyền có chứa axit nucleic. Ngoài ra, tế bào chủ nhân sơ và nhân chuẩn được biến nạp bằng vật truyền có chứa trình tự nucleotit mã hóa kháng thể kháng CD40 được bộc lộ được đề xuất trong bản mô tả này, cũng như là tế bào chủ nhân chuẩn (chẳng hạn như động vật có vú) được thiết kế để biểu

hiện các trình tự nucleotit. Phương pháp sản xuất kháng thể, bằng cách nuôi cấy tế bào chủ và thu hồi kháng thể cũng được đề xuất, và được thảo luận thêm trong phần Mô Tả Chi Tiết Sáng Chế dưới đây.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp phần bao gồm kháng thể kháng CD40 được mô tả trong bản mô tả này. Hợp phần thường có chứa một hoặc nhiều kháng thể kháng CD40 như được mô tả trong bản mô tả này, và/hoặc muối của chúng, và một hoặc nhiều tá dược, chất mang hoặc chất pha loãng.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị đối tượng, chẳng hạn như đối tượng là người, được chẩn đoán có khối u rắn bằng kháng thể kháng CD40. Phương pháp này thường bao gồm việc dùng cho đối tượng hàm lượng kháng thể kháng CD40 được mô tả trong bản mô tả này hữu hiệu để mang lại lợi ích trị liệu. Đối tượng có thể được chẩn đoán có khối u rắn bất kỳ trong một số các khối u rắn mà có thể mới được chẩn đoán, tái phát, hoặc tái phát và khó chữa. Kháng thể kháng CD40 thường được dùng dưới dạng truyền trong tĩnh mạch hoặc tiêm trong khối u ở các liều lượng nằm trong khoảng từ khoảng 0,001 mg/kg đến khoảng 4 mg/kg. Kháng thể kháng CD40 thường được dùng dưới dạng truyền trong tĩnh mạch hoặc tiêm trong khối u hai lần một tuần, một lần một tuần, hai tuần một lần, ba tuần một lần, bốn tuần một lần, năm tuần một lần, sáu tuần một lần, bảy tuần một lần, hoặc tám tuần một lần.

Kháng thể kháng CD40 có thể được dùng dưới dạng chất trị liệu đơn lẻ (đơn trị liệu) hoặc thường bổ trợ cho hoặc với các chất trị liệu khác, nhưng không nhất thiết, các chất đó được sử dụng để điều trị khối u rắn. Chất trị liệu thường sẽ được sử dụng ở liều lượng, đường dùng, và tần suất dùng đã được phê chuẩn của chúng, nhưng có thể được sử dụng ở liều lượng thấp hơn.

Kháng thể kháng CD40 có thể được dùng thông qua nhiều dạng đường dùng hoặc phương thức dùng, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, truyền và/hoặc tiêm trong tĩnh mạch, tiêm dưới da, và tiêm trong khối u. Liều được dùng sẽ phụ thuộc vào đường dùng, phác đồ dùng liều lượng, loại ung thư đang được điều trị, giai đoạn ung thư đang được điều trị, và các tham số khác chẳng hạn như độ tuổi và khối lượng của bệnh nhân, như được biết rõ trong lĩnh vực. Phác đồ dùng liều lượng ví dụ cụ thể được mong chờ mang lại lợi ích trị liệu được đề xuất trong phần Mô Tả Chi Tiết Sáng Chế.

Dựa trên dữ liệu được thể hiện trong bản mô tả này, điều mong đợi là kháng thể kháng CD40 được mô tả trong bản mô tả này sẽ mang lại lợi ích trị liệu cho đối tượng được chẩn đoán có khối u rắn.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

HÌNH 1 thể hiện trình tự axit amin của thụ thể CD40 ở người (SEQ ID NO:40) và phối tử CD40 ở người (SEQ ID NO:41).

Các HÌNH 2A-2G cung cấp các trình tự axit amin đối với V_H và V_L của các kháng thể kháng CD40 ở chuột hoặc được làm cho giống người ví dụ. HÌNH 2A thể hiện trình tự axit amin V_H và V_L đối với muAb1 đến muAb3; HÌNH 2B thể hiện trình tự axit amin V_H và V_L đối với muAb4 đến muAb7; HÌNH 2C thể hiện trình tự axit amin V_H và V_L đối với muAb8 đến muAb10; HÌNH 2D thể hiện trình tự axit amin V_H và V_L đối với kháng thể được làm cho giống người của muAb6 và muAb8; HÌNH 2E thể hiện trình tự axit amin V_H và V_L đối với kháng thể được làm cho giống người của muAb8 và muAb9; HÌNH 2F thể hiện trình tự axit amin V_H và V_L đối với kháng thể được làm cho giống người khác của muAb9; và HÌNH 2G thể hiện trình tự axit amin V_H và V_L đối với kháng thể được làm cho giống người bổ sung của muAb9.

HÌNH 3 cung cấp các kết quả của các thí nghiệm cạnh tranh trên CD40 ở người giữa CD40L và kháng thể kháng CD40 ví dụ. Bên trái phía trên thể hiện các kháng thể kháng CD40 ví dụ cạnh tranh với CD40L; bên phải phía trên thể hiện các kháng thể cạnh tranh không đáng kể với CD40L; bên trái phía dưới thể hiện các kháng thể tăng cường sự tương tác CD40-CD40L; bên phải phía dưới thể hiện các tác dụng của kháng thể kháng CD40 huAb9 A2I và CP-870,893. Trục y biểu diễn mật độ quang (optical density - OD) ở bước sóng 650 nm; trục x biểu diễn liều lượng kháng thể ("Mẫu") theo $\mu\text{g/ml}$.

HÌNH 4 thể hiện sự liên kết của CD40 ở người liên hợp chất phát huỳnh quang ở nồng độ đã điều chỉnh bằng 1 $\mu\text{g/ml}$ trên tế bào Jurkat biểu hiện CD40L ở người khi có mặt của hàm lượng tăng của kháng thể huAb9 A2I, CP-870,893, phân lớp IgG₁ ở người ("huIgG1") hoặc phân lớp IgG₂ ở người ("huIgG2"). Trục y biểu diễn cường độ phát huỳnh quang trung bình ("mean fluorescence intensity - MFI") thể hiện sự liên kết; trục x biểu diễn liều lượng kháng thể ("Mẫu") theo $\mu\text{g/ml}$.

Các HÌNH 5A-5B thể hiện các tác dụng của liều lượng kháng thể ("Mẫu") ở 3 $\mu\text{g/ml}$ hoặc chỉ có môi trường lên tín hiệu NF κ B từ tế bào báo cáo HEK293 blue CD40 NF κ B được trộn với tế bào Jurkat D1.1 (tỉ lệ 1:1). Kháng thể huAb9 A2I, CP-870,893, phân lớp IgG₁ ở người ("huIgG1") hoặc phân lớp IgG₂ ở người ("huIgG2"), hoặc chỉ có môi trường, được thêm vào mẫu riêng lẻ. HÌNH 5A biểu diễn tín hiệu NF κ B ở môi trường nuôi cấy chứa tế bào Jurkat D1.1 CD40L âm ("CD40L-"). HÌNH 5B biểu diễn tín hiệu NF κ B ở môi trường nuôi cấy chứa tế bào Jurkat D1.1 CD40L dương ("CD40L+"). Trục y biểu diễn OD ở bước sóng 625 nm; trục x biểu diễn việc điều trị có kháng thể hoặc chỉ có môi trường ("Mẫu").

Các HÌNH 6A-6B thể hiện sự liên kết của liều lượng kháng thể ("Mẫu") theo $\mu\text{g/ml}$ của huAb9-5 với huIgG₁ kiểu đại, hoặc với biến thể V273Y hoặc V273E, hoặc CP-870,893, ở tế bào CHO biểu hiện CD16F, CD16V, CD32a, CD32b, hoặc CD64. HÌNH 6A thể hiện sự liên kết của kháng thể kháng CD40 lên tế bào CHO biểu hiện CD16F (bên trái phía trên), CD16V (bên phải phía trên), CD32a (bên trái phía dưới), hoặc CD32b (bên phải phía dưới). HÌNH 6B thể hiện sự liên kết của kháng thể kháng CD40 lên tế bào CHO biểu hiện CD64. Trục y biểu diễn cường độ phát huỳnh quang trung bình (MFI) thể hiện sự liên kết; trục x biểu diễn liều lượng kháng thể ("Mẫu") theo $\mu\text{g/ml}$.

HÌNH 7 thể hiện tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity - ADCC) của biến thể vùng không đổi V273E hoặc V273Y đối với kháng thể huAb9-5 khi so với huAb9-5 với IgG₁ ở người kiểu đại ở tế bào RL. Trục y biểu diễn tỉ lệ phần trăm tính gây gộc tế bào ở tế bào RL; trục x biểu diễn liều lượng kháng thể ("Mẫu") theo $\mu\text{g/ml}$.

HÌNH 8 thể hiện tác dụng của kháng thể huAb6-1 (bên trái phía trên), huAb9-5 (bên trái phía dưới), huAb8-1 (bên phải phía trên) với IgG ở người₁ kiểu đại, hoặc biến thể vùng không đổi V273E hoặc V273Y, lên sự tăng sinh tế bào B. Đồ thị bên phải phía dưới thể hiện tác dụng sự tăng sinh tế bào B của huAb9 A2I với biến thể V273E IgG₁ ở người hoặc CP-870,893. Trục y biểu diễn sự tăng sinh tế bào B theo số đếm trên phút (counts per minute - CPM); trục x biểu diễn liều lượng kháng thể ("Mẫu") theo $\mu\text{g/ml}$.

HÌNH 9 thể hiện tác dụng của kháng thể huAb6-1 (bên trái phía trên), huAb9-5 (bên trái phía dưới) và huAb8-1 (bên phải phía trên) với IgG₁ ở người kiểu đại, hoặc biến thể vùng không đổi V273E hoặc V273Y, lên sự hoạt hóa tế bào dạng tua (DC) như được đo bởi sản phẩm IL-12p70 theo pg/ml. Đồ thị bên phải phía dưới thể hiện sự hoạt hóa DC của huAb9 A2I với biến thể V273E IgG₁ ở người hoặc CP-870,893. Trục y biểu diễn IL-12p70 theo pg/ml; trục x biểu diễn liều lượng kháng thể ("Mẫu") theo µg/ml.

HÌNH 10 thể hiện tác dụng của biến thể V273Y của huAb6-1, huAb8-1, hoặc huAb9-5 lên đồng môi trường nuôi cấy tế bào DC và tế bào T như được đo bởi sản phẩm interferon-gamma (IFN-γ) theo pg/ml.

HÌNH 11 thể hiện tác dụng của kháng thể huAb6-1 (phía trên), huAb9-5 (ở giữa) hoặc huAb9 A2I (phía dưới) trên thể tích khối u (mm³) ở mẫu chuột PC3 phòng ngừa.

HÌNH 12 thể hiện tác dụng in vivo sau khi phân phối trong khối u (intratumoral - IT) hoặc trong màng bụng (intraperitoneal - IP) kháng thể kháng CD40 1C10, hoặc phân lớp mIgG1, ở mẫu chuột mang khối u cùng gen CT26 được thiết lập song phương. Liều lượng IT được dùng cho một khối u ở một bên sườn, mà không tiêm vào khối u ở sườn kia.

HÌNH 13 thể hiện tác dụng trên thể tích khối u (mm³) sau khi dùng liều hai lần một tuần của kháng thể kháng CD40 1C10 ở 0,6 mg/kg, kháng thể kháng PD-1 ở 10 mg/kg, hoặc trị liệu kết hợp của cả hai 1C10 và kháng thể kháng PD-1 ở mẫu cùng gen ở chuột CT26.

HÌNH 14 thể hiện mức độ ALT (bên trái phía trên), TNFα ("TNFα", bên trái phía dưới), hoặc IL-6 (bên phải phía dưới) 24 giờ sau khi dùng liều kháng thể kháng CD40 1C10 ("kháng CD40"), kháng thể kháng PD-1 ("kháng PD-1") hoặc trị liệu kết hợp ("kháng CD40 + kháng PD-1") ở mẫu cùng gen ở chuột CT26. Đồ thị bên phải phía trên thể hiện khối lượng lá lách 4 ngày sau dùng liều lượng.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến đến kháng thể và mảnh mà liên kết đặc hiệu CD40 ở người (SEQ ID NO:40), hợp phần có chứa kháng thể, polynucleotit mã hóa kháng thể kháng CD40, tế bào chủ có khả năng tạo ra kháng thể, phương pháp và hợp phần hữu dụng để tạo kháng thể và mảnh liên kết, và các phương pháp khác nhau để sử dụng chúng.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực hiểu rõ rằng, kháng thể là "khối kết cấu" trong tự nhiên. Trong toàn bộ sáng chế, các phương án cụ thể khác nhau về các "kết cấu" khác nhau gồm có kháng thể được mô tả. Theo các ví dụ không làm giới hạn cụ thể, các phương án cụ thể khác nhau về các CDR V_H , chuỗi V_H , CDR V_L và chuỗi V_L được mô tả. Dự định rằng tất cả các phương án cụ thể có thể được kết hợp với nhau như thể mỗi dạng kết hợp cụ thể được mô tả rõ ràng một cách riêng lẻ.

Các chữ viết tắt

Kháng thể, mảnh liên kết, ADC và polynucleotit được mô tả trong bản mô tả này, theo nhiều phương án, được mô tả theo trình tự polypeptit hoặc trình tự polynucleotit tương ứng. Trừ khi có các chỉ dẫn khác, trình tự polypeptit được tạo ra theo chiều từ N→C ; trình tự polynucleotit theo chiều từ 5'→3'. Đối với trình tự polypeptit, chữ viết tắt ba hoặc một chữ cái thông thường đối với các axit amin được mã hóa di truyền có thể được sử dụng, như nêu trong BẢNG 1, dưới đây.

BẢNG 1		
Chữ Viết Tắt Axit Amin Được Mã Hóa		
Axit Amin	Viết Tắt Ba Chữ Cái	Viết Tắt Một Chữ Cái
Alanin	Ala	A
Arginin	Arg	R
Asparagin	Asn	N
Axit aspartic	Asp	D
Xystein	Cys	C
Axit glutamic	Glu	E
Glutamin	Gln	Q
Glyxin	Gly	G
Histidin	His	H

BẢNG 1		
Chữ Viết Tắt Axit Amin Được Mã Hóa		
Axit Amin	Viết Tắt Ba Chữ Cái	Viết Tắt Một Chữ Cái
Isoloxin	Ile	I
Loxin	Leu	L
Lysin	Lys	K
Methionin	Met	M
Phenylalanin	Phe	F
Prolin	Pro	P
Serin	Ser	S
Threonin	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosin	Tyr	Y
Valin	Val	V

Các trình tự nhất định được xác định theo công thức cấu trúc đặc hiệu cho các gốc axit amin thuộc vào các loại nhất định (ví dụ, béo, kỵ nước, v.v.). Các loại khác nhau mà axit amin được mã hóa di truyền thuộc vào như được sử dụng trong bản mô tả này được lưu ý trong BẢNG 2, dưới đây. Một số axit amin có thể thuộc vào nhiều hơn một loại. Xystein, chứa nhóm sulfhydryl, và prolin, bị ràng buộc về hình dạng, không được xếp vào các loại này.

BẢNG 2	
Các Loại Axit Amin Được Mã Hóa	
Loại	Axit Amin
Béo	A, I, L, V

BẢNG 2	
Các Loại Axit Amin Được Mã Hóa	
Loại	Axit Amin
Thơm	F, Y, W
Không Phân Cực	M, A, I, L, V
Phân Cực	N, Q, S, T
Bazơ	H, K, R
Axit	D, E
Nhỏ	A, G

Các chữ viết tắt được sử dụng cho các kháng thể ví dụ khác nhau được bộc lộ trong bản mô tả này được cung cấp trong BẢNG 3, dưới đây:

BẢNG 3						
Chữ Viết Tắt Kháng Thể						
Dòng/Tên	Chữ viết tắt	Trình Tự V _H (các HÌNH 2A-2G)			Trình tự V _L (các HÌNH 2A-2G)	
AD163,9.3	muAb1	muAb1 V _H	SEQ	ID	muAb1 V _L	SEQ ID
			NO:101			NO:151
AD166,4.4	muAb2	muAb2 V _H	SEQ	ID	muAb2 V _L	SEQ ID
			NO:102			NO:152
AD175,14,11	muAb3	muAb3 V _H	SEQ	ID	muAb3 V _L	SEQ ID
			NO:103			NO:153
AD163,10,7	muAb4	muAb4 V _H	SEQ	ID	muAb4 V _L	SEQ ID
			NO:104			NO:154

BẢNG 3						
Chữ Viết Tắt Kháng Thể						
Dòng/Tên	Chữ viết tắt	Trình Tự V _H (các HÌNH 2A-2G)			Trình tự V _L (các HÌNH 2A-2G)	
AD165,1.2	muAb5	muAb5 V _H	SEQ	ID	muAb5 V _L	SEQ ID NO:105 NO:155
AD163,162,1	muAb6	muAb6 V _H	SEQ	ID	muAb6 V _L	SEQ ID NO:106 NO:156
AD163,27,12	muAb7	muAb6 V _H	SEQ	ID	muAb7 V _L	SEQ ID NO:106 NO:157
AD163,7.2	muAb8	muAb8 V _H	SEQ	ID	muAb8 V _L	SEQ ID NO:107 NO:158
AD164,14,6	muAb9	muAb9 V _H	SEQ	ID	muAb9 V _L	SEQ ID NO:108 NO:159
AD164,76,3	muAb10	muAb10 V _H	SEQ	ID	muAb10 V _L	SEQ ID NO:109 NO:160
muAb6 #1 được làm cho giống người	huAb6-1	huAb6-1 V _H	SEQ	ID	huAb6-1 V _L	SEQ ID NO:110 NO:161
muAb6 #2 được làm cho giống người	huAb6-2	huAb6-2 V _H	SEQ	ID	huAb6-1 V _L	SEQ ID NO:111 NO:161
muAb6 #3 được làm cho giống người	huAb6-3	huAb6-3 V _H	SEQ	ID	huAb6-1 V _L	SEQ ID NO:112 NO:161
muAb8 #1 được làm cho giống người	huAb8-1	huAb8-1 V _H	SEQ	ID	huAb8-1 V _L	SEQ ID NO:113 NO:162

BẢNG 3					
Chữ Viết Tắt Kháng Thể					
Dòng/Tên	Chữ viết tắt	Trình Tự V _H (các HÌNH 2A-2G)		Trình tự V _L (các HÌNH 2A-2G)	
muAb8 #2 được làm cho giống người	huAb8-2	huAb8-2 V _H	SEQ ID NO:114	huAb8-1 V _L	SEQ ID NO:162
muAb8 #3 được làm cho giống người	huAb8-3	huAb8-3 V _H	SEQ ID NO:115	huAb8-1 V _L	SEQ ID NO:162
muAb9 #1 được làm cho giống người	huAb9-1	huAb9-1 V _H	SEQ ID NO:116	huAb9-1 V _L	SEQ ID NO:163
muAb9 #2 được làm cho giống người	huAb9-2	huAb9-2 V _H	SEQ ID NO:117	huAb9-1 V _L	SEQ ID NO:163
muAb9 #3 được làm cho giống người	huAb9-3	huAb9-3 V _H	SEQ ID NO:118	huAb9-1 V _L	SEQ ID NO:163
muAb9 #4 được làm cho giống người	huAb9-4	huAb9-1 V _H	SEQ ID NO:116	huAb9-4 V _L	SEQ ID NO:164
muAb9 #5 được làm cho giống người	huAb9-5	huAb9-2 V _H	SEQ ID NO:117	huAb9-4 V _L	SEQ ID NO:164
muAb9 #6 được làm cho giống người	huAb9-6	huAb9-3 V _H	SEQ ID NO:118	huAb9-4 V _L	SEQ ID NO:164
muAb9 #7 được làm cho giống người	huAb9-7	huAb9-7 V _H	SEQ ID NO:119	huAb9-7 V _L	SEQ ID NO:165
muAb9 #8 được làm cho giống người	huAb9-8	huAb9-8 V _H	SEQ ID NO:120	huAb9-7 V _L	SEQ ID NO:165

BẢNG 3					
Chữ Viết Tắt Kháng Thể					
Dòng/Tên	Chữ viết tắt	Trình Tự V _H (các HÌNH 2A-2G)		Trình tự V _L (các HÌNH 2A-2G)	
muAb9 #9 được làm cho giống người	huAb9-9	huAb9-9 V _H	SEQ ID NO:121	huAb9-9 V _L	SEQ ID NO:166
muAb9 phiên bản #1 được làm lại giống người	huAb9 rehu#1	huAb9 rehuVH4 V _H	SEQ ID NO:122	huAb9 VK1 V _L	SEQ ID NO:167
muAb9 phiên bản #2 được làm lại giống người	huAb9 rehu#2	huAb9 rehuVH4 V _H	SEQ ID NO:122	huAb9 rehuVK2 V _L	SEQ ID NO:168
muAb9 phiên bản #3 được làm lại giống người	huAb9 rehu#3	huAb9 rehuVH3 V _H	SEQ ID NO:123	huAb9 rehuVK1 V _L	SEQ ID NO:169
muAb9 A2I được làm cho giống người	huAb9 A2I	huAb9-2V _H	SEQ ID NO:117	huAb9A2I V _L	SEQ ID NO:170
muAb9 A2V được làm cho giống người	huAb9 A2V	huAb9-2V _H	SEQ ID NO:117	huAb9A2V V _L	SEQ ID NO:171

Định nghĩa

Trừ khi được quy định khác ở đây, các thuật ngữ khoa học và kỹ thuật được sử dụng trong sáng chế có ý nghĩa như thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Kháng Thể Kháng Cd40 Và Mảnh Liên Kết

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến kháng thể và/hoặc mảnh liên kết của chúng mà liên kết đặc hiệu thụ thể CD40 ở người (còn được gọi là thành viên siêu họ thụ thể yếu tố hoại tử khối u 5, TNFRSF5, Bp50, và thụ thể CD40L).

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "kháng thể" (Ab) dùng để chỉ phân tử globulin miễn dịch mà liên kết đặc hiệu với kháng nguyên cụ thể- ở đây là, CD40. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 theo sáng chế liên kết với CD40 ở người và bằng cách đó điều biến, *ví dụ*, hoạt hóa, hệ miễn dịch. Đáp ứng hệ miễn dịch thu được ức chế sự tăng sinh của tế bào chẳng hạn như tế bào khối u, và trong một số trường hợp là gây độc tế bào đối với tế bào khối u. Kháng thể kháng CD40 theo sáng chế có chứa vùng quyết định bổ sung (complementarity determining region - CDR), còn được gọi là vùng siêu biến, ở cả hai miền biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng. Phần được bảo toàn cao hơn của miền biến đổi được gọi là khung (FR). Như đã biết trong lĩnh vực, vị trí axit amin/đường biên vạch ra vùng siêu biến của kháng thể có thể thay đổi, phụ thuộc vào ngữ cảnh và các định nghĩa khác nhau đã biết trong lĩnh vực. Một số vị trí trong miền biến đổi có thể được coi như là vị trí siêu biến lai trong đó các vị trí này có thể được cho là nằm trong vùng siêu biến theo một bộ tiêu chuẩn trong khi được cho là nằm ngoài vùng siêu biến theo bộ tiêu chuẩn khác. Một hoặc nhiều vị trí trong số các vị trí này cũng có thể được tìm thấy ở vùng siêu biến kéo dài. Sáng chế đề xuất kháng thể có chứa sự cải biến ở các vị trí siêu biến lai này. Mỗi miền biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ nguyên bản có chứa bốn vùng FR, phần lớn chấp nhận cấu hình tám β , được kết nối bởi ba CDR, tạo thành kết nối vòng, và trong một số trường hợp tạo thành một phần của, cấu trúc tám β . CDR ở mỗi chuỗi được giữ lại với nhau trong khoảng cách gần bằng cách vùng FR và, cùng với CDR từ chuỗi khác, góp phần tạo thành vị trí liên kết đích của kháng thể. *Xem tài liệu Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institute of Health, Bethesda, Md. 1987).* Như được sử dụng trong bản mô tả này, thực hiện đánh số các gốc axit amin globulin miễn dịch theo hệ thống đánh số gốc axit amin globulin miễn dịch của Kabat và cộng sự trừ khi có chỉ dẫn khác.

Kháng thể theo sáng chế có thể là đa dòng, đơn dòng, được thiết kế di truyền, và/hoặc theo cách khác được cải biến trong tự nhiên, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở kháng thể khảm, kháng thể được làm cho giống người, kháng thể ở người, kháng thể

được làm giống động vật linh trưởng, kháng thể chuỗi đơn, v.v.. Theo các phương án khác nhau, kháng thể có chứa tất cả hoặc một phần vùng không đổi của kháng thể. Theo một số phương án, vùng không đổi là phân lớp được chọn từ: IgA (ví dụ, IgA₁ hoặc IgA₂), IgD, IgE, IgG (ví dụ, IgG₁, IgG₂, IgG₃ hoặc IgG₄), và IgM. Theo các phương án cụ thể, kháng thể kháng CD40 được mô tả trong bản mô tả này có chứa IgG₁. Theo các phương án khác, kháng thể kháng CD40 có chứa IgG₂. Theo các phương án khác nữa, kháng thể kháng CD40 có chứa IgG₄. Như được sử dụng trong bản mô tả này, "vùng không đổi" của kháng thể bao gồm vùng không đổi tự nhiên, dạng đồng chức năng hoặc biến thể tự nhiên, chẳng hạn như D356E và L358M, hoặc A431G ở IgG₁ ở người. Xem tài liệu, ví dụ, Jefferis and Lefranc, MAbs, 1(4): 332-338 (Jul-Aug 2009).

Vùng không đổi nhẹ của kháng thể kháng CD40 có thể là vùng nhẹ kappa (κ) hoặc vùng lambda (λ). Vùng nhẹ λ có thể là kiểu phụ bất kỳ trong số các kiểu phụ đã biết, ví dụ, λ_1 , λ_2 , λ_3 , hoặc λ_4 . Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa vùng nhẹ kappa (κ).

Thuật ngữ "kháng thể đơn dòng" được sử dụng ở đây không chỉ giới hạn ở các kháng thể được tạo ra thông qua công nghệ lai. Kháng thể đơn dòng có nguồn gốc từ dòng đơn lẻ, bao gồm dòng thuộc sinh vật nhân chuẩn, dòng thuộc sinh vật nhân sơ, hoặc dòng phage bất kỳ, theo cách bất kỳ có sẵn hoặc đã biết trong lĩnh vực. Kháng thể đơn dòng hữu dụng với sáng chế có thể được điều chế bằng cách sử dụng nhiều loại kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực bao gồm việc sử dụng công nghệ thể lai, tái tổ hợp, và hiển thị phage, hoặc dạng kết hợp của chúng. Trong nhiều cách sử dụng theo sáng chế, bao gồm việc sử dụng *in vivo* của kháng thể kháng CD40 ở người, kháng thể khảm, kháng thể được làm giống động vật linh trưởng, kháng thể được làm cho giống người, hoặc kháng thể người có thể được sử dụng một cách phù hợp.

Thuật ngữ kháng thể "khảm" như được sử dụng trong bản mô tả này dùng để chỉ kháng thể có các trình tự biến đổi có nguồn gốc từ globulin miễn dịch không phải ở người, chẳng hạn như kháng thể ở chuột nhắt hoặc ở chuột, và vùng không đổi globulin miễn dịch ở người, thường được chọn từ khuôn globulin miễn dịch ở người. Các phương pháp sản xuất kháng thể khảm là đã biết trong lĩnh vực. Xem tài liệu, ví dụ, Morrison, 1985, Science 229(4719):1202-7; Oi *et al.*, 1986, BioTechniques 4:214-221; Gillies *et*

al., 1985, J. Immunol. Methods 125:191-202; Bằng Sáng Chế Mỹ Số 5,807,715; 4,816,567; và 4,816,397.

Dạng "được làm cho giống người" của kháng thể không phải ở người (ví dụ, ở chuột) là globulin miễn dịch khảm mà chứa các trình tự tối thiểu có nguồn gốc từ globulin miễn dịch không phải ở người. Nhìn chung, kháng thể được làm cho giống người có chứa về cơ bản toàn bộ của ít nhất là một, và thường là hai, miền biến đổi, trong đó tất cả hoặc về cơ bản tất cả các vùng CDR tương ứng với các vùng CDR của globulin miễn dịch không phải ở người và tất cả hoặc về cơ bản tất cả các vùng FR là các vùng FR của trình tự globulin miễn dịch ở người. Kháng thể được làm cho giống người cũng có thể có chứa ít nhất là một phần của vùng không đổi (Fc) globulin miễn dịch, thường là phần của trình tự liên ứng globulin miễn dịch ở người. Các phương pháp làm kháng thể giống người đã biết trong lĩnh vực. Xem tài liệu, ví dụ, Riechmann *et al.*, 1988, Nature 332:323-7; Bằng Sáng Chế Mỹ Số: 5,530,101; 5,585,089; 5,693,761; 5,693,762; và 6,180,370 và Queen *et al.*; EP239400; công bố PCT WO 91/09967; Bằng Sáng Chế Mỹ Số 5,225,539; EP592106; EP519596; Padlan, 1991, Mol. Immunol., 28:489-498; Studnicka *et al.*, 1994, Prot. Eng. 7:805-814; Roguska *et al.*, 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. 91:969-973; và Bằng Sáng Chế Mỹ Số 5,565,332.

"Kháng thể người" gồm các kháng thể có trình tự axit amin của globulin miễn dịch của người và gồm các kháng thể được phân lập từ các thư viện globulin miễn dịch của người hoặc từ các động vật chuyển gen đối với một hoặc nhiều globulin miễn dịch của người và không biểu hiện các globulin miễn dịch nội sinh. Có thể tạo ra kháng thể ở người bằng nhiều phương pháp đã biết trong lĩnh vực bao gồm phương pháp hiển thị phagor bằng cách sử dụng thư viện kháng thể có nguồn gốc từ các trình tự globulin miễn dịch ở người. Xem tài liệu Bằng Sáng Chế Mỹ Số 4,444,887 và 4,716,111; và các công bố PCT WO 98/46645; WO 98/50433; WO 98/24893; WO 98/16654; WO 96/34096; WO 96/33735; và WO 91/10741. Cũng có thể tạo ra kháng thể ở người bằng cách sử dụng chuột chuyển gen mà không có khả năng biểu hiện globulin miễn dịch nội sinh chức năng nhưng mà có thể biểu hiện gen globulin miễn dịch ở người. Xem tài liệu, ví dụ, các công bố PCT WO 98/24893; WO 92/01047; WO 96/34096; WO 96/33735; Bằng Sáng Chế Mỹ Số 5,413,923; 5,625,126; 5,633,425; 5,569,825; 5,661,016; 5,545,806; 5,814,318; 5,885,793; 5,916,771; và 5,939,598. Ngoài ra, các công ty chẳng hạn như

LakePharma, Inc. (Belmont, CA) hoặc Creative BioLabs (Shirley, NY) có thể cam kết cung cấp kháng thể người được định hướng chống lại kháng nguyên được chọn bằng cách sử dụng công nghệ tương tự với công nghệ được mô tả ở trên. Các kháng thể người hoàn toàn mà nhận biết epitop được chọn lọc có thể được tạo ra bằng cách sử dụng kỹ thuật được gọi là "sự chọn lọc theo hướng dẫn." Trong phương pháp này, kháng thể đơn dòng không phải ở người được chọn, *ví dụ*, kháng thể ở chuột, được sử dụng để dẫn hướng sự chọn lọc của kháng thể của người hoàn toàn nhận biết cùng epitop (xem tài liệu, Jaspers *et al.*, 1988, *Biotechnology* 12:899-903).

"Kháng thể được làm giống động vật linh trưởng" có chứa vùng biến đổi ở khi và vùng không đổi ở người. Các phương pháp để sản xuất các kháng thể được làm cho giống ở linh trưởng đã biết trong lĩnh vực này. Xem tài liệu, *ví dụ*, Bằng Sáng Chế Mỹ Số 5,658,570; 5,681,722; và 5,693,780.

Kháng thể kháng CD40 theo sáng chế bao gồm phân tử kháng thể chiều dài đầy đủ (nguyên vẹn) mà có khả năng liên kết đặc hiệu CD40, *ví dụ*, CD40 ở người (SEQ ID NO:40).

Sáng chế cũng bộc lộ mảnh liên kết kháng CD40 có khả năng liên kết đặc hiệu CD40 ở người. Ví dụ về mảnh liên kết kháng thể bao gồm bằng cách lấy làm ví dụ và không làm giới hạn sáng chế, các mảnh Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, mảnh Fv chuỗi đơn và mảnh miền đơn.

Mảnh Fab chứa miền không biến đổi và miền biến đổi của chuỗi nhẹ và miền không biến đổi thứ nhất (CH1) và miền biến đổi của chuỗi nặng. Mảnh Fab' khác với mảnh Fab bởi sự bổ sung một ít gốc ở đầu tận cùng carboxyl của miền CH1 chuỗi nặng bao gồm một hoặc nhiều xystein từ vùng bản lề kháng thể. Mảnh F(ab') được tạo ra bằng cách phân cắt liên kết disulfua tại các xystein bản lề của sản phẩm phân giải pepsin F(ab')₂. Sự ghép nối hóa học khác của các mảnh kháng thể là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực. Các mảnh Fab và F(ab')₂ thiếu mảnh Fc của kháng thể nguyên vẹn, thanh thải nhanh chóng hơn từ hệ tuần hoàn của động vật, và có thể có ít sự liên kết mô không đặc hiệu hơn kháng thể nguyên vẹn (xem tài liệu, *ví dụ*, Wahl *et al.*, 1983, *J. Nucl. Med.* 24:316).

Mảnh "Fv" là mảnh tối thiểu của kháng thể chứa vị trí liên kết và trình diện đích hoàn chỉnh. Vùng này gồm có dime của một miền biến đổi chuỗi nặng và một miền biến đổi chuỗi nhẹ trong sự kết hợp chặt, không cộng hóa trị (dime V_H - V_L). Trong cấu hình này là ba CDR của mỗi miền biến đổi tương tác để xác định vị trí liên kết đích trên bề mặt của dime V_H - V_L . Thường là, sáu CDR mang lại tính đặc hiệu liên kết đích với kháng thể. Tuy nhiên, trong một số trường hợp ngay cả miền biến đổi đơn (hoặc một nửa của Fv chỉ có chứa ba CDR đặc hiệu đối với đích) có thể có khả năng nhận diện và liên kết đích, mặc dù ở ái lực thấp hơn so với toàn bộ vị trí liên kết.

Mảnh liên kết kháng thể "Fv chuỗi đơn" hoặc "scFv" có chứa các miền V_H và V_L của kháng thể, trong đó các miền này có mặt ở chuỗi polypeptit đơn. Thông thường, polypeptit Fv có chứa thêm cầu nối polypeptit giữa các miền V_H và V_L mà cho phép scFv tạo cấu trúc mong muốn để liên kết đích.

"Mảnh miền đơn" bao gồm các miền V_H hoặc V_L đơn thể hiện đủ ái lực với CD40 ở người. Theo phương án cụ thể, mảnh miền đơn là mảnh được làm giống lạc đà (*Xem tài liệu, ví dụ, Riechmann, 1999, Journal of Immunological Methods 231:25–38*).

Kháng thể kháng CD40 theo sáng chế bao gồm kháng thể được tạo dẫn xuất. Ví dụ, nhưng không làm giới hạn sáng chế, kháng thể được tạo dẫn xuất thường là được cải biến bằng cách glycosyl hóa, axetyl hóa, pegyl hóa, phosphoryl hóa, amit hóa, tạo dẫn xuất bằng các nhóm bảo vệ/phong bế đã biết, phân cắt bằng cách phân giải protein, liên kết với phối tử tế bào hoặc protein khác. Sự cải biến bất kỳ trong số nhiều sự cải biến hóa học có thể được tiến hành bằng các kỹ thuật đã biết, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phân cắt hóa học cụ thể, axetyl hóa, formyl hóa, tổng hợp chuyển hóa tunicamycin, v.v. Ngoài ra, chất dẫn xuất có thể chứa một hoặc nhiều axit amin không tự nhiên, *ví dụ, bằng cách sử dụng công nghệ Ambryx (Xem tài liệu, ví dụ, Wolfson, 2006, Chem. Biol. 13(10):1011-2)*.

Kháng thể kháng CD40 hoặc mảnh liên kết có thể là kháng thể hoặc mảnh trình tự của chúng đã được cải biến để làm thay đổi chức năng tác động sinh học qua trung gian ít nhất là một vùng không đổi. Ví dụ, theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có thể được cải biến để làm giảm chức năng tác động sinh học qua trung gian ít nhất là một vùng không đổi tương quan với kháng thể không được cải biến, *ví dụ, liên*

kết với một hoặc nhiều thụ thể Fc trong số các thụ thể Fc (FcγR) chẳng hạn như FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIB, FcγRIIIA và/hoặc FcγRIIIB được làm giảm. Có thể làm giảm liên kết FcγR bằng cách đột biến phân đoạn vùng không đổi globulin miễn dịch của kháng thể ở vùng cụ thể cần thiết cho các tương tác FcγR (*Xem tài liệu, ví dụ, Canfield and Morrison, 1991, J. Exp. Med. 173:1483-1491; và Lund et al., 1991, J. Immunol. 147:2657-2662*). Làm giảm khả năng liên kết FcγR của kháng thể cũng có thể làm giảm các chức năng tác động khác mà phụ thuộc vào tương tác FcγR, chẳng hạn như opsonin hóa, thực bào và tính gây độc tế bào phụ thuộc kháng nguyên ("ADCC").

Kháng thể kháng CD40 hoặc mảnh liên kết được mô tả trong bản mô tả này bao gồm kháng thể đã được cải biến để thu được hoặc cải thiện chức năng tác động sinh học qua trung gian ít nhất là một vùng không đổi tương quan với kháng thể không được cải biến, *ví dụ, để tăng cường tương tác FcγR (Xem tài liệu, ví dụ, Đơn Sáng Chế Mỹ Số 2006/0134709)*. Ví dụ, kháng thể kháng CD40 theo sáng chế có thể có vùng không đổi liên kết FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIB, FcγRIIIA và/hoặc FcγRIIIB với ái lực lớn hơn so với vùng không đổi kiểu đại tương ứng.

Do đó, kháng thể theo sáng chế có thể có các thay đổi về hoạt tính sinh học dẫn đến opsonin hóa, thực bào, hoặc ADCC tăng lên hoặc giảm đi. Các thay đổi này là đã biết trong lĩnh vực. Ví dụ, sự cải biến ở kháng thể làm giảm hoạt tính ADCC được mô tả trong Bằng Sáng Chế Mỹ Số 5,834,597. Biến thể làm yếu ADCC ví dụ tương ứng với "thể đột biến 3" (còn được gọi là "M3," được thể hiện trong HÌNH 4 theo Bằng Sáng Chế Mỹ Số 5,834,597) trong đó các gốc 234 và 237 (sử dụng đánh số EU) được thế bằng alanin. Sự biến đổi thể đột biến 3 (còn được gọi là "M3") có thể được sử dụng trong một số phân lớp kháng thể, *ví dụ, IgG₂*.

Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 theo sáng chế có mức độ fucoza thấp, hoặc thiếu, fucoza. Kháng thể thiếu fucoza có liên quan với hoạt tính ADCC tăng cường, đặc biệt là ở liều lượng thấp của kháng thể. *Xem tài liệu Shields et al., 2002, J. Biol. Chem. 277:26733-26740; Shinkawa et al., 2003, J. Biol. Chem. 278:3466-73*. Phương pháp điều chế kháng thể ít fucoza bao gồm sự phát triển ở tế bào YB2/0 u tùy ở chuột nhắt (ATCC CRL 1662). Tế bào YB2/0 biểu hiện mức độ thấp của mARN FUT8, mã hóa α-1,6-fucosyltransferaza, enzym cần thiết cho sự fucosyl hóa của polypeptit.

Kháng thể kháng CD40 theo sáng chế có thể có chứa miền CH2 được cải biến (hoặc biến thể) hoặc toàn bộ miền Fc bao gồm sự thể axit amin mà làm tăng liên kết với FcγRIIB và/hoặc làm giảm liên kết với FcγRIIA khi so với sự liên kết của vùng Fc hoặc CH2 kiểu đại tương ứng. Miền CH2 biến thể hoặc Fc biến thể đã được mô tả trong Đơn Sáng Chế Mỹ Số 2014/0377253. Miền CH2 biến thể hoặc Fc biến thể thường là bao gồm một hoặc nhiều sự thể ở vị trí 263, vị trí 266, vị trí 273, và vị trí 305, trong đó việc đánh số các gốc ở miền Fc là đánh số của chỉ số EU như theo Kabat. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa một hoặc nhiều sự thể được chọn từ V263L, V266L, V273C, V273E, V273F, V273L, V273M, V273S, V273Y, V305K, và V305W, tương quan với miền CH2 kiểu đại. Theo các phương án cụ thể, một hoặc nhiều sự thể của miền CH2 được chọn từ V263L, V273E, V273F, V273M, V273S, và V273Y, tương quan với miền CH2 của IgG₁ ở người. Ví dụ, một hoặc nhiều sự thể của miền CH2 IgG₁ có thể là V273E. Theo phương án cụ thể khác, kháng thể kháng CD40 theo sáng chế có chứa vùng CH2 IgG₁ biến thể có chứa sự thể axit amin V263L.

Các ví dụ khác về miền CH2 biến thể hoặc Fc biến thể có thể tạo ra liên kết với FcγRIIB tăng lên và/hoặc liên kết với FcγRIIA giảm đi khi so với sự liên kết của vùng Fc hoặc CH2 kiểu đại tương ứng bao gồm các ví dụ được tìm thấy trong tài liệu Vonderheide, et al. Clin. Cancer Res., 19(5), 1035-1043 (2013), chẳng hạn như S267E hoặc S267E/L328F ở IgG₁ ở người.

Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 hoặc mảnh liên kết bao gồm sự cải biến làm tăng hoặc làm giảm ái lực liên kết của chúng với thụ thể Fc ở thai nhi, FcRn, ví dụ, bằng cách đột biến phân đoạn vùng không đổi globulin miễn dịch ở vùng cụ thể tham gia vào sự tương tác FcRn (xem tài liệu, *ví dụ*, WO 2005/123780). Theo phương án cụ thể, kháng thể kháng CD40 của lớp IgG được đột biến sao cho ít nhất là một trong các gốc axit amin 250, 314, và 428 của vùng không đổi chuỗi nặng được thể một mình, hoặc ở dạng kết hợp bất kỳ của chúng, chẳng hạn như ở vị trí 250 và 428, hoặc ở vị trí 250 và 314, hoặc ở vị trí 314 và 428, hoặc ở vị trí 250, 314, và 428, với vị trí 250 và 428 dạng kết hợp cụ thể. Đối với vị trí 250, gốc axit amin thể có thể là gốc axit amin bất kỳ không phải là threonin, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, alanin, xystein, axit aspartic, axit glutamic, phenylalanin, glyxin, histidin, isoleuxin, lysin, loxin, methionin, asparagin, prolin, glutamin, arginin, serin, valin, tryptophan, hoặc tyrosin.

Đối với vị trí 314, gốc axit amin thế có thể là gốc axit amin bất kỳ không phải là Ix, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, alanin, cysteine, axit aspartic, axit glutamic, phenylalanin, glycine, histidine, isoleucine, lysine, methionine, asparagine, proline, glutamine, arginine, serine, threonine, valine, tryptophan, hoặc tyrosine. Đối với vị trí 428, các gốc axit amin thế có thể là gốc axit amin bất kỳ không phải là methionine, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, alanin, cysteine, axit aspartic, axit glutamic, phenylalanin, glycine, histidine, isoleucine, lysine, Ix, asparagine, proline, glutamine, arginine, serine, threonine, valine, tryptophan, hoặc tyrosine. Sự thế ví dụ đã biết để cải biến chức năng tác động Fc là sự thế Fc M428L, có thể xảy ra khi kết hợp với sự thế Fc T250Q. Các dạng kết hợp cụ thể khác của sự thế axit amin phù hợp đã được xác định trong Bảng 1 theo Bằng Sáng Chế Mỹ Số 7,217,797. Sự đột biến này làm tăng liên kết với FcRn, bảo vệ kháng thể khỏi sự thoái hóa và làm tăng thời gian bán thải của nó.

Kháng thể kháng CD40 có thể có một hoặc nhiều axit amin được cài xen vào một hoặc nhiều CDR của nó, ví dụ như được mô tả trong tài liệu Jung and Plückthun, 1997, Protein Engineering 10:9, 959-966; Yazaki *et al.*, 2004, Protein Eng. Des Sel. 17(5):481-9. Epub 2004 Aug 17; và Đơn Sáng Chế Mỹ Số 2007/0280931.

Kháng thể kháng CD40 có ái lực đối với CD40 ở người có thể là điều mong muốn để sử dụng trị liệu và chẩn đoán. Theo đó, sáng chế dự tính các kháng thể có ái lực liên kết đối với CD40 ở người. Theo các phương án cụ thể, kháng thể kháng CD40 liên kết CD40 ở người với ái lực bằng ít nhất là khoảng 1000 nM, nhưng có thể thể hiện ái lực cao hơn, ví dụ, ít nhất là khoảng 900 nM, 800 nM, 700 nM, 600 nM, 500 nM, 400 nM, 300 nM, 250 nM, 200 nM, 150 nM, 100 nM, 90 nM, 80 nM, 70 nM, 60 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM, 15 nM, 10 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM, 1 nM, 0,1 nM, 0,01 nM, hoặc thậm chí là cao hơn. Theo một số phương án, kháng thể liên kết CD40 ở người với ái lực nằm trong khoảng từ khoảng 1 pM đến khoảng 1000 nM, hoặc khoảng giá trị ái lực nằm trong khoảng giá trị bất kỳ trong số các giá trị nêu trên.

Ái lực của kháng thể kháng CD40 đối với CD40 ở người có thể được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật được biết rõ trong lĩnh vực hoặc được mô tả trong bản mô tả này, chẳng hạn như ví dụ, nhưng không chỉ làm giới hạn ở, ELISA, đo nhiệt lượng chuẩn độ đẳng nhiệt (ITC), cộng hưởng plasmon bề mặt, hoặc thử nghiệm phân cực huỳnh quang.

Kháng thể kháng CD40 thường có chứa chuỗi nặng có chứa vùng biến đổi (V_H) có ba vùng quyết định bổ sung ("CDR") được đề cập trong bản mô tả này (theo chiều từ N→C) dưới dạng V_H CDR#1, V_H CDR#2, và V_H CDR#3, và chuỗi nhẹ có chứa vùng biến đổi (V_L) có ba vùng quyết định bổ sung được đề cập trong bản mô tả này (theo chiều từ N→C) dưới dạng V_L CDR#1, V_L CDR#2, và V_L CDR#3. Các trình tự axit amin của CDR ví dụ, cũng như là trình tự axit amin của các vùng V_H và V_L của các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng CD40 ví dụ được đề xuất trong bản mô tả này. Các phương án cụ thể về kháng thể kháng CD40 bao gồm các CDR ví dụ này và/hoặc các trình tự V_H và/hoặc V_L , cũng như là kháng thể cạnh tranh để liên kết CD40 ở người với kháng thể này.

Theo một số phương án, trình tự axit amin của CDR của kháng thể kháng CD40 được chọn từ các trình tự sau đây:

CDR	Trình tự (N→C)	Nhận dạng
V_H CDR#1:	GYTFTSYWIT	(SEQ ID NO:1)
	GYTFTGYWIQ	(SEQ ID NO:2)
	GYTFTDYMN	(SEQ ID NO:3)
	GFTFSDYYMS	(SEQ ID NO:4)
	GYSITTNYNWN	(SEQ ID NO:5)
	GYTFTSYWMH	(SEQ ID NO:6)
	GYTFTDYIN	(SEQ ID NO:7)
	GYSITSNYYWN	(SEQ ID NO:8)
	GYSISSNYYWN	(SEQ ID NO:9)
	GYDITSNYYWN	(SEQ ID NO:10)
V_H CDR#2:	EINPGSGSTNYNEKFKS	(SEQ ID NO:11)
	EILPGGDHTKYNEKFRG	(SEQ ID NO:12)
	DINPNNGGTSYNQKFKG	(SEQ ID NO:13)

CDR	Trình tự (N→C)	Nhận dạng
	FIRNKANGYTTTEFSASVKG	(SEQ ID NO:14)
	YIRHDGTNNYNPSLKN	(SEQ ID NO:15)
	NIDPSNGETHYNQKFKD	(SEQ ID NO:16)
	WIFPGSGSVYCNEQFKG	(SEQ ID NO:17)
	YIRYDGSNNYNPSLKN	(SEQ ID NO:18)
	NIDPSNGETHYAQKFQG	(SEQ ID NO:19)
	WIFPGSGSVYSNEQFKG	(SEQ ID NO:20)
	YIRYDGSNNYNPSLKS	(SEQ ID NO:21)
	YIRYDGSNNYNPSLKG	(SEQ ID NO:22)
V _H CDR#3:	NRGTGDY	(SEQ ID NO:31)
	VGGDY	(SEQ ID NO:32)
	RGGLGRGTYALDY	(SEQ ID NO:33)
	YGGLRQGWYFDV	(SEQ ID NO:34)
	LDY	(SEQ ID NO:35)
	ERIYYSGSTYDGYFDV	(SEQ ID NO:36)
	SLGKFAY	(SEQ ID NO:37)

CDR	Trình tự (N→C)	Nhận dạng
V _L CDR#1:	RSSQSLVHSYGNTYLH	(SEQ ID NO:51)
	RSSQSLVNSNENTYLH	(SEQ ID NO:52)
	RASQDISNYLN	(SEQ ID NO:53)
	RASQDIRNYLN	(SEQ ID NO:54)
	RSSQSLENSYGNTFLN	(SEQ ID NO:55)
	SASSSLSYMH	(SEQ ID NO:56)
	KASQSVVTAVA	(SEQ ID NO:57)
	RSSQSLENTNGNTFLN	(SEQ ID NO:58)
	RSSQSLENSNGNTFLN	(SEQ ID NO:59)
V _L CDR#2:	KVSNRIS	(SEQ ID NO:61)
	KVFNRYS	(SEQ ID NO:62)
	YTSRLHL	(SEQ ID NO:63)
	YTSRLHS	(SEQ ID NO:64)
	RVSNRFC	(SEQ ID NO:65)
	DTSKLAS	(SEQ ID NO:66)
	SASNRYT	(SEQ ID NO:67)
	RVSNRFS	(SEQ ID NO:68)
	RISNRFS	(SEQ ID NO:69)

CDR	Trình tự (N→C)	Nhận dạng
V _L CDR#3:	SQSTHVPYT	(SEQ ID NO:81)
	FQSTHVPWT	(SEQ ID NO:82)
	QQGNTLPLT	(SEQ ID NO:83)
	QQGKTLPWT	(SEQ ID NO:84)
	LQVTHVPYT	(SEQ ID NO:85)
	QQWSSNPWT	(SEQ ID NO:86)
	QQYSSYPYT	(SEQ ID NO:87)
	LQVTHVPFT	(SEQ ID NO:88)

Theo một số phương án, mỗi CDR của kháng thể kháng CD40, độc lập với các CDR khác, được chọn lọc để tương ứng về trình tự với CDR tương ứng của kháng thể được cung cấp trong BẢNG 3. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 là IgG, và có V_H và V_L tương ứng về trình tự với V_H và V_L của kháng thể được cung cấp trong BẢNG 3.

Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO:101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, hoặc 109; và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO:151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, hoặc 160. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:101 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:151. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:102 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:152. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:103 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:153. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:104 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:154. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:105 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự

với SEQ ID NO:155. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:106 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:156. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 và có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:106 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:157. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 và có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:107 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:158. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 và có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:108 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:159. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:109 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:160.

Các phương án ví dụ cụ thể về kháng thể kháng CD40 có CDR ở trên được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có CDR theo các SEQ ID NO: 1, 11, 31, 51, 61, và 81. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có CDR theo các SEQ ID NO: 2, 12, 32, 52, 62, và 82. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có CDR theo các SEQ ID NO: 3, 13, 33, 53, 63, và 83. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có CDR theo các SEQ ID NO: 4, 14, 34, 54, 64, và 84. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có CDR theo các SEQ ID NO: 5, 15, 35, 55, 65, và 85. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có CDR theo các SEQ ID NO: 6, 16, 36, 56, 66, và 86. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có CDR theo các SEQ ID NO: 6, 19, 36, 56, 66, và 86. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có CDR theo các SEQ ID NO: 7, 17, 37, 57, 67, và 87. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có CDR theo các SEQ ID NO: 7, 20, 37, 57, 67, và 87. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có CDR theo các SEQ ID NO: 8, 18, 35, 58, 68, và 88. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có CDR theo các SEQ ID NO: 9, 21, 35, 58, 68, và 88. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có CDR theo các SEQ ID NO: 10, 22, 35, 58, 68, và 88.

Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 phù hợp để dùng cho người. Theo phương án cụ thể, kháng thể kháng CD40 được làm cho giống người. Theo phương án cụ thể khác, trình tự axit amin của CDR của kháng thể kháng CD40 được chọn từ:

CDR	Trình tự (N→C)	Nhận dạng
V _H CDR#1:	GYTFTSYWMH	(SEQ ID NO:6)
	GYTFTDYYIN	(SEQ ID NO:7)
	GYSITSNYYWN	(SEQ ID NO:8)
	GYSISSNYYWN	(SEQ ID NO:9)
	GYDITSNYYWN	(SEQ ID NO:10)
V _H CDR#2:	WIFPGSGSVYCNEQFKG	(SEQ ID NO:17)
	YIRYDGSNNYNPSLKN	(SEQ ID NO:18)
	NIDPSNGETHYAQKFQG	(SEQ ID NO:19)
	WIFPGSGSVYSNEQFKG	(SEQ ID NO:20)
	YIRYDGSNNYNPSLKS	(SEQ ID NO:21)
	YIRYDGSNNYNPSLKG	(SEQ ID NO:22)
V _H CDR#3:	LDY	(SEQ ID NO:35)
	ERIYYSGSTYDGYFDV	(SEQ ID NO:36)
	SLGKFAY	(SEQ ID NO:37)
V _L CDR#1:	SASSSLSYMh	(SEQ ID NO:56)
	KASQSVVTAVA	(SEQ ID NO:57)
	RSSQSLENTNGNTFLN	(SEQ ID NO:58)
V _L CDR#2:	DTSKLAS	(SEQ ID NO:66)
	SASNRYT	(SEQ ID NO:67)
	RVSNRFS	(SEQ ID NO:68)
V _L CDR#3:	QQWSSNPWT	(SEQ ID NO:86)
	QQYSSYPYT	(SEQ ID NO:87)
	LQVTHVPFT	(SEQ ID NO:88)

Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO:110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, hoặc 123; và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO:161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, hoặc 171. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:110 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:161. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:111 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:161. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:112 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:161. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:113 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:162. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:114 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:162. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:115 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:162. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:116 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:163. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:117 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:163. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:118 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:163. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:116 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:164. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:117 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:164. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:119 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:165. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:120 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:165. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với

SEQ ID NO:121 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:166. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:117 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:167. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:117 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:168. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:117 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:169. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:117 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:170. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:117 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:171. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:118 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:164. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:122 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:167. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:122 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:168. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi V_H tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:123 và chuỗi V_L tương ứng về trình tự với SEQ ID NO:169.

Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 cạnh tranh để liên kết CD40 ở người trong thử nghiệm *in vitro* với kháng thể tham chiếu. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 cạnh tranh để liên kết CD40 ở người trên tế bào biểu hiện CD40 ở người. Kháng thể tham chiếu có thể là kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể kháng CD40 được mô tả trong bản mô tả này. Theo một số phương án, kháng thể tham chiếu là kháng thể được cung cấp trong BẢNG 3. Theo các phương án cụ thể, kháng thể tham chiếu được chọn từ kháng thể AD163.9.3 ("muAb1"); kháng thể AD166.4.4 ("muAb2"); kháng thể AD175.14.11 ("muAb3"); kháng thể AD163.10.7 ("muAb4"); kháng thể AD165.1.2 ("muAb5"); kháng thể AD163.162.1 ("muAb6"); kháng thể AD163.27.12 ("muAb7"); kháng thể AD163.7.2 ("muAb8"); kháng thể AD164.14.6 ("muAb9"); và kháng thể AD164.76.2 ("muAb10"). Theo một số phương án, kháng thể tham chiếu là phiên bản được làm cho giống người của kháng thể được cung cấp trong BẢNG 3. Theo một số phương án, kháng thể tham chiếu là phiên bản được làm cho giống người của

muAb6, muAb8, hoặc muAb9. Theo phương án cụ thể, kháng thể tham chiếu là huAb9-2. Theo phương án khác, kháng thể tham chiếu là huAb9-5. Theo phương án cụ thể khác, kháng thể tham chiếu là huAb9 A2I.

Sự cải biến sau dịch mã đối với các trình tự của kháng thể kháng CD40 có thể xảy ra, chẳng hạn như phân cắt một hoặc nhiều (*ví dụ*, 1, 2, 3, hoặc nhiều hơn) gốc axit amin ở đầu tận cùng C của chuỗi nặng kháng thể.

Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi nặng theo trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 130-135, và chuỗi nhẹ theo các SEQ ID NO: 140-142. Theo các phương án nhất định, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi nặng theo các SEQ ID NO: 130 hoặc 131, và chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 140. Theo các phương án nhất định, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi nặng theo các SEQ ID NO: 132 hoặc 133, và chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 140. Theo các phương án nhất định, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi nặng theo các SEQ ID NO: 134 hoặc 135, và chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 140. Theo các phương án nhất định, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi nặng theo các SEQ ID NO: 132 hoặc 133, và chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 141. Theo các phương án nhất định, kháng thể kháng CD40 có chứa chuỗi nặng theo các SEQ ID NO: 132 hoặc 133, và chuỗi nhẹ có SEQ ID NO: 142.

Kháng thể kháng CD40 được mô tả trong bản mô tả này thường liên kết đặc hiệu với CD40 ở người. Phản ứng chéo của kháng thể để liên kết với CD40 từ các loài khác, *ví dụ*, từ khỉ, *ví dụ*, khỉ cynomolgus, có thể mang lại các ưu điểm, chẳng hạn như khả năng thử nghiệm ở mẫu động vật khỉ về hoạt tính sinh học. Thử nghiệm mẫu động vật này có thể được sử dụng để sàng lọc kháng thể kháng CD40 để chọn lọc các tính chất, *ví dụ*, được động học thích hợp. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 liên kết với CD40 ở khỉ cynomolgus.

Các thử nghiệm về cạnh tranh bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, thử nghiệm miễn dịch có gắn nhãn nguyên liệu phóng xạ (radioactive material labeled immunoassay - RIA), thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (ELISA), ELISA dạng kẹp, thử nghiệm phân loại tế bào hoạt hóa huỳnh quang (FACS), và thử nghiệm cộng hưởng plasmon bề mặt.

Khi thực hiện thử nghiệm cạnh tranh kháng thể giữa kháng thể tham chiếu và kháng thể thử nghiệm (bất kể các loài hoặc phân lớp nào), trước hết người ta có thể gắn nhãn kháng thể tham chiếu bằng nhãn có thể phát hiện được, chẳng hạn như nhãn huỳnh quang, nhãn biotin hoặc nhãn enzym (hoặc thậm chí là có hoạt tính phóng xạ) để cho phép nhận diện sau đó. Trong trường hợp này, tế bào biểu hiện CD40 ở người được ủ với kháng thể thử nghiệm chưa gắn nhãn, kháng thể tham chiếu đã gắn nhãn được thêm vào, và cường độ nhãn đã liên kết được đo. Nếu kháng thể thử nghiệm cạnh tranh với kháng thể tham chiếu đã gắn nhãn bằng liên kết với epitop gối, cường độ sẽ giảm tương quan với phản ứng đối chứng được tiến hành mà không có kháng thể thử nghiệm.

Theo phương án cụ thể về thử nghiệm này, nồng độ kháng thể tham chiếu đã gắn nhãn có hiệu suất liên kết tối đa bằng 80% ("conc_{80%}") trong các điều kiện thử nghiệm (ví dụ, mật độ cụ thể của tế bào) được xác định đầu tiên, và thử nghiệm cạnh tranh được tiến hành với 10X conc_{80%} của kháng thể thử nghiệm chưa gắn nhãn và conc_{80%} của kháng thể tham chiếu đã gắn nhãn.

Có thể biểu hiện sự ức chế dưới dạng hằng số ức chế, hay K_i , được tính toán theo công thức sau đây:

$$K_i = IC_{50} / (1 + [\text{nồng độ Ab tham chiếu}] / K_d),$$

trong đó IC_{50} là nồng độ kháng thể thử nghiệm mà mang lại sự giảm đi 50% của sự liên kết của kháng thể tham chiếu và K_d là hằng số phân ly của kháng thể tham chiếu, phép đo ái lực của nó đối với CD40 ở người. Kháng thể cạnh tranh với kháng thể kháng CD40 được bộc lộ trong bản mô tả này có thể có K_i nằm trong khoảng từ 10 pM đến 1000 nM trong các điều kiện thử nghiệm được mô tả trong bản mô tả này.

Theo các phương án khác nhau, kháng thể thử nghiệm được coi là cạnh tranh với kháng thể tham chiếu nếu nó làm giảm sự liên kết của kháng thể tham chiếu bằng ít nhất là khoảng 20% hoặc nhiều hơn, ví dụ, bằng ít nhất là khoảng 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% hoặc thậm chí là nhiều hơn, hoặc bằng tỷ lệ phần trăm nằm trong khoảng giá trị bất kỳ trong số các giá trị nêu trên, ở nồng độ kháng thể tham chiếu là 80% về liên kết tối đa trong các điều kiện thử nghiệm cụ thể được sử dụng, và nồng độ kháng thể thử nghiệm cao hơn gấp 10 lần so với nồng độ kháng thể tham chiếu.

Kháng thể kháng CD40 được mô tả trong bản mô tả này có khả năng chủ vận với CD40 ở người (SEQ ID NO:40) bằng cách hoạt hóa CD40 ở người thông qua ít nhất là hai cơ chế phản ứng. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 liên kết CD40 ở người khi không có mặt CD40L (SEQ ID NO:41), và tăng cường sự truyền tín hiệu của CD40 ở người. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 liên kết phức hợp đã liên kết CD40L-CD40 ở người, và tăng cường sự truyền tín hiệu của CD40 ở người. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 cạnh tranh để liên kết CD40 ở người (SEQ ID NO:40) với kháng thể đối chứng được chọn từ các kháng thể được làm cho giống người được liệt kê trong BẢNG 3, và hoạt hóa CD40 ở người độc lập với phối tử CD40 ở người (SEQ ID NO:41), *tức là*, khi không có mặt hoặc có mặt CD40L.

Tác dụng của kháng thể kháng CD40 lên tương tác CD40-CD40L ở người có thể được xác định bằng các thử nghiệm đã biết trong lĩnh vực, chẳng hạn như thử nghiệm cạnh tranh CD40L được mô tả trong Ví dụ 2. Tỷ lệ của OD₄₅₀ được đo ở các mẫu chứa kháng thể kháng CD40 với OD₄₅₀ được lấy từ mẫu kháng thể đối chứng phân lớp ("tỷ lệ OD₄₅₀") có thể được sử dụng để xác định tác dụng của kháng thể kháng CD40 lên CD40L ở người liên kết với CD40 ở người. Tỷ lệ OD₄₅₀ bằng 1 biểu thị không có tác dụng; nhỏ hơn 1 biểu thị sự cạnh tranh với CD40L; lớn hơn 1 biểu thị sự tăng cường của liên kết CD40L với CD40. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 làm tăng (*tức là*, tăng cường) sự liên kết của CD40L ở người (SEQ ID NO:41) đối với CD40 ở người (SEQ ID NO:40) như được xác định theo tỷ lệ OD₄₅₀. Sự tăng cường liên kết CD40L với CD40 theo các tỷ lệ OD₄₅₀ ít nhất là khoảng 1,2, chẳng hạn như khoảng 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,2, 2,4, 2,5, 2,6, 2,8, 3,0 hoặc lớn hơn.

Thử nghiệm đặc hiệu và các điều kiện thử nghiệm hữu dụng để đánh giá liệu kháng thể có cạnh tranh để liên kết CD40 ở người với kháng thể tham chiếu như được mô tả trong bản mô tả này hay không được cung cấp trong Ví dụ 2. Có thể xác định sự cạnh tranh kháng thể bằng thử nghiệm cộng hưởng plasmon bề mặt như được mô tả trong Ví dụ 2, hoặc theo quy trình liên kết cạnh tranh được mô tả trong Phần 8.4.3.

Mặc dù kháng thể kháng CD40 chủ vận hoạt hóa hệ miễn dịch để gây ra tác dụng kháng khối u, sự hoạt hóa miễn dịch toàn thân chung mở rộng ở tất cả các loại tế bào có thể dẫn đến tác dụng phụ không mong muốn. Theo đó, theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 hoạt hóa đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào dạng tua có chọn lọc

vượt trên đáp ứng miễn dịch tế bào B khi so với kháng thể kháng CD40 tham chiếu. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 tham chiếu là CP-870,893. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có hoạt tính tương tự, ví dụ, sự sản xuất IL-12p70 ở liều lượng được nêu, trong khoảng 200%, chẳng hạn như trong khoảng 180%, 150%, 130%, 110%, 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, hoặc khoảng 5%, trong việc hoạt hóa tế bào dạng tua khi so với sự sản xuất IL-12p70 ở cùng liều lượng của kháng thể kháng CD40 tham chiếu trong thử nghiệm được mô tả trong Phần 8.1.3. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có hiệu lực thấp hơn về sự hoạt hóa tế bào B khi so với kháng thể kháng CD40 tham chiếu. Tỷ lệ EC₅₀ tế bào B của kháng thể kháng CD40 đối với kháng thể kháng CD40 tham chiếu có thể lớn hơn khoảng 1,5, chẳng hạn như khoảng 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 15, 20, 30, 40, 50 hoặc lớn hơn, trong thử nghiệm được mô tả trong Phần 8.5.3. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 có hoạt tính tương tự về việc hoạt hóa tế bào dạng tua và hiệu lực thấp hơn về việc hoạt hóa tế bào B khi so với kháng thể kháng CD40 tham chiếu.

Polynucleotit Mã Hóa Kháng Thể Kháng CD40, Hệ Thống Biểu Hiện Và Phương Pháp Tạo Ra Kháng Thể

Sáng chế bao hàm phân tử axit nucleic mã hóa gen chuỗi nhẹ và chuỗi nặng globulin miễn dịch đối với kháng thể kháng CD40, vật truyền có chứa các axit nucleic này, và tế bào chủ có khả năng tạo ra kháng thể kháng CD40 theo sáng chế.

Kháng thể kháng CD40 theo sáng chế có thể được điều chế bằng cách biểu hiện tái tổ hợp gen chuỗi nhẹ và chuỗi nặng globulin miễn dịch ở tế bào chủ. Để biểu hiện kháng thể tái tổ hợp, tế bào chủ được chuyển nạp với một hoặc nhiều vật truyền biểu hiện tái tổ hợp mang mảnh ADN mã hóa các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng globulin miễn dịch của kháng thể sao cho các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng được biểu hiện ở tế bào chủ và, tùy ý, được tiết vào môi trường trong đó tế bào chủ được nuôi cấy, từ môi trường đó kháng thể có thể được thu hồi. Sử dụng các phương pháp ADN tái tổ hợp tiêu chuẩn để thu lấy các gen chuỗi nặng và chuỗi nhẹ kháng thể, kết hợp các gen này vào vật truyền biểu hiện tái tổ hợp và đưa vật truyền vào tế bào chủ, chẳng hạn như các phương pháp được mô tả trong tài liệu *Molecular Cloning; A Laboratory Manual, Second Edition* (Sambrook, Fritsch and Maniatis (eds), Cold Spring Harbor, N. Y., 1989), *Current*

Protocols in Molecular Biology (Ausubel, F.M. *et al.*, eds., Greene Publishing Associates, 1989) và trong Bằng Sáng Chế Mỹ Số 4,816,397.

Để tạo ra axit nucleic mã hóa kháng thể kháng CD40 này, đầu tiên mảnh ADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng được thu lấy. Có thể thu lấy các ADN này bằng cách khuếch đại và cải biến ADN dòng mầm hoặc cADN mã hóa các trình tự biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng, ví dụ bằng cách sử dụng phản ứng chuỗi polymeraza (PCR). Các trình tự ADN dòng mầm đối với gen vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ ở người đã biết trong lĩnh vực (*Xem tài liệu, ví dụ, cơ sở dữ liệu trình tự dòng mầm ở người "VBASE"; cũng xem tài liệu 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; Tomlinson et al., 1992, J. Mol. Biol. 22T:116-198; và Cox et al., 1994, Eur. J. Immunol. 24:827-836; nội dung của mỗi tài liệu được kết hợp trong bản mô tả này nhằm mục đích tham khảo*).

Ngay khi mảnh ADN mã hóa phân đoạn V_H và V_L có liên quan đến kháng thể kháng CD40 được thu lấy, các mảnh ADN này còn có thể được thao tác bằng các kỹ thuật ADN tái tổ hợp tiêu chuẩn, ví dụ để chuyển đổi gen vùng biến đổi thành gen chuỗi kháng thể chiều dài đầy đủ, thành gen mảnh Fab hoặc thành gen scFv. Trong các thao tác này, mảnh ADN mã hóa V_L hoặc V_H được liên kết có điều khiển với mảnh ADN khác mã hóa protein khác, chẳng hạn như vùng không đổi kháng thể hoặc cầu nối linh hoạt. Thuật ngữ "liên kết có điều khiển," như được sử dụng trong ngữ cảnh này, được dự định có nghĩa là hai mảnh ADN được liên kết sao cho các trình tự axit amin được mã hóa bởi hai mảnh ADN tồn tại trong khung.

ADN được phân lập mã hóa vùng V_H có thể được chuyển đổi thành gen chuỗi nặng chiều dài đầy đủ bằng cách liên kết có điều khiển ADN mã hóa V_H với phân tử ADN khác mã hóa vùng không đổi chuỗi nặng (CH1, CH2, CH3 và, tùy ý, CH4). Các trình tự của gen vùng không đổi chuỗi nặng ở người đã biết trong lĩnh vực (*Xem tài liệu, ví dụ, Kabat, E.A., et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health và Human Services, NIH Publication No. 91-3242*) và mảnh ADN bao hàm các vùng này có thể được thu lấy bằng cách khuếch đại PCR tiêu chuẩn. Vùng không đổi chuỗi nặng có thể là vùng không đổi IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgE, IgM hoặc IgD, nhưng theo các phương án nhất định là IgG1 hoặc IgG4. Đối

với gen chuỗi nặng mảnh Fab, ADN mã hóa V_H có thể được liên kết có điều khiển với phân tử ADN khác chỉ mã hóa vùng không đổi chuỗi nặng CH1.

ADN được phân lập mã hóa vùng V_L có thể được chuyển đổi thành gen chuỗi nhẹ chiều dài đầy đủ (cũng như là gen chuỗi nhẹ Fab) bằng cách liên kết có điều khiển ADN mã hóa V_L đối với phân tử ADN khác mã hóa vùng không đổi chuỗi nhẹ, CL. Các trình tự của gen vùng không đổi chuỗi nhẹ ở người đã biết trong lĩnh vực (*Xem tài liệu, ví dụ, Kabat, et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242*) và mảnh ADN bao hàm các vùng này có thể được thu lấy bằng cách khuếch đại PCR tiêu chuẩn. Vùng không đổi chuỗi nhẹ có thể là vùng không đổi kappa hoặc lambda, nhưng theo các phương án nhất định là vùng không đổi kappa. Để tạo gen scFv, mảnh ADN mã hóa V_H và V_L được liên kết có điều khiển với mảnh khác mã hóa cầu nối linh hoạt, *ví dụ*, mã hóa trình tự axit amin $(Gly_4\sim Ser)_3$ (SEQ ID NO:200), sao cho các trình tự V_H và V_L có thể được biểu hiện dưới dạng protein chuỗi đơn liên kết, với các vùng V_L và V_H được liên kết bằng cầu nối linh hoạt (*Xem tài liệu, ví dụ, Bird et al., 1988, Science 242:423-426; Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; McCafferty et al., 1990, Nature 348:552-554*).

Để biểu hiện kháng thể kháng CD40 theo sáng chế, ADN mã hóa các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng một phần hoặc chiều dài đầy đủ, được thu lấy như được mô tả ở trên, được cài xen vào vật truyền biểu hiện sao cho gen được liên kết có điều khiển với các trình tự kiểm soát sự phiên mã và dịch mã. Trong ngữ cảnh này, thuật ngữ "liên kết có điều khiển" được dự định có nghĩa là gen kháng thể được nối vào vật truyền sao cho các trình tự kiểm soát sự phiên mã và dịch mã trong vật truyền giúp cho chức năng đã dự định của chúng về điều hòa sự dịch mã và phiên mã của gen kháng thể. Vật truyền biểu hiện và các trình tự kiểm soát biểu hiện được chọn lọc để có thể tương thích với tế bào chủ biểu hiện được sử dụng. Gen chuỗi nhẹ kháng thể và gen chuỗi nặng kháng thể có thể được cài xen vào các vật truyền riêng rẽ hoặc, thông thường hơn là, cả hai gen được cài xen vào cùng vật truyền biểu hiện.

Gen kháng thể được cài xen vào vật truyền biểu hiện bằng các phương pháp tiêu chuẩn (*ví dụ*, nối vị trí giới hạn bổ sung trên các mảnh gen kháng thể và vật truyền, hoặc nối đầu cụt nếu không có các vị trí giới hạn). Trước khi cài xen trình tự chuỗi nhẹ hoặc

chuỗi năng có liên quan kháng thể kháng CD40, vật truyền biểu hiện có thể mang các trình tự vùng không đổi kháng thể. Ví dụ, một phương pháp để chuyển đổi các trình tự V_H và V_L có liên quan kháng thể đơn dòng kháng CD40 với gen kháng thể chiều dài đầy đủ là cài xen chúng vào vật truyền biểu hiện lần lượt mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng không đổi chuỗi nhẹ, sao cho phân đoạn V_H được liên kết có điều khiển với (các) phân đoạn CH trong vật truyền và phân đoạn V_L được liên kết có điều khiển với phân đoạn CL trong vật truyền. Ngoài ra hoặc theo cách khác, vật truyền biểu hiện tái tổ hợp có thể mã hóa peptit tín hiệu tạo thuận lợi để tiết ra chuỗi kháng thể từ tế bào chủ. Gen chuỗi kháng thể có thể được tạo dòng thành vật truyền sao cho peptit tín hiệu được liên kết ở khung với các đầu tận cùng amin của gen chuỗi kháng thể. Peptit tín hiệu có thể là peptit tín hiệu globulin miễn dịch hoặc peptit tín hiệu khác loại (*tức là*, peptit tín hiệu từ protein không phải globulin miễn dịch).

Ngoài các gen chuỗi kháng thể, vật truyền biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế mang các trình tự điều hòa mà kiểm soát sự biểu hiện của gen chuỗi kháng thể ở tế bào chủ. Thuật ngữ "trình tự điều hòa" được dự định bao gồm vùng khởi động, vùng tăng cường và các yếu tố kiểm soát sự biểu hiện khác (*ví dụ*, tín hiệu polyadenyl hóa) kiểm soát sự phiên mã hoặc dịch mã của gen chuỗi kháng thể. Các trình tự điều hòa này được mô tả, ví dụ, trong tài liệu Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA, 1990. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực hiểu rõ rằng việc thiết kế vật truyền biểu hiện, bao gồm việc chọn lọc trình tự điều hòa có thể phụ thuộc vào các yếu tố như sự lựa chọn tế bào chủ được biến nạp, mức độ biểu hiện của protein mong muốn, v.v. Trình tự điều hòa phù hợp để biểu hiện tế bào chủ ở động vật có vú bao gồm các yếu tố thuộc virus mà định hướng các mức độ cao của việc biểu hiện protein ở tế bào động vật có vú, chẳng hạn như vùng khởi động và/hoặc vùng tăng cường có nguồn gốc từ cytomegalovirus (CMV) (chẳng hạn như vùng điều hòa/vùng tăng cường CMV), Virus Khỉ 40 (SV40) (chẳng hạn như vùng điều hòa/vùng tăng cường SV40), adenovirus, (*ví dụ*, vùng khởi động muộn chính adenovirus (AdMLP)) và polyoma. Mô tả thêm về các yếu tố điều hòa thuộc virus, và các trình tự của chúng, *xem tài liệu, ví dụ*, Bằng Sáng Chế Mỹ Số 5,168,062 của Stinski, Bằng Sáng Chế Mỹ Số 4,510,245 của Bell và *cộng sự*, và Bằng Sáng Chế Mỹ Số 4,968,615 của Schaffner và *cộng sự*.

Ngoài các gen chuỗi kháng thể và trình tự điều hòa, vật truyền biểu hiện tái tổ hợp theo sáng chế có thể mang các trình tự khác, chẳng hạn như các trình tự mà điều hòa sự sao chép của vật truyền ở tế bào chủ (*ví dụ*, điểm mở đầu sao chép) và các gen chỉ thị có tính chọn lọc. Gen chỉ thị có tính chọn lọc tạo thuận lợi cho việc chọn lọc tế bào chủ mà vật truyền đã được đưa vào đó (*Xem tài liệu, ví dụ*, các Bằng Sáng Chế Mỹ Số 4,399,216, 4,634,665 và 5,179,017, tất cả của Axel và *cộng sự*). Ví dụ, thường là gen chỉ thị có tính chọn lọc mang tính kháng đối với thuốc, chẳng hạn như G418, hygromycin hoặc methotrexat, trên tế bào chủ mà vật truyền đã được đưa vào. Các gen chỉ thị có tính chọn lọc phù hợp bao gồm gen dihydrofolat reductaza (DHFR) (để sử dụng trong tế bào chủ DHFR⁻ với việc chọn lọc/khuếch đại methotrexat) và gen neo (để chọn lọc G418). Để biểu hiện các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng, (các) vật truyền biểu hiện mã hóa các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được biến nạp vào tế bào chủ bằng các kỹ thuật tiêu chuẩn. Các dạng khác nhau của thuật ngữ "chuyển nạp" được dự định là bao hàm nhiều kỹ thuật thường được sử dụng để đưa ADN ngoại sinh vào tế bào chủ nhân sơ hoặc nhân chuẩn, *ví dụ*, đục lỗ điện, chuyển nhiễm liposom, kết tủa canxi-phosphat, chuyển nạp DEAE-dextran và dạng tương tự.

Có thể biểu hiện kháng thể theo sáng chế ở tế bào chủ nhân sơ hoặc tế bào chủ nhân chuẩn. Theo các phương án nhất định, việc biểu hiện kháng thể được tiến hành ở các tế bào nhân chuẩn, *ví dụ*, tế bào chủ ở động vật có vú, có sự tiết ra tối ưu của kháng thể được cuộn gấp thích hợp và có hoạt tính miễn dịch. Tế bào chủ ở động vật có vú ví dụ để biểu hiện kháng thể tái tổ hợp theo sáng chế bao gồm Tế Bào Trứng Chuột Đồng Trung Quốc (tế bào CHO) (bao gồm tế bào CHO DHFR⁻, được mô tả trong tài liệu Urlaub and Chasin, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220, được sử dụng với chất chỉ thị có tính chọn lọc DHFR, *ví dụ*, như được mô tả trong tài liệu Kaufman and Sharp, 1982, Mol. Biol. 159:601-621), tế bào u tủy NSO, tế bào COS và tế bào SP2. Khi vật truyền biểu hiện tái tổ hợp mã hóa gen kháng thể được đưa vào tế bào chủ ở động vật có vú, kháng thể được tạo ra bằng cách nuôi cấy tế bào chủ trong khoảng thời gian đủ để cho phép biểu hiện kháng thể ở tế bào chủ hoặc sự tiết kháng thể vào môi trường nuôi cấy trong đó tế bào chủ phát triển. Kháng thể có thể được thu hồi từ môi trường nuôi cấy bằng cách sử dụng các phương pháp tinh chế protein chuẩn. Tế bào chủ cũng có thể được sử dụng để sản xuất các mảnh kháng thể chức năng, chẳng hạn như các

mảnh Fab hoặc các phân tử scFv. Cần hiểu rằng các biến đổi của quy trình nêu trên cũng thuộc phạm vi của sáng chế. Ví dụ, có thể điều mong muốn là chuyển nạp tế bào chủ với ADN mã hóa chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng (nhưng không phải cả hai) của kháng thể kháng CD40 theo sáng chế.

Công nghệ ADN tái tổ hợp cũng có thể được sử dụng để loại bỏ một số hoặc tất cả các ADN mã hóa cho một trong hai hoặc cả hai chuỗi nhẹ và chuỗi nặng mà không cần thiết để liên kết với CD40 ở người. Các phân tử được biểu hiện từ các phân tử ADN được cắt cụt này cũng có thể được bao hàm bởi kháng thể theo sáng chế.

Để biểu hiện tái tổ hợp kháng thể kháng CD40 theo sáng chế, tế bào chủ có thể được đồng biến nạp với hai vật truyền biểu hiện theo sáng chế, vật truyền thứ nhất mã hóa polypeptit có nguồn gốc từ chuỗi nặng và vật truyền thứ hai mã hóa polypeptit có nguồn gốc từ chuỗi nhẹ. Hai vật truyền có thể chứa chất chỉ thị có tính chọn lọc tương đồng, hoặc mỗi vật truyền có thể chứa chất chỉ thị có tính chọn lọc riêng rẽ. Theo cách khác, vật truyền đơn có thể được sử dụng mã hóa cả hai polypeptit chuỗi nặng và chuỗi nhẹ.

Ngay khi axit nucleic mã hóa một hoặc nhiều phần của kháng thể kháng CD40, sự làm thay đổi hoặc đột biến khác có thể được đưa vào trình tự mã hóa, ví dụ để tạo ra axit nucleic mã hóa kháng thể với các trình tự CDR khác nhau, kháng thể có ái lực giảm đối với thụ thể Fc, hoặc kháng thể của các lớp phụ khác nhau.

Kháng thể kháng CD40 theo sáng chế cũng có thể được tạo ra bằng cách tổng hợp hóa học (ví dụ, bằng phương pháp được mô tả trong tài liệu Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd ed., 1984 The Pierce Chemical Co., Rockford, Ill.). Các kháng thể biến thể cũng có thể được tạo ra bằng cách sử dụng nền tảng không có tế bào (Xem tài liệu, ví dụ, Chu *et al.*, Biochemia No. 2, 2001 (Roche Molecular Biologicals) và Murray *et al.*, 2013, Current Opinion in Chemical Biology, 17:420–426).

Ngay khi kháng thể kháng CD40 theo sáng chế đã được tạo ra bằng cách biểu hiện tái tổ hợp, có thể tinh chế nó bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực để tinh chế phân tử globulin miễn dịch, ví dụ, bằng cách sắc ký (ví dụ, sắc ký trao đổi ion, sắc ký ái lực, và sắc ký cột kích thước), ly tâm, độ hòa tan khác biệt, hoặc bằng kỹ thuật tiêu chuẩn bất kỳ khác để tinh chế protein. Ngoài ra, kháng thể kháng CD40 theo sáng

chế có thể được dung hợp với trình tự polypeptit khác loại được mô tả trong bản mô tả này hoặc theo cách khác đã biết trong lĩnh vực để tạo thuận lợi cho việc tinh chế.

Ngay khi được phân lập, kháng thể kháng CD40 có thể, nếu cần, được tinh chế thêm, *ví dụ*, bằng sắc ký lỏng cao áp (*xem tài liệu, ví dụ*, Fisher, Laboratory Techniques In Biochemistry and Molecular Biology, Work and Burdon, eds., Elsevier, 1980), hoặc bằng sắc ký lọc gel trên cột Superdex™ 75 (Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Thụy Điển).

Dược Phẩm

Kháng thể kháng CD40 được mô tả trong bản mô tả này có thể ở dạng hợp phần có chứa kháng thể và một hoặc nhiều chất mang, tá dược và/hoặc chất pha loãng. Hợp phần có thể được tạo chế phẩm để sử dụng cụ thể, chẳng hạn như để sử dụng trong thú y hoặc sử dụng trong dược phẩm ở người. Dạng hợp phần (*ví dụ*, bột khô, chế phẩm dạng lỏng, v.v.) và tá dược, chất pha loãng và/hoặc chất mang được sử dụng sẽ phụ thuộc vào việc sử dụng kháng thể đã dự định và, để sử dụng trị liệu, phương thức sử dụng.

Để sử dụng trị liệu, hợp phần có thể được cung cấp dưới dạng một phần của dược phẩm vô trùng bao gồm chất mang dược dụng. Hợp phần này có thể ở dạng thích hợp bất kỳ (phụ thuộc vào phương pháp mong muốn để sử dụng nó cho đối tượng, *ví dụ*, đối tượng là người, *tức là*, bệnh nhân). Dược phẩm có thể được dùng cho đối tượng theo nhiều đường chẳng hạn như đường miệng, qua da, dưới da, đường mũi, trong tĩnh mạch, trong cơ, trong khối u, nội tủy mạc, tại chỗ hoặc cục bộ. Đường dùng phù hợp nhất trong trường hợp đã nêu bất kỳ phụ thuộc vào kháng thể cụ thể, đối tượng, và tự nhiên và tính nghiêm trọng của bệnh và tình trạng thể chất của đối tượng. Thường là, dược phẩm sẽ được dùng trong tĩnh mạch hoặc dưới da.

Dược phẩm có thể có mặt thích hợp ở dạng liều lượng đơn vị chứa lượng đã xác định trước của kháng thể kháng CD40 được mô tả trong bản mô tả này trên mỗi liều lượng. Hàm lượng kháng thể kháng CD40 được bao gồm ở liều lượng đơn vị sẽ phụ thuộc vào bệnh đang được điều trị, cũng như là các yếu tố khác như đã biết rõ trong lĩnh vực. Các liều lượng đơn vị này có thể ở dạng bột khô được làm đông khô chứa hàm lượng kháng thể phù hợp để dùng đơn lẻ, hoặc ở dạng lỏng. Các dạng liều lượng đơn vị bột khô có thể được đóng gói trong bộ kit có ống tiêm, hàm lượng thích hợp của chất

pha loãng và/hoặc các hợp phần khác hữu dụng để dùng. Các liều lượng đơn vị ở dạng lỏng có thể được cung cấp thích hợp ở dạng ống tiêm đã được nhồi trước với hàm lượng kháng thể kháng CD40 phù hợp để dùng đơn lẻ.

Dược phẩm cũng có thể được cung cấp ở dạng khối lớn chứa các hàm lượng kháng thể kháng CD40 phù hợp để dùng nhiều lần.

Dược phẩm có thể được điều chế để lưu trữ dưới dạng chế phẩm đông khô hoặc dung dịch trong nước bằng cách trộn kháng thể có mức độ tinh khiết mong muốn với chất mang, tá dược hoặc chất làm ổn định được dùng tùy ý thường dùng trong lĩnh vực (tất cả chất được đề cập trong bản mô tả này là "chất mang"), *tức là*, chất đệm, chất làm ổn định, chất bảo quản, chất tăng cường, chất tẩy không ion, chất chống oxy hóa, và các chất phụ gia hỗn tạp khác. *Xem tài liệu*, Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition (Osol, ed. 1980). Các phụ gia này không gây độc đối với thể nhận ở các liều lượng và nồng độ được dùng.

Chất đệm giúp duy trì độ pH trong khoảng xấp xỉ với điều kiện sinh lý. Chúng có thể có mặt ở nhiều nồng độ, nhưng thường có mặt ở các nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 2 mM đến khoảng 50 mM. Chất đệm phù hợp để sử dụng theo sáng chế bao gồm cả axit hữu cơ và axit vô cơ và muối của chúng chẳng hạn như đệm xitrat (*ví dụ*, hỗn hợp mononatri xitrat-đinatri xitrat, hỗn hợp axit xitric-trinatri xitrat, hỗn hợp axit xitric-mononatri xitrat, v.v.), đệm succinat (*ví dụ*, hỗn hợp axit succinic-mononatri succinat, hỗn hợp axit succinic-natri hydroxit, hỗn hợp axit succinic-đinatri succinat, v.v.), đệm tartrat (*ví dụ*, hỗn hợp axit tartaric-natri tartrat, hỗn hợp axit tartaric-kali tartrat, hỗn hợp axit tartaric-natri hydroxit, v.v.), đệm phosphat (*ví dụ*, hỗn hợp axit phosphoric-mononatri phosphat, hỗn hợp axit phosphoric-đinatri phosphat, hỗn hợp mononatri phosphat -đinatri phosphat, v.v.), đệm gluconat (*ví dụ*, hỗn hợp axit gluconic-natri gluconat, hỗn hợp axit gluconic-natri hydroxit, hỗn hợp axit gluconic-kali gluconat, v.v.), đệm oxalat (*ví dụ*, hỗn hợp axit oxalic-natri oxalat, hỗn hợp axit oxalic-natri hydroxit, hỗn hợp axit oxalic-kali oxalat, v.v.), đệm lactat (*ví dụ*, hỗn hợp axit lactic-natri lactat, hỗn hợp axit lactic-natri hydroxit, hỗn hợp axit lactic-kali lactat, v.v.) và đệm axetat (*ví dụ*, hỗn hợp axit axetic-natri axetat, hỗn hợp axit axetic-natri hydroxit, v.v.). Ngoài ra, đệm fumarat, đệm histidin và muối trimetylamin chẳng hạn như 2-amino-2-

hydroxymethyl-propan-1,3-diol (tức là, Tris, THAM, hoặc tris(hydroxymethyl)aminometan) có thể được sử dụng.

Chất làm đẳng trương đôi khi được gọi là "chất làm ổn định" có thể được thêm vào để đảm bảo tính đẳng trương của hợp phần dạng lỏng theo sáng chế và bao gồm rượu đường polyhydric, ví dụ rượu đường trihydric hoặc bậc cao hơn, chẳng hạn như glycerin, erythritol, arabitol, xylitol, sorbitol và mannitol. Các chất ổn định dùng để chỉ hàng loạt các tá dược mà có thể thay đổi về chức năng từ chất độn đến chất bổ sung mà hòa tan được chất hoặc giúp ngăn ngừa sự biến tính hoặc dính vào thành vật chứa. Chất làm ổn định thường có thể là rượu đường polyhydric (liệt kê ở trên); axit amin chẳng hạn như arginin, lysin, glyxin, glutamin, asparagin, histidin, alanin, ornithin, loxin, 2-phenylalanin, axit glutamic, threonin, v.v., đường hữu cơ hoặc rượu đường, chẳng hạn như lactoza, trehaloza, stachyose, mannitol, sorbitol, xylitol, ribitol, myoinositol, galactitol, glyxerol và tương tự, bao gồm các cyclitol chẳng hạn như inositol; polyetylen glycol; polyme axit amin; lưu huỳnh chứa các chất khử, chẳng hạn như ure, glutathion, axit thiocetic, natri thioglycolat, thioglyxerol, α -monothioglyxerol và natri thiosulfat; polypeptit khối lượng phân tử thấp (ví dụ, các peptit có 10 gốc hoặc ít hơn); polyme ưa nước, chẳng hạn như polyvinylpyrrolidon monosaccarit, chẳng hạn như xyloza, mannoza, fructoza, glucoza; disaccarit chẳng hạn như lactoza, maltoza, sucroza và trehaloza; và các trisaccarit chẳng hạn như raffinosa; và các polysaccarit chẳng hạn như dextran. Chất làm ổn định có thể có mặt ở lượng nằm trong khoảng từ khoảng 0,5 đến 10% theo khối lượng trên khối lượng của kháng thể kháng CD40.

Chất hoạt động bề mặt hoặc chất tẩy không ion (còn được gọi là "chất tạo ẩm") có thể được thêm vào để giúp hòa tan glycoprotein cũng như là để bảo vệ glycoprotein chống lại sự kết tụ xảy ra do khuấy trộn, cũng cho phép chế phẩm được lộ ra ra với bề mặt trượt chịu ứng suất mà không gây ra sự thoái hóa protein. Chất hoạt động bề mặt không ion phù hợp bao gồm polysorbat (20, 80, v.v.), poloxamer (184, 188 v.v.), và rượu đa chức pluronic. Chất hoạt động bề mặt không ion có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 0,05 mg/ml đến khoảng 1,0 mg/ml.

Phương án ví dụ cụ thể về hợp phần trong nước phù hợp để dùng thông qua truyền trong tĩnh mạch có chứa 10 mg/ml kháng thể kháng CD40, 15 mM đệm histidin, độ pH 6,0, sucroza 8,0% (khối lượng/thể tích), và polysorbat 80 0,05% (khối lượng/thể tích).

Theo các phương án nhất định, kháng thể kháng CD40 là kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể được làm giống người được mô tả trong BẢNG 3. Hợp phần có thể ở dạng bột đông khô, ngay khi hoàn nguyên với 2,0 ml nước vô trùng hoặc dung dịch khác phù hợp để tiêm hoặc truyền (ví dụ, nước muối 0,9%, dung dịch Ringer, dung dịch Ringer lactat, v.v.) tạo ra hợp phần trong nước ở trên. Hợp phần, hoặc các phương án khác về hợp phần, cũng có thể ở dạng ống tiêm hoặc dụng cụ khác phù hợp để tiêm và/hoặc truyền đã được đổ đầy trước với hàm lượng hợp phần phù hợp để dùng đơn lẻ của kháng thể kháng CD40.

Phương Pháp Sử Dụng

Lợi ích trị liệu

Dữ liệu được cung cấp trong bản mô tả này chứng tỏ rằng kháng thể kháng CD40 được mô tả trong bản mô tả này chủ vận với CD40 khi có mặt tế bào khối u gây ra hoạt tính kháng khối u tiềm năng chống lại khối u rắn *in vivo*. Theo đó, kháng thể kháng CD40, mảnh liên kết, và/hoặc được phẩm có chứa kháng thể kháng CD40 có thể được sử dụng trị liệu để điều trị khối u rắn.

Thông thường, phương pháp bao gồm việc dùng cho bệnh nhân là người có khối u dạng rắn lượng hữu hiệu của kháng thể kháng CD40 chủ vận với CD40, và tiêu diệt và/hoặc làm giảm sự tăng sinh tế bào khối u để mang lại lợi ích trị liệu. Khối u dạng rắn mà có thể được điều trị bằng kháng thể kháng CD40 bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ung thư tuyến thượng thận, ung thư xương, ung thư vú, ung thư đại trực tràng, ung thư thực quản, ung thư mắt, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư thận, ung thư gan, ung thư phổi (ví dụ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, u trung biểu mô), ung thư đầu và cổ (ví dụ, ung thư biểu mô tế bào vảy ở đầu và cổ), u lympho (ví dụ, u lympho tế bào B), u melanin (ví dụ, u melanin ác tính tiến triển, u melanin da), ung thư miệng, ung thư buồng trứng, ung thư dương vật, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tuyến tụy, ung thư da, ung thư tinh hoàn, ung thư tuyến giáp, ung thư cổ tử cung, và ung thư âm đạo. Theo một số phương án, khối u dạng rắn là ung thư đầu và cổ, ung thư phổi, u melanin hoặc ung thư tuyến tụy.

Ung thư có thể mới được chẩn đoán và nguyên bản để điều trị, hoặc có thể tái phát, khó chữa, hoặc tái phát và khó chữa, hoặc dạng di căn của khối u rắn. Thật vậy, dữ

liệu *in vivo* ở các mẫu phòng ngừa PC3 ở chuột (HÌNH 12) thể hiện kháng thể kháng CD40 hữu hiệu trong việc làm giảm kích thước khối u khi so với việc dùng liều lượng với kháng thể phân lớp.

Không bị giới hạn bởi lý thuyết, tin rằng kháng thể kháng CD40 hoạt hóa hệ miễn dịch bằng cách chủ vận với CD40. Sau đó đáp ứng miễn dịch gây ra tác dụng kháng khối u lên tế bào khối u lân cận, mà không liên quan đến mức độ biểu hiện CD40. Theo đó, kháng thể kháng CD40 theo sáng chế được mong chờ là hữu hiệu chống lại khối u dạng rắn CD40 dương hoặc CD40 âm.

Kháng thể kháng CD40 theo sáng chế có thể được dùng một mình (đơn trị liệu) hoặc hỗ trợ cho, hoặc cùng với, các trị liệu kháng ung thư và/hoặc các chất kháng ung thư hướng đích hoặc không hướng đích. Nếu được dùng dưới dạng đơn trị liệu hoặc hỗ trợ cho, hoặc cùng với, các trị liệu hoặc chất khác, hàm lượng kháng thể kháng CD40 được dùng sao cho phác đồ trị liệu tổng mang lại lợi ích trị liệu.

Vì lợi ích trị liệu có nghĩa là việc sử dụng kháng thể kháng CD40 để điều trị ung thư ở bệnh nhân dẫn đến lợi ích lâm sàng đã được chứng minh bất kỳ so với không có trị liệu (khi thích hợp) hoặc đối với tiêu chuẩn chăm sóc đã biết. Có thể đánh giá lợi ích lâm sàng bằng phương pháp bất kỳ đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực. Theo một phương án, đánh giá lợi ích lâm sàng dựa trên tỉ lệ đáp ứng mục tiêu (objective response rate - ORR) (được xác định bằng cách sử dụng RECIST phiên bản 1.1), khoảng thời gian đáp ứng (duration of response - DOR), sự sống sót không tiến triển (progression-free survival - PFS), và/hoặc sự sống sót chung (overall survival - OS). Theo một số phương án, đáp ứng hoàn toàn biểu thị lợi ích trị liệu. Theo một số phương án, đáp ứng một phần biểu thị lợi ích trị liệu. Theo một số phương án, đáp ứng ổn định biểu thị lợi ích trị liệu. Theo một số phương án, sự tăng về độ sống sót chung biểu thị lợi ích trị liệu. Theo một số phương án, lợi ích trị liệu có thể cấu thành sự phát triển theo thời gian đối với sự tiến triển bệnh và/hoặc sự phát triển ở các triệu chứng hoặc chất lượng cuộc sống. Theo các phương án khác, lợi ích trị liệu có thể không thể hiện ra khoảng thời gian kiểm soát bệnh tăng, nhưng gánh nặng triệu chứng giảm rõ rệt dẫn đến chất lượng cuộc sống được cải thiện. Như được hiểu rõ đối với người có hiểu biết trong lĩnh vực, lợi ích trị liệu có thể được quan sát thấy bằng cách sử dụng kháng

thể kháng CD40 một mình (đơn trị liệu) hoặc bổ trợ cho, hoặc cùng với, các trị liệu kháng ung thư và/hoặc các chất kháng ung thư hướng đích hoặc không hướng đích.

Thường là, đánh giá lợi ích trị liệu bằng cách sử dụng các thử nghiệm lâm sàng tiêu chuẩn được thiết kế để đo đáp ứng với trị liệu mới đối với ung thư. Để đánh giá các lợi ích trị liệu của kháng thể kháng CD40 được mô tả trong bản mô tả này có thể sử dụng một thử nghiệm hoặc kết hợp các thử nghiệm sau đây: (1) Tiêu Chuẩn Đánh Giá Đáp Ứng Ở Khối U Dạng Rắn (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors - RECIST) phiên bản 1.1, (2) Tình Trạng Hoạt Động Nhóm Ung Thư Hợp Tác Phương Đông (ECOG), (3) tiêu chuẩn đáp ứng có liên quan đến miễn dịch (irRC), (4) khả năng đánh giá bệnh bằng việc đánh giá kháng nguyên ung thư, (5) bệnh nhân được công nhận bởi thang kết quả báo cáo, và/hoặc (6) Kaplan-Meier ước tính cho sự sống sót chung và sự sống sót không tiến triển.

Đánh giá sự thay đổi về gánh nặng khối u là đặc điểm quan trọng của việc đánh giá lâm sàng các trị liệu ung thư. Cả độ co khối u (đáp ứng mục tiêu) và thời gian để phát triển tiến triển bệnh là các điểm cuối quan trọng trong các thử nghiệm lâm sàng ung thư. Tiêu chuẩn đáp ứng được tiêu chuẩn hóa, được gọi là RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors - Tiêu Chuẩn Đánh Giá Đáp Ứng Ở Khối U Dạng Rắn), được công bố vào năm 2000. (RECIST 1.1) cập nhật được phát hành vào năm 2009. Tiêu chuẩn RECIST thường được sử dụng trong các thử nghiệm lâm sàng trong đó đáp ứng mục tiêu là điểm cuối nghiên cứu cơ bản, cũng như là trong các thử nghiệm mà đánh giá đáp ứng ổn định, tiến triển khối u hoặc thời gian để phân tích sự tiến triển được tiến hành bởi vì các phép đo kết quả này dựa trên đánh giá gánh nặng khối u giải phẫu và sự thay đổi của nó qua các khóa thử nghiệm. BẢNG 4 cung cấp các định nghĩa của tiêu chuẩn đáp ứng được sử dụng để xác định đáp ứng khối u mục tiêu với thuốc nghiên cứu, chẳng hạn như kháng thể kháng CD40 được mô tả trong bản mô tả này.

BẢNG 4	
Đáp ứng	Tiêu chuẩn
Đáp ứng hoàn toàn (CR)	Sự biến mất của tất cả các thương tổn đích. Hạch lympho bệnh lý bất kỳ (đích hay không đích) phải có sự giảm đi ở trực tràng xuống <10 mm.

BẢNG 4	
Đáp ứng	Tiêu chuẩn
Đáp Ứng Một Phần (PR)	Giảm đi ít nhất là 30% ở tổng của các đường kính của thương tổn đích, lấy làm tham chiếu tổng đường cơ sở của các đường kính.
Bệnh Tiến triển (PD)	Tăng lên ít nhất là 20% ở tổng của các đường kính của thương tổn đích, lấy làm tham chiếu tổng nhỏ nhất trong nghiên cứu (nó bao gồm tổng đường cơ sở nếu nó là nhỏ nhất trong nghiên cứu). Ngoài sự tăng tương đối bằng 20%, tổng cũng phải chứng tỏ sự tăng tuyệt đối bằng ít nhất là 5 mm. (Lưu ý: sự xuất hiện của một hoặc nhiều tổn thương mới cũng được coi là tiến triển).
Đáp Ứng Ổn Định (SD)	Khi không có độ co đủ để xác định định tính đối với PR hoặc không tăng đủ để xác định định tính đối với PD, lấy làm tham chiếu tổng nhỏ nhất của các đường kính khi nghiên cứu.

Số đo kết quả thứ cấp mà có thể được sử dụng để xác định lợi ích trị liệu của kháng thể kháng CD40 được mô tả trong bản mô tả này bao gồm, Tỉ Lệ Đáp Ứng Mục Tiêu (ORR), Sự Sống Sót Không Tiến Triển (PFS), Sự Sống Sót Chung (OS), Thời Gian Đáp Ứng Chung (DOR), và Độ Sâu Đáp Ứng (DpR). ORR được xác định dưới dạng tỉ lệ của những người tham gia mà đạt đến đáp ứng hoàn toàn (CR) hoặc đáp ứng một phần (PR). PFS được xác định dưới dạng thời gian từ ngày dùng liều lượng thứ nhất của kháng thể kháng CD40 đến khi bệnh tiến triển hoặc chết, tùy theo cái nào xảy ra trước. OS được xác định dưới dạng khoảng thời gian từ ngày chẩn đoán hoặc bắt đầu điều trị đối với bệnh, mà bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh vẫn còn sống. DOR được xác định dưới dạng thời gian từ CR hoặc PR ban đầu của người tham gia đến thời gian tiến triển bệnh. DpR được xác định dưới dạng tỉ lệ phần trăm của độ co khối u quan sát được ở điểm đáp ứng lớn nhất so với tải lượng khối u đường cơ sở. Điểm kết thúc lâm sàng đối với cả ORR và PFS có thể được xác định dựa trên tiêu chuẩn RECIST 1.1 được mô tả ở trên.

Thang ECOG của Tình Trạng Thực Hiện thể hiện trên BẢNG 5 được sử dụng để mô tả mức độ hoạt động của bệnh nhân về khả năng tự chăm sóc, hoạt động hàng ngày, và khả năng sức khỏe của họ. Thang này được phát triển bởi Nhóm Ung Thư Hợp Tác Phương Đông (Eastern Cooperative Oncology Group - ECOG), hiện nay là một phần của Nhóm Nghiên Cứu Ung Thư ECOG-ACRIN, và công bố vào năm 1982.

BẢNG 5	
Loại	Tình Trạng Thực Hiện ECOG
0	Hoạt tính đầy đủ, có thể tiến hành tất cả các thực hiện trước khi bị bệnh mà không bị hạn chế
1	Bị hạn chế ở hoạt động tích cực thân thể nhưng có thể đi lại và có thể thực hiện các công việc có bản chất nhẹ nhàng hoặc ngồi nhiều, ví dụ, việc nhà nhẹ nhàng, công việc văn phòng
2	Sự đi lại và sự có khả năng tự phục vụ hoàn toàn nhưng không thể thực hiện hoạt động làm việc bất kỳ ; lên đến và khoảng lớn hơn 50% giờ đi bộ
3	Chỉ có khả năng tự phục vụ hạn chế; giới hạn ở giường hoặc ghế hơn 50% giờ đi bộ
4	Hoàn toàn không có khả năng; không thể thực hiện việc tự chăm sóc bất kỳ cannot; hoàn toàn bị hạn chế ở giường hoặc ghế
5	Chết

Bộ tiêu chuẩn khác mà có thể được sử dụng để xác định đặc điểm đầy đủ và để xác định đáp ứng với chất trị liệu miễn dịch, chẳng hạn như liệu pháp ung thư dựa trên kháng thể, là tiêu chuẩn đáp ứng liên quan đến miễn dịch (immune-related response criteria - irRC), mà được phát triển để đo khối u rắn vào năm 2009, và cập nhật vào năm 2013 (Wolchok, et al. Clin. Cancer Res. 2009; 15(23): 7412-7420 và Nishino, et al. Clin. Cancer Res. 2013; 19(14): 3936-3943, mỗi tài liệu được kết hợp trong bản mô tả này để tham khảo đến toàn bộ nội dung của nó). Tiêu chuẩn irRC cập nhật thường được dùng để đánh giá tác dụng của tác nhân trị liệu miễn dịch, chẳng hạn như kháng thể kháng

CD40 được mô tả trong bản mô tả này, lên gánh nặng khối u, và xác định đáp ứng theo BẢNG 6.

BẢNG 6	
Đáp ứng	Tiêu chuẩn
Đáp ứng hoàn toàn (CR)	Biến mất tất cả các thương tổn đích trong hai lần quan sát liên tiếp cách nhau không ít hơn 4 tuần
Đáp Ứng Một Phần (PR)	Giảm đi ít nhất là 30% ở tổng của các đường kính dài nhất của thương tổn đích, lấy làm tham chiếu tổng đường cơ sở của các đường kính.
Bệnh Tiến triển (PD)	Tăng lên ít nhất là 20% ở tổng của các đường kính của thương tổn đích, lấy làm tham chiếu tổng nhỏ nhất trong nghiên cứu (nó bao gồm tổng đường cơ sở nếu nó là nhỏ nhất trong nghiên cứu). (Lưu ý: sự xuất hiện của một hoặc nhiều tổn thương mới không được coi là tiến triển. Phép đo tổn thương mới được bao gồm trong tổng của các phép đo).
Đáp Ứng Ổn Định (SD)	Khi không có độ co đủ để xác định định tính đối với PR hoặc không tăng đủ để xác định định tính đối với PD, lấy làm tham chiếu tổng nhỏ nhất của các đường kính khi nghiên cứu.

Một lợi ích trị liệu ví dụ bắt nguồn từ việc sử dụng kháng thể kháng CD40 được mô tả trong bản mô tả này là điều trị khối u rắn, dù được dùng dưới dạng đơn trị liệu hoặc thêm vào, hoặc cùng với, các trị liệu hoặc tác nhân khác, là sự đáp ứng hoàn toàn. Lợi ích trị liệu khác ví dụ bắt nguồn từ việc sử dụng kháng thể kháng CD40 được mô tả trong bản mô tả này là điều trị khối u rắn, dù được dùng dưới dạng đơn trị liệu hoặc thêm vào, hoặc cùng với, các trị liệu hoặc tác nhân khác, là sự đáp ứng hoàn toàn một phần.

Thang kết quả báo cáo bệnh nhân hợp lệ cũng có thể được sử dụng để biểu thị đáp ứng được tạo ra bởi mỗi bệnh nhân qua hệ thống báo cáo cụ thể. Ngoài bệnh được tập trung vào, thang kết quả này có liên quan đến chức năng được giữ lại trong khi quản

lý tình trạng bệnh mãn tính. Một ví dụ không làm giới hạn sáng chế về thang kết quả báo cáo bệnh nhân hợp lệ là PROMIS® (Hệ Thống Thông Tin Đo Kết Quả Báo Cáo Bệnh Nhân - Patient Reported Outcomes Measurement Information System) từ Viện Sức Khỏe Quốc Gia Hoa Kỳ (United States National Institutes of Health). Ví dụ, Thiết Bị Chức Năng Sức Khỏe PROMIS® đối với bệnh nhân ung thư trưởng thành có thể đánh giá khả năng tự báo cáo đối với hoạt động ở cực trên (*ví dụ*, sự khéo léo), cực dưới (*ví dụ*, đi bộ hoặc di chuyển), và các vùng trung tâm (*ví dụ*, di chuyển cổ, lưng), và bao gồm hoạt động hàng ngày thông thường, chẳng hạn như chạy việc vặt.

Đường cong Kaplan-Meier (Kaplan and Meier, J. Am. Stat. Assoc. 1958; 53(282): 457-481) cũng có thể được sử dụng để ước tính sự sống sót chung và sự sống sót không tiến triển đối với bệnh nhân ung thư trải qua liệu pháp kháng thể kháng CD40 so với tiêu chuẩn chăm sóc.

Liệu Pháp Phụ Thêm

Kháng thể kháng CD40 có thể được sử dụng phụ thêm vào, hoặc cùng với, các tác nhân hoặc sự điều trị khác có tính chất chống ung thư. Khi được dùng phụ thêm, kháng thể kháng CD40 và (các) tác nhân khác có thể được tạo chế phẩm cùng nhau trong được phẩm kết hợp, đơn lẻ, hoặc có thể được tạo chế phẩm và được dùng riêng rẽ, theo phác đồ liều lượng phối hợp đơn lẻ hoặc theo các phác đồ liều lượng khác nhau. Các tác nhân được dùng bổ trợ cho hoặc cùng với kháng thể kháng CD40 thường có hoạt tính bổ trợ đối với kháng thể kháng CD40 sao cho kháng thể và các tác nhân khác không ảnh hưởng bất lợi đến nhau.

Các tác nhân có thể được dùng hỗ trợ cho hoặc cùng với kháng thể kháng CD40 bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất alkyl hóa, chất ức chế hình thành mạch, kháng thể, chất chống chuyển hóa, chất chống phân bào, chất chống tăng sinh, chất khác virus, chất ức chế aurora kinaza, vùng khởi động chết theo chương trình (ví dụ, chất ức chế họ Bcl-2), chất hoạt hóa của con đường thụ thể gây chết, chất ức chế Bcr-Abl kinaza, kháng thể BiTE (Chất Ăn Khớp Tế Bào T Đặc Hiệu Kép - Bi-Specific T cell Engager), thể liên hợp thuốc kháng thể, chất cải biến đáp ứng sinh học, chất ức chế kinaza phụ thuộc cyclin, chất ức chế chu trình tế bào, chất ức chế cyclooxygenaza-2, DVD, chất ức chế thụ thể chất tương đồng gen gây ung thư virus gây bệnh bạch cầu (ErbB2), chất ức

chế yếu tố sinh trưởng, chất ức chế protein sốc nhiệt (HSP)-90, chất ức chế histon deacetylaza (HDAC), liệu pháp hormon, chất miễn dịch, chất ức chế của chất ức chế của protein gây chết tế bào theo chương trình (IAP), chất kháng sinh xen kẽ, chất ức chế kinaza, chất ức chế kinesin, đích động vật có vú của chất ức chế rapamycin (mTor), microARN, chất ức chế kinaza được điều hòa bằng tín hiệu ngoại bào được hoạt hóa bởi chất gây nguyên phân, thuốc kháng viêm không steroid (NSAID), chất ức chế poly ADP (adenosin diphosphat)-riboza polymeraza (PARP), hóa trị liệu platin, chất ức chế tyrosin kinaza Bruton (BTK) (ví dụ, ibrutinib, acalabrutinib), chất ức chế kinaza giống polo (Plk), chất ức chế phosphoinositit-3 kinaza (PI3K), chất ức chế proteasom, chất tương tự purin, chất tương tự pyrimidin, chất ức chế thụ thể tyrosin kinaza, alkaloid thực vật etinoid/deltaoit, axit ribonucleic ức chế nhỏ (siARN), chất ức chế topoisomeraza, chất ức chế ubiquitin ligaza, và chất tương tự, cũng như là dạng kết hợp của một hoặc nhiều chất này.

Ví dụ về chất miễn dịch bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, interferon, chất ức chế điểm kiểm tra miễn dịch, và các tác nhân tăng cường miễn dịch khác. Interferon bao gồm interferon alpha, interferon alpha-2a, interferon alpha-2b, interferon beta, interferon gamma-1a, ACTIMMUNE® (interferon gamma-1b) hoặc interferon gamma-n1, dạng kết hợp của chúng và chất tương tự. Chất ức chế điểm kiểm tra miễn dịch bao gồm kháng thể mà nhắm đích PD-1 (ví dụ, pembrolizumab và nivolumab), PD-L1 (ví dụ, durvalumab, atezolizumab, avelumab, MEDI4736, MSB0010718C và MPDL3280A), và CTLA4 (kháng nguyên tế bào lympho gây độc tế bào 4; ví dụ, ipilimumab, tremelimumab). Các tác nhân tăng cường miễn dịch bao gồm kháng thể chủ vận kháng-OX40 mà hoạt hóa tế bào T. Theo các phương án nhất định, kháng thể kháng CD40 được làm cho giống người thể hiện trên BẢNG 3 được dùng bổ trợ cho pembrolizumab. Theo các phương án nhất định khác, kháng thể kháng CD40 được làm cho giống người thể hiện trên BẢNG 3 được dùng bổ trợ cho nivolumab.

Kháng thể kháng CD40 cũng có thể được sử dụng để tăng cường hiệu quả của liệu pháp xạ trị. Ví dụ về liệu pháp xạ trị bao gồm liệu pháp xạ trị chùm tia ngoài, liệu pháp xạ trị trong (tức là, xạ trị áp sát) và liệu pháp xạ trị toàn thân.

Liều Lượng Và Phác Đồ Sử Dụng

Lượng của kháng thể kháng CD40 được dùng sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, loại cụ thể của khối u rắn được điều trị, giai đoạn của khối u rắn đang được điều trị, phương thức sử dụng, tần suất dùng, lợi ích trị liệu mong muốn, và các tham số khác chẳng hạn như tuổi, khối lượng và các đặc điểm khác của bệnh nhân, v.v. Việc xác định liều lượng hữu hiệu để mang lại lợi ích trị liệu đối với các phương thức và tần suất dùng cụ thể nằm trong khả năng của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực.

Liều lượng hữu hiệu để mang lại lợi ích trị liệu có thể được ước tính ban đầu từ mô hình động vật *in vivo* hoặc lâm sàng. Mô hình động vật thích hợp cho nhiều loại bệnh là đã biết trong lĩnh vực.

Kháng thể kháng CD40 được bộc lộ trong bản mô tả này có thể được dùng bằng đường dùng bất kỳ thích hợp với tình trạng bệnh cần điều trị. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 thường được dùng ngoài đường tiêu hóa, *tức là*, truyền, dưới da, trong cơ, trong tĩnh mạch (IV), trong da, nội tủy mạc, tiêm bolus, tiêm trong khối u (IT) hoặc qua màng cứng ((Shire *et al.*, 2004, *J. Pharm. Sciences* 93(6):1390-1402)). Theo một phương án, kháng thể kháng CD40 được cung cấp dưới dạng bột đông khô trong lọ. Lọ có thể chứa 21 mg của kháng thể kháng CD40. Trước khi sử dụng, bột đông khô được hoàn nguyên với nước tiệt trùng để tiêm (SWFI) hoặc môi trường thích hợp khác để tạo ra dung dịch chứa 10 mg/ml kháng thể kháng CD40. Theo một số phương án, dung dịch hoàn nguyên thu được được pha loãng thêm bằng nước muối hoặc môi trường thích hợp khác và được dùng thông qua truyền IV hai lần trong mỗi 7 ngày, một lần trong mỗi 7 ngày, một lần trong mỗi 14 ngày, một lần trong mỗi 21 ngày, một lần trong mỗi 28 ngày, một lần trong mỗi 35 ngày, một lần trong mỗi 42 ngày, một lần trong mỗi 49 ngày, hoặc một lần trong mỗi 56 ngày. Theo một số phương án, đối với chu kỳ thứ nhất, việc truyền diễn ra trong 90 phút. Theo một số phương án, các lần truyền tiếp theo là trong 60 phút. Theo các phương án khác, dung dịch hoàn nguyên thu được được pha loãng thêm bằng nước muối hoặc môi trường thích hợp khác và được dùng thông qua tiêm IT hai lần trong mỗi 7 ngày, một lần trong mỗi 7 ngày, một lần trong mỗi 14 ngày, một lần trong mỗi 21 ngày, một lần trong mỗi 28

ngày, một lần trong mỗi 35 ngày, một lần trong mỗi 42 ngày, một lần trong mỗi 49 ngày, hoặc một lần trong mỗi 56 ngày.

Theo một phương án ví dụ, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng dưới dạng truyền IV một lần trong mỗi 7 ngày ở 0,005 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, 2,0 mg/kg, 2,2 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,6 mg/kg, 2,8 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,2 mg/kg, 3,4 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,8 mg/kg, hoặc 4,0 mg/kg.

Theo phương án ví dụ khác, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng dưới dạng truyền IV một lần trong mỗi 14 ngày ở 0,005 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, 2,0 mg/kg, 2,2 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,6 mg/kg, 2,8 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,2 mg/kg, 3,4 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,8 mg/kg, hoặc 4,0 mg/kg.

Theo phương án ví dụ khác, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng dưới dạng truyền IV một lần trong mỗi 28 ngày ở 0,005 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, 2,0 mg/kg, 2,2 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,6 mg/kg, 2,8 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,2 mg/kg, 3,4 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,8 mg/kg, hoặc 4,0 mg/kg.

Theo phương án ví dụ khác, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng dưới dạng tiêm IT một lần trong mỗi 7 ngày ở 0,001 mg/kg, 0,002 mg/kg, 0,003 mg/kg, 0,004 mg/kg, 0,005 mg/kg, 0,006 mg/kg, 0,007 mg/kg, 0,008 mg/kg, 0,009 mg/kg, 0,01

mg/kg, 0,015 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, hoặc 2,0 mg/kg.

Theo phương án ví dụ khác, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng dưới dạng tiêm IT một lần trong mỗi 14 ngày ở 0,001 mg/kg, 0,002 mg/kg, 0,003 mg/kg, 0,004 mg/kg, 0,005 mg/kg, 0,006 mg/kg, 0,007 mg/kg, 0,008 mg/kg, 0,009 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,015 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, hoặc 2,0 mg/kg.

Theo phương án ví dụ khác, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng dưới dạng tiêm IT một lần trong mỗi 28 ngày ở 0,001 mg/kg, 0,002 mg/kg, 0,003 mg/kg, 0,004 mg/kg, 0,005 mg/kg, 0,006 mg/kg, 0,007 mg/kg, 0,008 mg/kg, 0,009 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,015 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, hoặc 2,0 mg/kg.

Khi được dùng hỗ trợ cho hoặc cùng với các tác nhân khác, chẳng hạn như chất hóa trị liệu khác, kháng thể kháng CD40 có thể được dùng theo cùng phác đồ như (các) tác nhân khác, hoặc theo phác đồ khác. Khi được dùng theo cùng phác đồ, kháng thể kháng CD40 có thể được dùng trước, sau, hoặc đồng thời với tác nhân khác. Theo một số phương án khi kháng thể kháng CD40 được dùng phụ thêm vào, hoặc cùng với, tiêu chuẩn chăm sóc, kháng thể kháng CD40 có thể được bắt đầu trước khi khởi đầu liệu pháp tiêu chuẩn, ví dụ một ngày, vào ngày, một tuần, vài tuần, một tháng, hoặc thậm chí vài tháng trước khi khởi đầu trị liệu tiêu chuẩn chăm sóc.

Theo một phương án ví dụ, kháng thể kháng CD40 được dùng bổ trợ cho nivolumab (OPDIVO®) để điều trị ung thư phổi tế bào không nhỏ. Theo một số phương

án, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng thông qua truyền IV một lần trong mỗi 7 ngày ở 0,005 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, 2,0 mg/kg, 2,2 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,6 mg/kg, 2,8 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,2 mg/kg, 3,4 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,8 mg/kg, hoặc 4,0 mg/kg. Nivolumab được dùng bằng cách truyền trong tĩnh mạch ở liều lượng bằng 3 mg/kg trong 60 phút hai tuần một lần. Liệu pháp kháng thể kháng CD40 hỗ trợ/nivolumab được tiếp tục đến khi tiến triển bệnh hoặc không còn dung chịu được bởi bệnh nhân.

Theo phương án ví dụ khác, kháng thể kháng CD40 được dùng bổ trợ cho nivolumab (OPDIVO®) để điều trị ung thư phổi tế bào không nhỏ. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng thông qua truyền IV một lần trong mỗi 14 ngày ở 0,005 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, 2,0 mg/kg, 2,2 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,6 mg/kg, 2,8 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,2 mg/kg, 3,4 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,8 mg/kg, hoặc 4,0 mg/kg. Nivolumab được dùng bằng cách truyền trong tĩnh mạch ở liều lượng bằng 3 mg/kg trong 60 phút hai tuần một lần. Liệu pháp kháng thể kháng CD40 hỗ trợ/nivolumab được tiếp tục đến khi tiến triển bệnh hoặc không còn dung chịu được bởi bệnh nhân.

Theo phương án ví dụ khác, kháng thể kháng CD40 được dùng bổ trợ cho nivolumab (OPDIVO®) để điều trị ung thư phổi tế bào không nhỏ. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng thông qua truyền IV một lần trong mỗi 28 ngày ở 0,005 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5

mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, 2,0 mg/kg, 2,2 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,6 mg/kg, 2,8 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,2 mg/kg, 3,4 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,8 mg/kg, hoặc 4,0 mg/kg. Nivolumab được dùng bằng cách truyền trong tĩnh mạch ở liều lượng bằng 3 mg/kg trong 60 phút hai tuần một lần. Liệu pháp kháng thể kháng CD40 hỗ trợ/ nivolumab được tiếp tục đến khi tiến triển bệnh hoặc không còn dung chịu được bởi bệnh nhân.

Theo phương án ví dụ khác, kháng thể kháng CD40 được dùng bổ trợ cho nivolumab (OPDIVO®) để điều trị ung thư phổi tế bào không nhỏ. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng dưới dạng tiêm IT một lần trong mỗi 7 ngày ở 0,001 mg/kg, 0,002 mg/kg, 0,003 mg/kg, 0,004 mg/kg, 0,005 mg/kg, 0,006 mg/kg, 0,007 mg/kg, 0,008 mg/kg, 0,009 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,015 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, hoặc 2,0 mg/kg. Nivolumab được dùng bằng cách truyền trong tĩnh mạch ở liều lượng bằng 3 mg/kg trong 60 phút hai tuần một lần. Liệu pháp kháng thể kháng CD40 hỗ trợ/ nivolumab được tiếp tục đến khi tiến triển bệnh hoặc không còn dung chịu được bởi bệnh nhân.

Theo phương án ví dụ khác, kháng thể kháng CD40 được dùng bổ trợ cho nivolumab (OPDIVO®) để điều trị ung thư phổi tế bào không nhỏ. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng dưới dạng tiêm IT một lần trong mỗi 14 ngày ở 0,001 mg/kg, 0,002 mg/kg, 0,003 mg/kg, 0,004 mg/kg, 0,005 mg/kg, 0,006 mg/kg, 0,007 mg/kg, 0,008 mg/kg, 0,009 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,015 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, hoặc 2,0 mg/kg. Nivolumab được dùng bằng cách truyền trong tĩnh mạch ở liều lượng bằng 3 mg/kg trong 60 phút hai tuần một lần. Liệu pháp kháng thể kháng CD40 hỗ trợ/

nivolumab được tiếp tục đến khi tiến triển bệnh hoặc không còn dung chịu được bởi bệnh nhân.

Theo phương án ví dụ khác, kháng thể kháng CD40 được dùng bổ trợ cho nivolumab (OPDIVO®) để điều trị ung thư phổi tế bào không nhỏ. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng dưới dạng tiêm IT một lần trong mỗi 28 ngày ở 0,001 mg/kg, 0,002 mg/kg, 0,003 mg/kg, 0,004 mg/kg, 0,005 mg/kg, 0,006 mg/kg, 0,007 mg/kg, 0,008 mg/kg, 0,009 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,015 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, hoặc 2,0 mg/kg. Nivolumab được dùng bằng cách truyền trong tĩnh mạch ở liều lượng bằng 3 mg/kg trong 60 phút hai tuần một lần. Liệu pháp kháng thể kháng CD40 hỗ trợ/nivolumab được tiếp tục đến khi tiến triển bệnh hoặc không còn dung chịu được bởi bệnh nhân.

Theo phương án ví dụ khác, kháng thể kháng CD40 được dùng bổ trợ cho pembrolizumab (Keytruda®) để điều trị ung thư phổi tế bào không nhỏ. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng thông qua truyền IV một lần trong mỗi 7 ngày ở 0,005 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, 2,0 mg/kg, 2,2 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,6 mg/kg, 2,8 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,2 mg/kg, 3,4 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,8 mg/kg, hoặc 4,0 mg/kg. Pembrolizumab được dùng bằng cách truyền trong tĩnh mạch ở liều lượng bằng 2 mg/kg trong 30 phút ba tuần một lần. Liệu pháp kháng thể kháng CD40 hỗ trợ/pembrolizumab được tiếp tục đến khi tiến triển bệnh hoặc không còn dung chịu được bởi bệnh nhân.

Theo phương án ví dụ khác, kháng thể kháng CD40 được dùng bổ trợ cho pembrolizumab (Keytruda®) để điều trị ung thư phổi tế bào không nhỏ. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được

liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng thông qua truyền IV một lần trong mỗi 14 ngày ở 0,005 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, 2,0 mg/kg, 2,2 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,6 mg/kg, 2,8 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,2 mg/kg, 3,4 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,8 mg/kg, hoặc 4,0 mg/kg. Pembrolizumab được dùng bằng cách truyền trong tĩnh mạch ở liều lượng bằng 2 mg/kg trong 30 phút ba tuần một lần. Liệu pháp kháng thể kháng CD40 hỗ trợ/ pembrolizumab được tiếp tục đến khi tiến triển bệnh hoặc không còn dung chịu được bởi bệnh nhân.

Theo phương án ví dụ khác, kháng thể kháng CD40 được dùng bổ trợ cho pembrolizumab (Keytruda®) để điều trị ung thư phổi tế bào không nhỏ. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng thông qua truyền IV một lần trong mỗi 28 ngày ở 0,005 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, 2,0 mg/kg, 2,2 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,6 mg/kg, 2,8 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,2 mg/kg, 3,4 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,8 mg/kg, hoặc 4,0 mg/kg. Pembrolizumab được dùng bằng cách truyền trong tĩnh mạch ở liều lượng bằng 2 mg/kg trong 30 phút ba tuần một lần. Liệu pháp kháng thể kháng CD40 hỗ trợ/ pembrolizumab được tiếp tục đến khi tiến triển bệnh hoặc không còn dung chịu được bởi bệnh nhân.

Theo phương án ví dụ khác, kháng thể kháng CD40 được dùng bổ trợ cho pembrolizumab (Keytruda®) để điều trị ung thư phổi tế bào không nhỏ. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng dưới dạng tiêm IT một lần trong mỗi 7 ngày ở 0,001 mg/kg, 0,002 mg/kg, 0,003 mg/kg, 0,004 mg/kg, 0,005 mg/kg, 0,006 mg/kg, 0,007 mg/kg, 0,008 mg/kg, 0,009 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,015 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg,

1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, hoặc 2,0 mg/kg. Pembrolizumab được dùng bằng cách truyền trong tĩnh mạch ở liều lượng bằng 2 mg/kg trong 30 phút ba tuần một lần. Liệu pháp kháng thể kháng CD40 hỗ trợ/ pembrolizumab được tiếp tục đến khi tiến triển bệnh hoặc không còn dung chịu được bởi bệnh nhân.

Theo phương án ví dụ khác, kháng thể kháng CD40 được dùng bổ trợ cho pembrolizumab (Keytruda®) để điều trị ung thư phổi tế bào không nhỏ. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng dưới dạng tiêm IT một lần trong mỗi 14 ngày ở 0,001 mg/kg, 0,002 mg/kg, 0,003 mg/kg, 0,004 mg/kg, 0,005 mg/kg, 0,006 mg/kg, 0,007 mg/kg, 0,008 mg/kg, 0,009 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,015 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, hoặc 2,0 mg/kg. Pembrolizumab được dùng bằng cách truyền trong tĩnh mạch ở liều lượng bằng 2 mg/kg trong 30 phút ba tuần một lần. Liệu pháp kháng thể kháng CD40 hỗ trợ/ pembrolizumab được tiếp tục đến khi tiến triển bệnh hoặc không còn dung chịu được bởi bệnh nhân.

Theo phương án ví dụ khác, kháng thể kháng CD40 được dùng bổ trợ cho pembrolizumab (Keytruda®) để điều trị ung thư phổi tế bào không nhỏ. Theo một số phương án, kháng thể kháng CD40 là kháng thể được làm cho giống người bất kỳ được liệt kê trong BẢNG 3. Kháng thể kháng CD40 được dùng dưới dạng tiêm IT một lần trong mỗi 28 ngày ở 0,001 mg/kg, 0,002 mg/kg, 0,003 mg/kg, 0,004 mg/kg, 0,005 mg/kg, 0,006 mg/kg, 0,007 mg/kg, 0,008 mg/kg, 0,009 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,015 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,4 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,8 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,4 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,6 mg/kg, 1,7 mg/kg, 1,8 mg/kg, 1,9 mg/kg, hoặc 2,0 mg/kg. Pembrolizumab được dùng bằng cách truyền trong tĩnh mạch ở liều lượng bằng 2 mg/kg trong 30 phút ba tuần một lần. Liệu pháp kháng thể kháng CD40 hỗ trợ/ pembrolizumab được tiếp tục đến khi tiến triển bệnh hoặc không còn dung chịu được bởi bệnh nhân.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực hiểu rõ rằng, các liều lượng khuyến nghị đối với các tác nhân khác nhau được mô tả ở trên có thể cần phải được điều chỉnh để tối ưu hóa đáp ứng ở bệnh nhân và tối đa hóa lợi ích trị liệu.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các Ví dụ sau đây, mà làm nổi bật các dấu hiệu và tính chất nhất định của các phương án ví dụ của kháng thể kháng CD40 được mô tả trong bản mô tả này được nêu nhằm mục đích minh họa, và không làm giới hạn sáng chế.

Ví dụ 1: Tạo Ra Kháng Thể Kháng CD40 Người Ở Chuột

Kháng thể đơn dòng được tạo ra bằng cách gây miễn dịch chuột Balb/C hoặc chuột SJL trong màng bụng bằng tế bào 3T12 chuột biểu hiện quá mức CD40 ở người. Lách được thu lấy, và tế bào lách được dung hợp với dòng tế bào đa u tủy NS0. Các thể lai được chọn lọc bằng cách sử dụng aminopterin. Các thể lai được chọn biểu hiện kháng thể kháng CD40 với hoạt tính chủ vận được chọn lọc và được tách dòng phụ để phân lập các dòng riêng lẻ.

Để sàng lọc đối với kháng thể có hoạt tính chủ vận, bảng thử nghiệm chức năng được phát triển, bao gồm sự kích thích con đường NF κ B, sự hoạt hóa bạch cầu đơn nhân, sự hoạt hóa tế bào dạng tua (DC) và sự cạnh tranh phối tử CD40 (CD40L). Trong các thử nghiệm này, G28-5 kháng CD40 người (IgG1 chuột) (Biolegend) được bao gồm làm đối chứng dương và kháng thể chuột phù hợp phân lớp (mIgG1) làm đối chứng âm.

Thử nghiệm báo cáo HEK293 blue CD40 NF κ B

Dòng tế bào HEK293 blue CD40 (Invivogen) biểu hiện ổn định CD40 ở người và gen báo cáo NF κ B được duy trì trong DMEM, 10% huyết thanh thai bò được bất hoạt bằng nhiệt (FBS), có bổ sung với 30 μ g/ml Blasticidin và 100 μ g/ml Zeocin. Sự hoạt hóa của CD40 trên bề mặt của tế bào HEK293 blue CD40 kích hoạt dòng tín hiệu dẫn đến sự hoạt hóa của NF κ B và sự tiết tiếp theo của phosphatase kiềm phospho (SEAP). Ủ dịch nổi bề mặt thể lai chứa kháng CD40 chủ vận với $2,5 \times 10^5$ /ml tế bào HEK293 blue CD40 kích thích sự sản xuất SEAP mà được đo bởi thử nghiệm enzym đo màu. So đo hàm lượng của SEAP tương ứng với hoạt tính của kháng CD40 trong dịch nổi bề mặt thể lai.

Thử nghiệm hoạt hóa bạch cầu đơn nhân

Thử nghiệm hoạt tính bạch cầu đơn nhân được thực hiện bằng cách sử dụng tế bào THP1-XBlue thuộc dòng tế bào bạch cầu đơn nhân (InVivogen). Dòng tế bào này biểu hiện ổn định NF κ B và gen báo cáo SEAP cảm ứng AP-1 và được duy trì trong RPMI 1640 với 10% FBS đã được bất hoạt bằng nhiệt và 200 μ g/ml Zeocin. Trong thử nghiệm này, 5×10^5 /ml tế bào THP1-XBlue trước hết được nuôi bằng 40 ng/ml IFN γ trong thời gian 24 giờ, và sau đó được ủ với mẫu thử nghiệm trong 24 giờ nữa. Hoạt tính SEAP gây ra bởi kháng CD40 chủ vận được theo dõi bằng thử nghiệm enzym.

Thử nghiệm sản xuất IL-12p70 tế bào dạng tua sơ cấp

Các dòng kháng CD40 cũng được sàng lọc về khả năng của chúng để hoạt hóa tế bào dạng tua có nguồn gốc từ bạch cầu đơn nhân (moDC). Sự hoạt hóa được theo dõi bằng sự sản xuất IL-12p70. Tế bào đơn nhân máu ngoại vi người (PBMC) trước hết được phân lập trên gradien Ficoll. Một cách vắn tắt, máu toàn phần từ người cho khỏe mạnh, được pha loãng với thể tích ngang bằng của PBS, được thêm vào ống Leucosep (Greiner Bio One), chứa Ficoll-Paque Plus dưới thủy tinh frit (15 ml). Sau đó máu được ly tâm ở tốc độ 1.000g trong thời gian 15 phút mà không hãm. PBMC được thu gom và được rửa một lần bằng PBS, được ly tâm ở tốc độ 1.300 vòng/phút trong thời gian 5 phút ở nhiệt độ trong phòng, và được rửa một lần bằng RPMI 1640. Tế bào được tái tạo huyền phù trong môi trường nuôi cấy (RPMI1640+10% FBS đã được bất hoạt bằng nhiệt). Bạch cầu đơn nhân sau đó được phân lập từ PBMC bởi bộ kit làm giàu từ StemCell và được nuôi cấy trong môi trường không chứa huyết thanh StemSep có bổ sung với 10 ng/ml GM-CSF và 20 ng/ml IL-4 ở nhiệt độ 37 °C, CO₂ 5% trong thời gian 6 ngày. GM-CSF mới và IL-4 được bổ sung vào môi trường nuôi cấy vào ngày 3 để giúp duy trì sự biệt hóa DC. Sau 6 ngày trong môi trường nuôi cấy, DC chưa trưởng thành có nguồn gốc từ bạch cầu đơn nhân được đưa đi phân tích FACS để xác minh kiểu hình DC chưa trưởng thành: Lin⁻, CD80/CD86⁺, HLA-DR⁺, hoặc CD11c⁺. moDC chưa trưởng thành được nuôi bằng IFN γ và được kích thích bằng các mẫu chứa kháng thể kháng CD40 trong thời gian 48 giờ trong môi trường không chứa huyết thanh StemSep có bổ sung với GM-CSF và IL-4. Dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy được thu hoạch và được thử nghiệm về sự sản xuất IL-12p70 bằng bộ kit ELISA có trên thị trường. Kết quả sàng lọc và hoạt tính đại diện được tổng kết trong BẢNG 1-1.

Bảng 1-1 thể hiện khoảng giá trị của hoạt tính kháng CD40 chủ vận ở các thể lai được phân lập. Tất cả các dòng mới chứng tỏ sự hoạt hóa bạch cầu đơn nhân có thể so sánh với kháng thể CD40 trong tài liệu G28-5 (*xem tài liệu, ví dụ, Bishop, G. A. Journal of Immunology 188, 4127-4129 (2012)*). Các dòng AD166.4.4 và AD175.14.11 chứng tỏ sự hoạt hóa bạch cầu đơn nhân nhưng không thể hiện sự hoạt hóa tế bào dạng tua. Phần còn lại của các dòng thể hiện sự hoạt hóa bạch cầu đơn nhân có thể so sánh với G28-5, cũng như là sự hoạt hóa tế bào dạng tua được tăng cường khi so với G28-5.

Bảng 1-1 Tổng kết sự sàng lọc dòng kháng CD40 chủ vận		
Dòng	Sự hoạt hóa bạch cầu đơn nhân ¹ (THP1-Xblue, OD ₆₅₅)	Sự hoạt hóa moDC (IL-12p70, pg/ml)
AD163,7.2	0,13	905,3
AD163,9.3	0,19	2216,3
AD163,10.7	0,16	1318,8
AD163,27.12	0,12	1514,5
AD163,162.1	0,11	2155,5
AD164,14.6	0,15	878
AD164,76.3	0,16	769,8
AD165,1.2	0,14	719,8
AD166,4.4	0,24	0
AD175,14.11	0,2	0
G28-5	0,12	138,8
muIgG1	0,06	0

¹Sự hoạt hóa bạch cầu đơn nhân là hoạt tính SEAP được giải phóng từ tế bào THP1-XBlue được ghi nhận ở OD₆₅₅

Các trình tự cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của mười kháng thể đơn dòng được tách dòng từ các thể lai AD163.9.3, AD166.4.4, AD175.14.11, AD163.10.7, AD165.1.2, AD163.162.1, AD163.27.12, AD163.7.2, AD164.14.6, và AD164.76.3, lần lượt, bằng cách sử dụng kỹ thuật PCR tiêu chuẩn và được xác định trình tự bằng cách sử dụng kỹ thuật xác định trình tự ADN tiêu chuẩn. Trình tự axit amin

kháng thể tương ứng đầy đủ được mã hóa bằng ADN được thể hiện trên các HÌNH 2A-2C.

Ví dụ 2: Phân Loại Epitop Của Kháng Thể Kháng CD40 Người Ở Chuột

Phân tích BIAcore và phương pháp ELISA được sử dụng để phân loại kháng thể chủ vận kháng CD40 người ở chuột dựa trên khả năng của chúng để cạnh tranh với nhau hoặc phối tử CD40 (CD40L) để liên kết với CD40.

Phân tích BIAcore được thực hiện bằng cách sử dụng thiết bị BIAcore T100 ở nhiệt độ 12 °C. Kháng thể Fc kháng chuột ở dê (Pierce, cat# 31170) trước hết được cố định trên chip cảm biến CM5 sau đó là bất giữ kháng thể thử nghiệm thứ nhất trên bề mặt. Sau khi phong bế bằng 50 µg/ml hỗn hợp kháng thể phân lớp chuột, tế bào dòng chảy được phun bằng dạng hòa tan của miền ngoại bào của CD40 ở người (Creative BioMart, cat# CD402221H). Tiếp theo, kháng thể thử nghiệm thứ hai hoặc CD40L (PeproTech, cat# 0308145) được phun để đo liên kết của chúng với phức hợp của CD40 và kháng thể thử nghiệm thứ nhất. Như thể hiện trên BẢNG 2-1, kháng thể kháng CD40 theo sáng chế được phân loại thành ba nhóm epitop. Nhóm epitop 1 được lấy ví dụ bởi AD163.7.2 ("muAb8") và AD175.14.11 ("muAb3"), mà phong bế liên kết CD40L với CD40. Nhóm epitop 2 được xác định từ các dòng AD163.162.1 ("muAb6") và AD163.27.12 ("muAb7"), mà không cạnh tranh với CD40L hoặc với kháng thể trong nhóm epitop 1. Nhóm epitop thứ ba được lấy ví dụ bởi các dòng AD163.9.3 ("muAb1"), AD166.4.4 ("muAb2"), và AD165.1.2 ("muAb5"), mà không cạnh tranh với liên kết CD40L với CD40, nhưng cạnh tranh với kháng thể trong nhóm epitop 1 và 2.

BẢNG 2-1								
Phân loại epitop bằng phân tích BIAcore								
kháng thể thứ nhất	kháng thể thứ hai							
	muAb 6	muAb 1	muAb 2	muAb 7	muAb 5	muAb 8	muAb 3	CD40 L
muAb6	—	X	X	X	X	Y	Y	Y
muAb1	X	—	X	X	X	X	X	Y

BẢNG 2-1								
Phân loại epitop bằng phân tích BIAcore								
kháng thể thứ nhất	kháng thể thứ hai							
	muAb 6	muAb 1	muAb 2	muAb 7	muAb 5	muAb 8	muAb 3	CD40 L
muAb2	X	X	—	X	X	X	X	Y
muAb7	X	X	X	—	X	Y	Y	Y
muAb5	X	X	X	X	—	X	X	Y
muAb8	Y	X	X	Y	X	—	X	X
muAb3	Y	X	X	Y	X	X	—	X

X: kháng thể thứ hai không thể liên kết; Y: liên kết đồng thời

Thử nghiệm ELISA được phát triển để đo các tác dụng của kháng thể kháng CD40 lên tương tác CD40-CD40L ở người. Một cách vắn tắt, protein dung hợp CD40-Fc người (huFc) (Creative BioMart) được trộn với kháng thể kháng CD40 hoặc kháng thể đối chứng phân lớp và được bổ sung vào đĩa 96 giếng được phủ bằng CD40L gắn đuôi HA (R&D Systems). Sự liên kết của phức hợp CD40-huFc với CD40L liên kết trên đĩa được phát hiện bằng kháng thể kháng Fc người liên hợp HRP (Jackson ImmunoResearch). Sau khi phát triển với cơ chất TMB (3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidin), các đĩa được đọc ở OD₄₅₀.

Tác dụng của kháng thể kháng CD40 lên tương tác CD40-CD40L được xác định bằng cách tính tỉ lệ của OD₄₅₀ trong các mẫu chứa kháng thể kháng CD40 với OD₄₅₀ trong mẫu chứa kháng thể đối chứng phân lớp ("tỉ lệ OD₄₅₀"). Tỉ lệ OD₄₅₀ ≤ 0,1 cho thấy sự ức chế của liên kết CD40L ở người với CD40 ở người. Tỉ lệ OD₄₅₀ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1 cho thấy sự ức chế một phần của liên kết CD40L với CD40. Tỉ lệ OD₄₅₀ > 1 cho thấy sự liên kết được tăng cường của CD40L ở người với CD40 ở người, bằng cách đó tăng cường việc truyền tín hiệu CD40.

Dữ liệu được tổng kết trong BẢNG 2-2. Các kháng thể muAb8 và muAb3 phong bế liên kết CD40 với CD40L thể hiện tỉ lệ nhỏ hơn 0,1. Các kháng thể muAb6 và muAb7

thể hiện tỉ lệ xung quanh 0,5, gợi ý tác dụng phải chăng nhất lên tương tác CD40-CD40L. Các kháng thể muAb1, muAb2, muAb4, muAb5, muAb9, và muAb10 thể hiện tỉ lệ OD₄₅₀ bằng khoảng 1 hoặc lớn hơn 1, chỉ ra sự không có tác dụng hoặc có tác dụng mà thúc đẩy liên kết CD40 với CD40L.

BẢNG 2-2 Sự cạnh tranh với CD40 để liên kết CD40L		
Kháng thể	OD ₄₅₀ với kháng thể kháng CD40	Tỉ lệ OD ₄₅₀
muAb8	0,066	0,08
muAb3	0,068	0,09
muAb7	0,328	0,41
muAb6	0,455	0,57
muAb1	1,779	2,22
muAb4	1,343	1,68
muAb9	1,883	2,35
muAb10	2,107	2,63
muAb5	0,989	1,24
muAb2	1,025	1,28

Ví dụ 3: Sự Làm Cho Giống Người Của Kháng Thể Kháng CD40 Người Ở Chuột

Sự làm cho giống người của kháng thể V vùng được tiến hành như phác họa bởi Queen, C. et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989; 86:10029-10033). Cấu trúc chính tắc của CDR được xác định theo Huang et al. (Methods, 2005; 36:35-42). Các trình tự dòng mầm biến đổi ở người với cùng trình tự chính tắc CDR hoặc trình tự chính tắc CDR tương tự nhất được xác định, và các trình tự phân đoạn V_H, V_L, và J ở người thích hợp được chọn lọc để tạo ra khung cho vùng biến đổi kháng CD40. Ở các vị trí khung trong đó mô hình máy tính gợi ý sự tiếp xúc đáng kể với CDR, các axit amin từ vùng V kháng CD40 ở chuột được thế bằng các axit amin khung người ban đầu (đột biến trở lại). Các vùng không đổi của IgG ở người₁ với các biến thể tự nhiên D356E và L358M trong chuỗi nặng, và chuỗi nhẹ kappa được sử dụng trừ khi có chỉ dẫn khác. Trình tự

axit amin đầy đủ của các vùng V_H và V_L của kháng thể được làm cho giống người được thể hiện trên các HÌNH 2D-2G.

Dòng kháng CD40 AD163.162.1 ("muAb6") được làm cho giống người theo phương pháp được mô tả ở trên. Các phiên bản được làm cho giống người của muAb6 là huAb6-1, huAb6-2 và huAb6-3. Kháng thể huAb6-1 mang đột biến trở lại khung V_H (SEQ ID NO: 110): M48I, V67A, I69L, và A71V. Kháng thể huAb6-2 mang đột biến trở lại khung V_H (SEQ ID NO: 111) M48I và A71V. Kháng thể huAb6-3 mang đột biến trở lại khung V_H (SEQ ID NO: 112) M48I và A71V, cũng như là các thay đổi dòng mầm CDR V_H N60A, K64Q và D65G để làm tăng sự nhận diện đối với trình tự dòng mầm người. Kháng thể huAb6-1, huAb6-2 và huAb6-3 mang đột biến trở lại khung V_L (SEQ ID NO: 161): A43S, L46R, L47W và F71Y.

Các phiên bản được làm cho giống người của dòng kháng CD40 AD163.7.2 ("muAb8") là huAb8-1, huAb8-2 và huAb8-3 (các HÌNH 2D-2E). Kháng thể huAb8-1 mang đột biến trở lại khung V_H (SEQ ID NO: 113): M48I, V67A, I69L, A71V, K73R, Y91F, và R94S. Kháng thể huAb8-2 mang đột biến trở lại khung V_H (SEQ ID NO: 114): M48I, V67A, I69L, A71V, K73R, Y91F, và R94S; cũng như là đột biến V_H CDR C59S. Kháng thể huAb8-3 mang đột biến trở lại khung V_H (SEQ ID NO: 115): M48I, A71V và R94S. Kháng thể huAb8-1, huAb8-2 và huAb8-3 đều mang đột biến trở lại khung V_L (SEQ ID NO: 162): A43S, và Y87F.

Dòng kháng CD40 AD164.14.6 ("muAb9") được làm cho giống người để tạo ra huAb9-1, huAb9-2, huAb9-3, huAb9-4, huAb9-5 và huAb9-6. Các kháng thể huAb9-1 và huAb9-4 thể hiện đột biến trở lại khung V_H (SEQ ID NO: 116): I48M, V67I và V71R. Các kháng thể huAb9-2 và huAb9-5 mang đột biến trở lại khung V_H (SEQ ID NO: 117): I48M và V71R. Các kháng thể huAb9-3 và huAb9-6 mang đột biến trở lại khung V_H (SEQ ID NO: 118): I48M và V71R, cũng như là hai thay đổi dòng mầm CDR khác T30S và N65S để cải thiện sự nhận diện đối với trình tự dòng mầm người. Các kháng thể huAb9-1, huAb9-2 và huAb9-3 mang đột biến trở lại khung V_L (SEQ ID NO: 163): I2A, Y36F và Y87F. Các kháng thể huAb9-4, huAb9-5 và huAb9-6 mang đột biến trở lại khung V_L (SEQ ID NO: 164) I2A. Dòng AD164.14.6 được cải biến thêm để loại bỏ vị trí phân cắt peptit tín hiệu tìm thấy ở vị trí thứ hai của chuỗi nhẹ, bằng cách đảo ngược đột biến trở lại khung I2A của V_L . Các kháng thể huAb9 A2I và huAb9 A2V mang V_H

(SEQ ID NO:117) và V_L chứa sự đột biến đảo ngược khung A2I (SEQ ID NO:170) và A2V (SEQ ID NO:171), lần lượt, ngăn chặn sự tạo thành của sản phẩm phân cắt không mong muốn.

Kháng thể được làm cho giống người trong Ví dụ này được tạo ra với vùng không đổi chuỗi nặng và vùng không đổi chuỗi nhẹ kappa IgG1 ở người. Lysin ở đầu tận cùng C có thể được phân cắt một phần bởi sự xử lý sau dịch mã sau khi biểu hiện protein của chuỗi nặng IgG1 ở người. Theo đó, huAb9-5 có chuỗi nặng theo các SEQ ID NO:130 hoặc 131 và chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO:140. Kháng thể huAb9-5 cũng được sản xuất với sự đột biến axit amin V273E và V273Y trong vùng không đổi chuỗi nặng, tương ứng với chuỗi nặng theo các SEQ ID NO:132 hoặc 133 và các SEQ ID NO:134 hoặc 135, lần lượt, và chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO:140. Kháng thể huAb9 A2I và huAb9 A2V được tạo ra với vùng không đổi chuỗi nặng V273E IgG1 ở người. Theo đó, huAb9 A2I có chuỗi nặng theo các SEQ ID NO:132 hoặc 133 và chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO:141. Theo đó, huAb9 A2V có chuỗi nặng theo các SEQ ID NO:132 hoặc 133 và chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO:142.

Ví dụ 4: Xác định đặc điểm của kháng thể kháng CD40 ở người được làm cho giống người

Để đảm bảo kháng thể kháng CD40 được làm cho giống người giữ lại tính chủ vận và các tính chất mong muốn khác của kháng thể chuột ban đầu, bảng thử nghiệm xác định đặc điểm được thực hiện để xác định sự hoạt hóa NFκB, động học liên kết CD40, phản ứng chéo giữa các loài và các lớp epitop của kháng thể được làm cho giống người theo sáng chế.

Sự hoạt hóa NFκB

Sự hoạt hóa NFκB bởi kháng thể kháng CD40 được làm cho giống người theo sáng chế được đánh giá ở tế bào báo cáo HEK293 blue CD40 NFκB. Sự hoạt hóa được thể hiện dưới dạng hoạt tính gen báo cáo SEAP (phosphatase kiềm phôi được tiết ra) đo được ở OD₆₅₅. OD₆₅₅ lớn nhất đo được và nồng độ ức chế nửa tối đa (EC₅₀) được tổng kết trong BẢNG 4-1.

Bảng 4-1 Sự hoạt hóa NF κ B ở tế bào báo cáo HEK293 blue CD40 NF κ B		
Kháng thể được làm cho giống người	EC ₅₀ (μ g/ml)	Sự hoạt hóa tối đa (OD ₆₅₅)
huAb6-1	1,09	0,26
huAb6-2	1,21	0,20
huAb6-3	4,31	0,32
huAb8-1	0,14	0,45
huAb8-3	0,07	0,46
huAb9-1	0,19	0,26
huAb9-2	0,29	0,27
huAb9-3	0,18	0,27
huAb9-4	5,55	0,61
huAb9-5	1,13	0,67
huAb9-6	5,95	0,54

Động học liên kết CD40 và phản ứng chéo giữa các loài

Ái lực liên kết của kháng thể kháng CD40 được làm cho giống người được bộ lọc được phân tích bằng cả phân tích BIAcore và phân tích đếm tế bào theo dòng.

Động học liên kết CD40 được phân tích bằng thử nghiệm BIAcore với thiết bị BIAcore T200. Một cách vắn tắt, kháng thể Fc kháng chuột ở dê (Pierce, cat# 31170) hoặc kháng Fc người ở dê (Pierce, cat#31125) được cố định trên chip cảm biến CM5, sau đó là sự bắt giữ của kháng thể kháng CD40 trên bề mặt thử nghiệm. Tiếp theo, dạng hòa tan của miền ngoại bào của CD40 ở người (Creative BioMart, cat# CD402221H) hoặc CD40 ở khỉ cynomolgus (cyno) (Creative BioMart, cat# CD40-8824C) được phun, và sự liên kết và sự phân ly được đo.

Dữ liệu cộng hưởng plasmon bề mặt chỉ ra rằng kháng thể huAb8-1, huAb9-5, huAb9 A2I, và huAb9 A2V được làm cho giống người giữ lại ái lực liên kết tương tự (K_D) như ái lực liên kết của các dòng ban đầu của chúng AD163.7.2 ("muAb8") hoặc dòng AD164.14.6 ("muAb9"), và thể hiện liên kết tương tự với CD40 ở người hoặc ở cynomolgus (Bảng 4-2).

BẢNG 4-2						
Ái lực đo được bằng BIAcore*						
Kháng thể	CD40 ở người			CD40 ở khỉ Cynomolgus		
	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)
muAb6	7,6E+04	4,8E-03	6,3E-08	Không xác định		
muAb7	7,5E+04	4,8E-03	6,4E-08	Không xác định		
muAb8	1,0E+06	4,2E-03	4,1E-09	Không xác định		
muAb3	6,9E+04	1,2E-02	1,7E-07	Không xác định		
muAb1	4,7E+05	1,6E-02	3,5E-08	Không xác định		
muAb2	2,8E+06	9,6E-03	3,5E-09	Không xác định		
muAb4	2,3E+06	1,7E-01	7,6E-08	Không xác định		
muAb5	2,3E+06	2,0E-03	8,8E-10	Không xác định		
muAb10	2,6E+06	3,4E-02	1,3E-08	Không xác định		
muAb9	2,8E+06	5,2E-02	1,9E-08	Không xác định		
huAb8-1	7,7E+05	2,3E-03	3,0E-09	1,0E+06	7,1E-03	7,1E-09
huAb9-5	1,7E+06	2,6E-02	1,5E-08	1,8E+06	2,4E-02	1,3E-08
huAb9 A2I	1,3E+06	2,2E-01	1,7E-07	1,7E+06	2,5E-01	1,5E-07
huAb9 A2V	1,5E+06	2,6E-01	1,7E-07	1,9E+06	2,7E-01	1,4E-07

*Các số dùng để chỉ ký hiệu khoa học, ví dụ, $3,0E-09 = 3,0 \times 10^{-9}$.

Kháng thể kháng CD40 được làm cho giống người cũng được đánh giá về sự liên kết với CD40 bề mặt tế bào trên tế bào HEK293 được chuyển nạp ổn định với CD40 ở

người hoặc ở cynomolgus, cũng như là tế bào B có nguồn gốc từ PBMC cynomolgus hoặc người. Kháng thể kháng CD40 được làm cho giống người được ủ với thể chuyển nạp HEK293 trong thời gian 15 phút trên nước đá, và sự liên kết được phát hiện bằng kháng thể thứ cấp kháng người liên hợp huỳnh quang (Jackson ImmunoResearch). Phân tích FACS của tế bào xác nhận rằng kháng thể được làm cho giống người liên kết với các dòng tế bào ổn định CD40 ở người và ở cynomolgus. Ngược lại, không quan sát thấy sự liên kết trong các thí nghiệm tương tự thực hiện với CD40 chuột nhắt, chuột cống hoặc chó.

Kháng thể kháng CD40 cũng được đánh giá về khả năng của chúng để liên kết với dòng tế bào biểu hiện CD40 ở người và ở cynomolgus sơ cấp. PBMC được phân lập từ máu người hoặc khỉ cynomolgus được ủ với kháng thể kháng CD40 được liên hợp với thuốc nhuộm huỳnh quang CF640R. Sau khi phân tích FACS, dữ liệu được phân tích bằng phần mềm FlowJo (FlowJo, LLC). Kết quả chứng tỏ rằng kháng thể được làm cho giống người liên kết với tế bào CD40-dương sơ cấp có nguồn gốc từ cả PBMC người và khỉ cynomolgus.

Phân loại epitop

Phân tích đếm tế bào theo dòng và phương pháp ELISA được sử dụng để phân loại kháng thể kháng CD40 chủ vận được làm cho giống người dựa trên khả năng của chúng để cạnh tranh với nhau hoặc phối tử CD40 (CD40L) để liên kết với CD40.

Phân tích đếm tế bào theo dòng được phát triển để đánh giá liệu kháng thể có cạnh tranh để liên kết CD40 ở người với kháng thể khác hay không. Trong thử nghiệm này, CP-870,893, được điều chế từ dòng kháng thể kháng CD40 ở người IgG₂ ở người đầy đủ 21.4.1 (xem tài liệu, Gladue, RP. et al., Cancer Immunol. Immunother. 2011; 60:1009-17 và Bằng Sáng Chế Mỹ Số 7,618,633), được dùng làm kháng thể tham chiếu. Các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, lần lượt, của CP-870,893 là:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLE
WMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCA
RDQPLGYCTNGVCSYFDYWQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFG
TQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTL

MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVV
SVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 181),
và

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIY
TASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANIFPLTFGGGTKV
EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC (SEQ ID NO: 182).

Tất cả các kháng thể người hoặc được làm cho giống người kháng CD40, bao gồm huAb6-1, huAb8-1, huAb9 A2I, và CP-870,893, được gắn nhãn bằng Alexa Fluor (AF)-488. Mỗi kháng thể được gắn nhãn huỳnh quang với nồng độ cố định ở 1 µg/ml được trộn riêng rẽ với lượng tăng lên của kháng thể kháng CD40 không được gắn nhãn khác nằm trong khoảng từ 0,5 ng/ml đến 50 µg/ml, và được ủ với tế bào HEK293 biểu hiện ổn định CD40 ở người. Sự liên kết của kháng thể được gắn nhãn huỳnh quang sau đó được theo dõi bằng cách đếm tế bào theo dòng.

Kháng thể cạnh tranh được nhận diện bởi sự giảm phụ thuộc liều lượng của cường độ phát huỳnh quang trung bình (MFI) và kháng thể không cạnh tranh được nhận diện bởi MFI không đổi được tổng kết trong BẢNG 4-3. Mặc dù huAb6-1 không cạnh tranh liên kết CD40 ở người với huAb8-1, cả huAb9 A2I và CP-870,893 đều cạnh tranh với huAb6-1 và huAb8-1. Ngoài ra, huAb9 A2I và CP-870,893 cạnh tranh với nhau.

BẢNG 4-3				
Phân loại epitop bằng phân tích đếm tế bào theo dòng				
kháng thể thứ nhất	kháng thể thứ hai			
	huAb6-1	huAb8-1	huAb9 A2I	CP-870,893
huAb6-1	—	Y	X	X
huAb8-1	Y	—	X	X

BẢNG 4-3				
Phân loại epitop bằng phân tích đếm tế bào theo dòng				
kháng thể thứ nhất	kháng thể thứ hai			
	huAb6-1	huAb8-1	huAb9 A2I	CP-870,893
huAb9 A2I	X	X	—	X
CP-870,893	X	X	X	—

X: cạnh tranh lẫn nhau; Y: không cạnh tranh lẫn nhau

Phân loại epitop của kháng thể được làm cho giống người theo sáng chế cũng được xác nhận bằng thử nghiệm ELISA đo sự liên kết của phức hợp kháng thể kháng CD40 và CD40 với CD40L liên kết trên đĩa như được mô tả trong Ví dụ 2. Trong thử nghiệm này, CP-870,893 như điều chế ở trên được dùng làm kháng thể kháng CD40 tham chiếu. Hàm lượng tăng của kháng thể kháng CD40 hoặc kháng thể đối chứng IgG₁ ở người (huIgG₁) được ủ với 1 µg/ml protein dung hợp CD40-huFc, và được bổ sung vào đĩa được phủ bằng CD40L. Như được thể hiện trên HÌNH 3, kháng thể được làm cho giống người huAb8-1 và huAb8-3 phong bế sự tương tác của CD40 và CD40L (bên trái phía trên); huAb6-1 và huAb6-2 cho thấy tác dụng tối thiểu lên tương tác CD40-CD40L (bên phải phía trên); và huAb9-5 và huAb9-6 thúc đẩy liên kết CD40 với CD40L (bên trái phía dưới). Kháng thể được làm cho giống người huAb9 A2I cũng thúc đẩy liên kết CD40 với CD40L khi so với CP-870,893, mà cho thấy tác dụng tối thiểu lên tương tác CD40-CD40L (bên phải phía dưới).

Kết quả này thống nhất với kết quả thu được trong thử nghiệm dựa trên sự đếm tế bào theo dòng với các tế bào biểu hiện CD40L (HÌNH 4). Tế bào CD40L+ Jurkat được ủ với protein CD40 ở người hòa tan liên hợp với chất phát huỳnh quang Alexa Fluor 488 ở nồng độ không đổi bằng 1 µg/ml. Sự liên kết của CD40 liên hợp chất phát huỳnh quang với CD40L bề mặt tế bào Jurkat được đo bằng phân tích đếm tế bào theo dòng khi có mặt của kháng thể được làm cho giống người huAb9 A2I và kháng thể kháng CD40 tham chiếu CP-870,893. Cường độ phát huỳnh quang được tăng cường được phát hiện với lượng tăng của huAb9 A2I trong mẫu, nhưng không phát hiện với

kháng thể tham chiếu CP-870,893. Kết quả này gợi ý rằng huAb9 A2I thúc đẩy liên kết CD40 với tế bào Jurkat CD40L+ trong khi CP-870,893 tham chiếu thì không.

Sự ảnh hưởng chức năng của huAb9 A2I lên việc truyền tín hiệu CD40 định hướng bởi CD40L cũng được xác định trong thử nghiệm có chứa cả tế bào biểu hiện CD40 và CD40L. Tế bào biểu hiện CD40 (tế bào báo cáo HEK293 blue CD40 NFκB được mô tả trong Phần 8.1.1) được trộn với tế bào Jurkat CD40L- hoặc CD40L+ ở tỉ lệ 1:1, và được ủ với huAb9 A2I, CP-870,893 hoặc kháng thể đối chứng ở 3 µg/ml. Việc truyền tín hiệu CD40 được đo bởi hoạt tính chất báo cáo SEAP thông qua thử nghiệm đo màu như được mô tả trong Phần 8.4.1. Khi tế bào báo cáo CD40 được đồng nuôi cấy với tế bào Jurkat CD40L- (HÌNH 5A), việc truyền tín hiệu CD40 được tăng cường đáng kể chỉ sau khi bổ sung huAb9 A2I hoặc CP-870,893, chứ không phải với việc xử lý bằng kháng thể đối chứng hoặc khi không bổ sung. Mặc dù cả hai kháng thể hoạt hóa CD40, huAb9 A2I không có hiệu lực lớn hơn đáng kể so với CP-870,893 trong việc kích thích CD40 ở các điều kiện này. Khi tế bào báo cáo CD40 được đồng nuôi cấy với tế bào Jurkat CD40L+ (HÌNH 5B), CD40L bề mặt tế bào hoạt hóa CD40 như được chỉ ra bằng hoạt tính chất báo cáo SEAP. Việc xử lý bằng CP-870,893 không làm tăng cường thêm sự truyền tín hiệu hoạt tính CD40 với hoạt tính chất báo cáo SEAP tương tự với phân lớp huIgG1 hoặc huIgG2 đối chứng, hoặc không có việc xử lý bằng kháng thể (chỉ có môi trường). Ngược lại, việc xử lý bằng huAb9 A2I làm tăng thêm việc truyền tín hiệu CD40 với hoạt tính chất báo cáo lớn hơn đáng kể so với CP-870,893 và việc xử lý đối chứng ($p < 0,001$).

Dữ liệu này chỉ ra rằng khi CD40 bề mặt tế bào được hoạt hóa bằng lượng bão hòa của CD40L bề mặt tế bào, huAb9 A2I tăng cường hơn nữa sự hoạt hóa CD40 bằng cách ảnh hưởng việc truyền tín hiệu NFκB xuôi dòng lớn hơn khi so với lượng tương đương của kháng thể kháng CD40 đã biết CP-870,893.

Ví dụ 5: Biến thể vùng Fc của kháng thể kháng CD40

Hoạt tính chủ vận lớn hơn của CD40 có thể đạt được thông qua sự cải biến vùng Fc để tăng cường sự liên kết FcγRIIB (Li and Ravetch, Science, 2011; 333:1030-1034; và White, et al., J. Immunol, 2011; 187:1754-1763). Hai đột biến, V273E và V273Y, ở vị trí 273 trong vùng không đổi IgG1 ở người được đưa vào kháng thể kháng CD40

được làm cho giống người huAb6-1, huAb8-1, huAb9-5, và huAb9 A2I. Ảnh hưởng của sự đột biến Fc lên sự liên kết với thụ thể Fc γ được theo dõi bằng phân tích FACS và bằng tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC). Hoạt tính chủ vận của kháng CD40 được làm cho giống người có sự cải biến Fc được theo dõi thông qua sự hoạt hóa của chất báo cáo NF- κ B, tế bào B, DC có nguồn gốc từ bạch cầu đơn nhân và tế bào T.

Sự liên kết thụ thể Fc γ và chức năng ADCC

Hàm lượng tăng của kháng thể IgG₁ ở người kháng CD40 và biến thể Fc của chúng được ủ với tế bào CHO biểu hiện ổn định các thụ thể Fc γ ở người khác nhau, bao gồm Fc γ RI (CD64), Fc γ RIIA (CD32a), Fc γ RIIB (CD32b), và Fc γ RIIIA (CD16) với hiện tượng đa hình F hoặc V. Sự liên kết được phát hiện bằng kháng thể thứ cấp đặc hiệu kháng F(ab')₂ ở người liên hợp huỳnh quang (Jackson ImmunoResearch). Sự đột biến V273E hoặc V273Y làm giảm sự liên kết với Fc γ RIIIA (CD16F hoặc V) trong khi duy trì sự liên kết Fc γ RI (CD64), và tăng cường sự liên kết Fc γ RIIA (CD32a) hoặc Fc γ RIIB (CD32b) (các HÌNH 6A-6B).

ADCC của biến thể Fc của kháng thể kháng CD40 được làm cho giống người được đo bằng cách sử dụng quy trình tiêu chuẩn (Law *et al.*, 2005, Cancer Res. 65:8331-8). Trong ví dụ minh họa, ADCC được làm giảm với các biến thể vùng không đổi V273E hoặc V273Y khi so với IgG₁ kiểu đại đối với kháng thể huAb9-5 ở tế bào RL (HÌNH 7).

Hoạt tính chủ vận được tăng cường khi liên kết Fc γ R

Để đánh giá ảnh hưởng của sự liên kết thụ thể Fc γ lên hoạt tính chủ vận của kháng CD40, huAb9 A2I với đột biến huIgG₁ V273E được sử dụng để xử lý tế bào báo cáo HEK293 blue CD40 NF κ B được đồng nuôi cấy với tế bào CHO biểu hiện ổn định các thụ thể Fc γ ở người khác nhau, và hoạt tính NF κ B được theo dõi. Như thể hiện trên BẢNG 5-1, hoạt tính chủ vận của CP-870,893 trong việc kích thích sự hoạt hóa NF κ B độc lập với sự liên kết thụ thể Fc γ , trong khi hoạt tính chủ vận của huAb9 A2I được phát hiện là phụ thuộc vào sự liên kết thụ thể Fc γ . Hiệu lực của huAb9 A2I cao hơn muwoif lần trong việc kích thích hoạt tính NF κ B khi tế bào báo cáo được đồng nuôi cấy với tế

bào CHO biểu hiện CD32a, CD32b hoặc CD64 so với khi được đồng nuôi cấy với tế bào CHO mà không biểu hiện thụ thể Fc γ , hoặc biểu hiện CD16V hoặc CD16F.

Bảng 5-1		
Hoạt tính NF κ B (EC ₅₀ , nM)		
CHO (Fc γ R)	huAb9 A2I (huIgG ₁ V273E)	CP-870,893 (huIgG ₂)
Fc γ R âm	0,72	0,03
CD16F	0,39	0,03
CD16V	0,30	0,02
CD32a	0,08	0,02
CD32b	0,07	0,02
CD64	0,01	0,02

Biến thể Fc trên sự tăng sinh tế bào B

Ảnh hưởng của đột biến Fc V273E hoặc V273Y lên hoạt tính chủ vận của kháng CD40 cũng được đánh giá với thử nghiệm tăng sinh tế bào B. Trong thử nghiệm này, tế bào B người được làm giàu bằng bộ kit làm giàu tế bào B (StemCell Technologies) thông qua sự chọn lọc âm. Tế bào B đã tinh chế được cấy vào đĩa 96 giếng ở 5×10^5 /ml, 200 μ l mỗi giếng trong môi trường không chứa huyết thanh AIM-V (GIBCO). Kháng thể kháng CD40 được pha loãng theo dãy được bổ sung và được nuôi cấy với tế bào B trong thời gian 6 ngày. Trong 16 giờ nuôi cấy cuối cùng, 1 μ Ci H³TdR được bổ sung vào mỗi giếng của môi trường nuôi cấy và sự tăng sinh tế bào B được xác định bởi sự kết hợp H³TdR. Hoạt tính phóng xạ kết hợp với sự kết hợp H³TdR được ghi nhận bằng máy đếm nhấp nháy dưới dạng số đếm trong mỗi phút (CPM). So với kháng thể kiểu đại IgG1 ở người tương ứng, các biến thể Fc IgG1 ở người kháng CD40 (huAb6-1, huAb8-1 và huAb9-5) V273E và V273Y cho thấy sự hoạt hóa tế bào B được tăng cường (HÌNH 8). Tuy nhiên, khi so với CP-870,893, huAb9 A2I (V273E IgG₁ ở người) cho

thấy hiệu lực thấp hơn khoảng mười lần trong việc kích thích sự tăng sinh tế bào B (đồ thị bên phải phía dưới).

Biến thể Fc lên sự sản xuất DC IL-12p70

Ảnh hưởng của đột biến Fc V273E hoặc V273Y lên hoạt tính chủ vận của kháng CD40 được đánh giá thêm bằng thử nghiệm hoạt hóa DC bằng cách sử dụng IL-12p70 làm đối tượng đếm. Trong thử nghiệm này, DC chưa trưởng thành trước hết được tạo ra từ bạch cầu đơn nhân được tinh chế từ PBMC người và được xử lý bằng IL4 và GM-CSF. Sự trưởng thành DC và sự sản xuất IL-12p70 được gây ra bởi kháng CD40 sau khi môi bằng IFN γ . Các dạng đột biến V273E hoặc V273Y Fc làm tăng cường hiệu lực lên sự hoạt hóa DC bằng cách tăng cường sự sản xuất IL-12p70. Như được minh họa trên HÌNH 9, huAb6-1 (bên trái phía trên), huAb8-1 (bên phải phía trên), và huAb9-5 (bên trái phía dưới) với các biến thể Fc huIgG₁ V273E hoặc V273Y cho thấy sự sản xuất IL-12p70 tăng lên khi so với kháng thể tương ứng của chúng có huIgG₁ kiểu dại. Đối với huAb6-1 và huAb8-1, biến thể có đột biến huIgG₁ V273Y hữu hiệu hơn trong việc tăng cường sự sản xuất IL-12p70 in vitro so với biến thể có đột biến V273E. Đối với huAb9-5, biến thể với huIgG₁ V273E hoặc V273Y cho thấy hiệu lực tương tự. Trong trường hợp của huAb9 A2I (đồ thị bên phải phía dưới), biến thể với đột biến huIgG₁ V273E chứng tỏ hiệu lực tương tự như CP-870,893 trong việc kích thích DC sản xuất ra IL-12p70.

Biến thể Fc trên sự hoạt hóa tế bào T trong môi trường đồng nuôi cấy DC và tế bào T dị sinh

Để chứng minh kháng CD40 có thể gây ra sự hoạt hóa tế bào T thông qua sự kích thích tế bào trình diện kháng nguyên chẳng hạn như DC, các biến thể Fc kháng CD40 được thử nghiệm trong sự đồng nuôi cấy DC và tế bào T dị sinh. Trong thử nghiệm này, tế bào dạng tua (5×10^3) trước hết được tạo ra từ bạch cầu đơn nhân bằng cách sử dụng phương pháp được mô tả ở trên, sau đó được trộn với 1×10^5 tế bào T được tinh chế từ người cho khác. Các lượng khác nhau của kháng thể kháng CD40 huAb6-1, huAb8-1, hoặc huAb9-5 với vùng không đổi IgG₁ ở người kiểu dại hoặc biến thể Fc của chúng V273Y được bổ sung vào môi trường đồng nuôi cấy DC và tế bào T. Sau khi ủ 4 ngày, thu lấy dịch nổi bề mặt và IFN- γ được đo bằng ELISA.

HÌNH 10 minh họa các kháng thể ví dụ mà cho thấy sự sản xuất IFN- γ được tăng cường trong môi trường đồng nuôi cấy với các tế bào từ hai cặp người cho khác nhau. Trong mỗi trường hợp, biến thể V273Ys của huAb6-1, huAb8-1, và huAb9-5 chứng tỏ sự hoạt hóa tế bào T như được chứng tỏ bởi sự tăng lên đáng kể của IFN- γ khi so với kháng thể huIgG₁ đối chứng phân lớp.

Ví dụ 6: Hoạt Tính Kháng U In vivo Của Kháng Thể Kháng CD40

Kháng thể kháng CD40 được làm cho giống người huAb6-1, huAb9-5, và huAb9 A2I với IgG₁ ở người kiểu đại hoặc biến thể Fc được đánh giá về khả năng của chúng để ức chế sự phát triển khối u ở chuột NSG mang khối u PC3 tuyến tiền liệt khi có mặt tế bào miễn dịch của người.

Chuột NSG được cấy dưới da bằng hỗn hợp của tế bào PC3 (1×10^6), tế bào T đã tinh chế (5×10^5), và DC tự thân (1×10^5). Liều đơn lẻ của kháng thể kháng CD40 hoặc kháng thể đối chứng ở 1 mg/kg được tiêm trong màng bụng ngay sau khi cấy. Thể tích khối u được đo được cách ngày một lần bằng thước kẹp. Kháng thể kháng CD40 bao gồm huAb6-1, huAb9-5, huAb9 A2I và biến thể Fc của chúng V273E hoặc V273Y làm giảm sự phát triển khối u khi so với kháng thể đối chứng phân lớp trong mô hình PC3 như thể hiện trên HÌNH 11.

Ví dụ 7: Nghiên cứu chứng minh tính khả thi ở mô hình khối u cùng gen ở chuột

Do thiếu sự liên kết CD40 chuột của kháng thể kháng CD40 ví dụ theo sáng chế, việc đánh giá tác dụng được ở chuột được thực hiện bằng cách sử dụng kháng thể chủ vận CD40 ở chuột 1C10 muIgG₁. Theo phương pháp tương tự với đột biến huIgG₁ Fc V273E thảo luận ở trên, 1C10 với Fc IgG₁ ở chuột (muIgG₁) chứng tỏ sự liên kết mạnh với muFc γ RIIB và liên kết tối thiểu với muFc γ RI và muFc γ RIV, sự tương đương chức năng với Fc γ RIII người. Tương tự với kháng thể kháng CD40 theo sáng chế, 1C10 muIgG₁ chứng tỏ hiệu lực trong việc kích thích sự hoạt hóa tế bào B lách chuột in vitro và in vivo. Do đó, kháng thể kháng-CD40 ở chuột 1C10 với vùng không đổi IgG₁ ở chuột được dùng làm phân tử chứng minh tính khả thi để khám phá các con đường phát triển lâm sàng có thể có, mà được bao gồm bằng cách sử dụng sự phân phối trong khối u hoặc trị liệu kết hợp với việc đồng sử dụng của kháng thể kháng PD-1.

Dùng trong khối u

Mô hình cùng gen CT26 trong đó chuột có khối u dưới da hai bên được dùng để nghiên cứu việc dùng trong khối u. Các tế bào sống (1×10^5) cho mỗi con chuột được cấy dưới da vào sườn sau trái và phải của chuột cái Balb/C vào Ngày 0. Các con vật được chia ngẫu nhiên vào các nhóm vào Ngày 12 với mười con mỗi nhóm. Thể tích khối u trung bình của sườn phải khi bắt đầu dùng liều lượng là khoảng 85 mm^3 . Ba con chuột từ mỗi nhóm bị giết chết 24 giờ sau liều thứ nhất để đánh giá ALT huyết thanh. Các con chuột còn lại được theo dõi về sự phát triển của cả hai khối u. Thể tích khối u được xác định hai lần mỗi tuần. Phép đo chiều dài (L), chiều rộng (W) và chiều cao (H) của khối u được thực hiện bằng thước kẹp điện tử và thể tích được tính theo công thức sau: $L \times W \times H / 2$. Việc dùng liều lượng kháng thể bắt đầu ngay sau khi phân nhóm ngẫu nhiên.

Khi kháng thể kháng CD40 1C10 được tiêm trực tiếp vào một khối u (3 mg/kg, từ 2 đến 3 lần một tuần), sự phát triển khối u ở cả hai vị trí tiêm ("dùng liều lượng IT") cũng như là ở vị trí xa ("Không dùng liều lượng IT") được giảm đi, gợi ý sự hình thành của sự miễn dịch kháng khối u toàn thân (HÌNH 12). Sự gây độc gan được theo dõi bằng enzym gan ALT đo được bằng VetScan (Abaxis Inc., Union City, CA). Việc dùng liều lượng trong khối u (IT) của kháng thể kháng CD40 1C10 gây ra sự tăng ALT giảm đi so với việc dùng liều lượng trong màng bụng (IP) toàn thân.

Trị liệu kết hợp với việc dùng đồng thời của kháng thể kháng PD-1

Khối u CT26 được hình thành bằng cách cấy 1×10^5 tế bào sống cho mỗi con chuột dưới da vào sườn phải của chuột cái Balb/C vào Ngày 0. Các con chuột được chia ngẫu nhiên vào các nhóm vào Ngày 15. Kháng thể kháng CD40 1C10 (0,6 mg/kg) ở dạng kết hợp với kháng thể kháng PD1 muIgG_{2a} độc quyền (10 mg/kg) được dùng liều lượng IP hai lần một tuần trong mô hình chuột CT26 cùng gen. Phác đồ dùng kết hợp thể hiện hoạt tính kháng khối u đáng kể (7 trong số 10 con chuột cho thấy sự thoái triển khối u so với 0 ở đối chứng và 1 trong số 10 trong mỗi nhóm điều trị bằng kháng PD1 hoặc kháng CD40), ủng hộ cho sự phát triển dạng kết hợp này (HÌNH 13).

Việc điều trị bằng kháng thể kháng CD40 1C10 được thực hiện ở 0,6 mg/kg, mà là liều lượng dưới trị liệu để đơn trị liệu trong mô hình này. Trong một số trường hợp, việc duy trì mức độ hiệu quả kháng khối u ở các liều lượng này của mỗi kháng thể đơn dòng có thể trợ giúp cho sự gây độc giảm, như được chứng minh, *ví dụ*, bởi hàm lượng

enzym gan. Trong thí nghiệm này, trị liệu kết hợp không làm tăng hàm lượng enzym gan, khối lượng lá lách, hoặc hàm lượng xytokin, chẳng hạn như $\text{TNF}\alpha$ hoặc IL-6 (HÌNH 14). Hàm lượng enzym gan được đo bằng VetScan, và hàm lượng xytokin được đo bằng bộ kit MILLIPLEX Map Mouse Cytokine (EMD Millipore).

Tất cả các tài liệu công bố, bằng sáng chế, đơn sáng chế và các tài liệu khác viện dẫn trong đơn này được kết hợp ở đây để tham khảo đến toàn bộ nội dung của chúng cho tất cả các mục đích đến mức độ như thể mỗi tài liệu công bố, bằng sáng chế, đơn sáng chế cụ thể hoặc tài liệu khác được chỉ ra riêng rẽ để được kết hợp nhằm mục đích tham khảo.

Mặc dù các phương án cụ thể khác nhau đã được minh họa và mô tả, cần hiểu rõ rằng các thay đổi khác nhau có thể được tạo ra mà không nằm ngoài tinh thần và phạm vi của (các) sáng chế.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể kháng CD40 chứa (i) chuỗi V_H có chứa ba CDR; và (ii) chuỗi V_L có chứa ba CDR, trong đó:
 V_H CDR#1 là GYSITSNYYWN (SEQ ID NO:8);
 V_H CDR#2 là YIRYDGSNNYNPSLKN (SEQ ID NO:18);
 V_H CDR#3 là LDY (SEQ ID NO:35);
 V_L CDR#1 là RSSQSLENTNGNTFLN (SEQ ID NO:58);
 V_L CDR#2 là RVSNRFS (SEQ ID NO:68); và
 V_L CDR#3 là LQVTHVPFT (SEQ ID NO:88).
2. Kháng thể kháng CD40 theo điểm 1 là của người hoặc được làm cho giống của người.
3. Kháng thể kháng CD40 theo điểm 1 hoặc 2 mà có chứa chuỗi V_H tương ứng với trình tự của SEQ ID NO:117 và chuỗi V_L tương ứng với trình tự của SEQ ID NO:170.
4. Kháng thể kháng CD40 theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó kháng thể này là kháng thể IgG.
5. Kháng thể kháng CD40 theo điểm 4, trong đó kháng thể này là IgG₁ và chứa vùng CH2 biến thể có chứa sự thế axit amin V273E hoặc V273Y.
6. Kháng thể kháng CD40 theo điểm 4, trong đó kháng thể này là IgG₁ và chứa vùng Fc biến thể có chứa sự thế axit amin D356E và L358M.
7. Kháng thể kháng CD40 theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6 chứa vùng không đổi chuỗi nhẹ kappa.
8. Kháng thể kháng CD40 theo điểm 1 có trình tự chuỗi nặng theo SEQ ID NO:130 hoặc 131, và trình tự chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO:140
9. Kháng thể kháng CD40 có trình tự chuỗi nặng theo SEQ ID NO:132 hoặc 133, và trình tự chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO: 141.

10. Kháng thể kháng CD40 theo điểm 1 có trình tự chuỗi nặng theo SEQ ID NO:132 hoặc 133, và trình tự chuỗi nhẹ theo SEQ ID NO:142.
11. Dược phẩm chứa kháng thể kháng CD40 theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10, và chất mang dược dụng.
12. Axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa kháng thể kháng CD40 hoặc mảnh liên kết, trong đó kháng thể hoặc mảnh liên kết này chứa (i) chuỗi V_H có chứa ba CDR; và (ii) chuỗi V_L có chứa ba CDR, trong đó:

V_H CDR#1 là GYSITSNYYWN (SEQ ID NO:8);

V_H CDR#2 là YIRYDGSNNYNPSLKN (SEQ ID NO:18);

V_H CDR#3 là LDY (SEQ ID NO:35);

V_L CDR#1 là RSSQSLENTNGNTFLN (SEQ ID NO:58);

V_L CDR#2 là RVSNRFS (SEQ ID NO:68); and

V_L CDR#3 là LQVTHVPFT (SEQ ID NO:88).
13. Phân tử axit nucleic theo điểm 12, trong đó phân tử axit nucleic này thu được từ thể lai.
14. Phân tử axit nucleic theo điểm 13, trong đó thể lai là AD164.14.6.
15. Vật truyền chứa axit nucleic theo điểm 13.
16. Vật truyền theo điểm 15, trong đó vật truyền này là vật truyền biểu hiện.
17. Tế bào chủ được phân lập được biến nạp bằng vật truyền theo điểm 16, trong đó tế bào chủ này là tế bào nhân chuẩn.
18. Tế bào chủ theo điểm 17, trong đó tế bào này là tế bào động vật có vú.
19. Tế bào động vật có vú theo điểm 18, trong đó tế bào này được chọn từ tế bào CHO, tế bào NS0, tế bào COS, hoặc tế bào SP2.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> ABBVIE BIOTHERAPEUTICS INC.

<120> Kháng thể kháng CD40, dược phẩm chứa kháng thể này, và axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hoá kháng thể này

<130> 381493-285WO

<140>

<141>

<150> 62/342,417

<151> 2016-05-27

<160> 200

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 1

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr	Trp	Ile	Thr
1				5					10

<210> 2

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 2

Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Gly	Tyr	Trp	Ile	Gln
1				5					10

<210> 3

<211> 10

```
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"
```

<400> 3
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Asn
1 5 10

```
<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo
```

<220>
<221> nguồn
<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 4
Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Ser
1 5 10

```
<210> 5
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo
```

```
<220>
<221> nguồn
<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"
```

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

```
<210> 6
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo
```

<220>
<221> nguồn
<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 6

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met His
1 5 10

<210> 7

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 7

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Ile Asn
1 5 10

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 8

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

<210> 9

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 9

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

<210> 10
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

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

<210> 11
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 11
 Glu Ile Asn Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Ser

<210> 12
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 12
 Glu Ile Leu Pro Gly Gly Asp His Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Arg
 1 5 10 15

Gly

<210> 13
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 13
 Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 14
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 14
 Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Thr Glu Phe Ser Ala Ser
 1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 15
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 15

Tyr Ile Arg His Asp Gly Thr Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Asn
 1 5 10 15

<210> 16

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 16

Asn Ile Asp Pro Ser Asn Gly Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Asp

<210> 17

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 17

Trp Ile Phe Pro Gly Ser Gly Ser Val Tyr Cys Asn Glu Gln Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 18

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 18

Tyr	Ile	Arg	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Asn	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys	Asn
1				5					10					15	

<210> 19

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 19

Asn	Ile	Asp	Pro	Ser	Asn	Gly	Glu	Thr	His	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 20

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 20

Trp	Ile	Phe	Pro	Gly	Ser	Gly	Ser	Val	Tyr	Ser	Asn	Glu	Gln	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 21

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 21

Tyr	Ile	Arg	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Asn	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys	Ser
1				5					10					15	

<210> 22

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 22

Tyr	Ile	Arg	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Asn	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys	Gly
1				5					10					15	

<210> 23

<400> 23

000

<210> 24

<400> 24

000

<210> 25

<400> 25

000

<210> 26

<400> 26

000

<210> 27

<400> 27
000

<210> 28

<400> 28
000

<210> 29

<400> 29
000

<210> 30

<400> 30
000

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

<220>
<221> nguồn
<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 31
Asn Arg Gly Thr Gly Asp Tyr
1 5

<210> 32
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 32
Val Gly Gly Asp Tyr
1 5

<210> 33
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 33
 Arg Gly Gly Leu Gly Arg Gly Thr Tyr Ala Leu Asp Tyr
 1 5 10

<210> 34
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 34
 Tyr Gly Gly Leu Arg Gln Gly Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 35
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 35
 Leu Asp Tyr
 1

<210> 36
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 36

Glu	Arg	Ile	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Ser	Thr	Tyr	Asp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Val
1				5					10					15	

<210> 37

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 37

Ser	Leu	Gly	Lys	Phe	Ala	Tyr
1			5			

<210> 38

<400> 38

000

<210> 39

<400> 39

000

<210> 40

<211> 277

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Met	Val	Arg	Leu	Pro	Leu	Gln	Cys	Val	Leu	Trp	Gly	Cys	Leu	Leu	Thr
1				5					10					15	

Ala	Val	His	Pro	Glu	Pro	Pro	Thr	Ala	Cys	Arg	Glu	Lys	Gln	Tyr	Leu
			20					25					30		

Ile Asn Ser Gln Cys Cys Ser Leu Cys Gln Pro Gly Gln Lys Leu Val
 35 40 45

Ser Asp Cys Thr Glu Phe Thr Glu Thr Glu Cys Leu Pro Cys Gly Glu
 50 55 60

Ser Glu Phe Leu Asp Thr Trp Asn Arg Glu Thr His Cys His Gln His
 65 70 75 80

Lys Tyr Cys Asp Pro Asn Leu Gly Leu Arg Val Gln Gln Lys Gly Thr
 85 90 95

Ser Glu Thr Asp Thr Ile Cys Thr Cys Glu Glu Gly Trp His Cys Thr
 100 105 110

Ser Glu Ala Cys Glu Ser Cys Val Leu His Arg Ser Cys Ser Pro Gly
 115 120 125

Phe Gly Val Lys Gln Ile Ala Thr Gly Val Ser Asp Thr Ile Cys Glu
 130 135 140

Pro Cys Pro Val Gly Phe Phe Ser Asn Val Ser Ser Ala Phe Glu Lys
 145 150 155 160

Cys His Pro Trp Thr Ser Cys Glu Thr Lys Asp Leu Val Val Gln Gln
 165 170 175

Ala Gly Thr Asn Lys Thr Asp Val Val Cys Gly Pro Gln Asp Arg Leu
 180 185 190

Arg Ala Leu Val Val Ile Pro Ile Ile Phe Gly Ile Leu Phe Ala Ile
 195 200 205

Leu Leu Val Leu Val Phe Ile Lys Lys Val Ala Lys Lys Pro Thr Asn
 210 215 220

Lys Ala Pro His Pro Lys Gln Glu Pro Gln Glu Ile Asn Phe Pro Asp
 225 230 235 240

Asp Leu Pro Gly Ser Asn Thr Ala Ala Pro Val Gln Glu Thr Leu His
 245 250 255

Gly Cys Gln Pro Val Thr Gln Glu Asp Gly Lys Glu Ser Arg Ile Ser
 260 265 270

Val Gln Glu Arg Gln
 275

<210> 41

<211> 261

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

Met Ile Glu Thr Tyr Asn Gln Thr Ser Pro Arg Ser Ala Ala Thr Gly
 1 5 10 15

Leu Pro Ile Ser Met Lys Ile Phe Met Tyr Leu Leu Thr Val Phe Leu
 20 25 30

Ile Thr Gln Met Ile Gly Ser Ala Leu Phe Ala Val Tyr Leu His Arg
 35 40 45

Arg Leu Asp Lys Ile Glu Asp Glu Arg Asn Leu His Glu Asp Phe Val
 50 55 60

Phe Met Lys Thr Ile Gln Arg Cys Asn Thr Gly Glu Arg Ser Leu Ser
 65 70 75 80

Leu Leu Asn Cys Glu Glu Ile Lys Ser Gln Phe Glu Gly Phe Val Lys
 85 90 95

Asp Ile Met Leu Asn Lys Glu Glu Thr Lys Lys Glu Asn Ser Phe Glu
 100 105 110

Met Gln Lys Gly Asp Gln Asn Pro Gln Ile Ala Ala His Val Ile Ser
 115 120 125

Glu Ala Ser Ser Lys Thr Thr Ser Val Leu Gln Trp Ala Glu Lys Gly
 130 135 140

Tyr Tyr Thr Met Ser Asn Asn Leu Val Thr Leu Glu Asn Gly Lys Gln
 145 150 155 160

Leu Thr Val Lys Arg Gln Gly Leu Tyr Tyr Ile Tyr Ala Gln Val Thr
 165 170 175

Phe Cys Ser Asn Arg Glu Ala Ser Ser Gln Ala Pro Phe Ile Ala Ser
 180 185 190

Leu Cys Leu Lys Ser Pro Gly Arg Phe Glu Arg Ile Leu Leu Arg Ala
 195 200 205

Ala Asn Thr His Ser Ser Ala Lys Pro Cys Gly Gln Gln Ser Ile His
 210 215 220

Leu Gly Gly Val Phe Glu Leu Gln Pro Gly Ala Ser Val Phe Val Asn
 225 230 235 240

Val Thr Asp Pro Ser Gln Val Ser His Gly Thr Gly Phe Thr Ser Phe
 245 250 255

Gly Leu Leu Lys Leu
 260

<210> 42

<400> 42

000

<210> 43

<400> 43
000

<210> 44

<400> 44
000

<210> 45

<400> 45
000

<210> 46

<400> 46
000

<210> 47

<400> 47
000

<210> 48

<400> 48
000

<210> 49

<400> 49
000

<210> 50

<400> 50
000

<210> 51
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 51
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Tyr Gly Asn Thr Tyr Leu His
 1 5 10 15

<210> 52
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 52
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Asn Ser Asn Glu Asn Thr Tyr Leu His
 1 5 10 15

<210> 53
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 53
 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
 1 5 10

<210> 54
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 54
 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn
 1 5 10

<210> 55
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 55
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser Tyr Gly Asn Thr Phe Leu Asn
 1 5 10 15

<210> 56
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 56
 Ser Ala Ser Ser Ser Leu Ser Tyr Met His
 1 5 10

<210> 57
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 57

Lys Ala Ser Gln Ser Val Val Thr Ala Val Ala
 1 5 10

<210> 58

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 58

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Thr Asn Gly Asn Thr Phe Leu Asn
 1 5 10 15

<210> 59

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 59

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser Asn Gly Asn Thr Phe Leu Asn
 1 5 10 15

<210> 60

<400> 60

000

<210> 61

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 61

Lys Val Ser Asn Arg Ile Ser
1 5

<210> 62

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 62

Lys Val Phe Asn Arg Tyr Ser
1 5

<210> 63

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 63

Tyr Thr Ser Arg Leu His Leu
1 5

<210> 64

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 64

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser
1 5

<210> 65

<211> 7

<212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 65
 Arg Val Ser Asn Arg Phe Cys
 1 5

<210> 66
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 66
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
 1 5

<210> 67
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 67
 Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
 1 5

<210> 68
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 68

Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 69

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 69

Arg Ile Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 70

<400> 70

000

<210> 71

<400> 71

000

<210> 72

<400> 72

000

<210> 73

<400> 73

000

<210> 74

<400> 74

000

<210> 75

<400> 75
000

<210> 76

<400> 76
000

<210> 77

<400> 77
000

<210> 78

<400> 78
000

<210> 79

<400> 79
000

<210> 80

<400> 80
000

<210> 81

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 81

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 82
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 82
Phe Gln Ser Thr His Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 83
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 83
Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Leu Thr
1 5

<210> 84
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 84
Gln Gln Gly Lys Thr Leu Pro Trp Thr
1 5

<210> 85
<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 85

Leu Gln Val Thr His Val Pro Tyr Thr

1

5

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 86

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Trp Thr

1

5

<210> 87

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 87

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr

1

5

<210> 88

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 88
Leu Gln Val Thr His Val Pro Phe Thr
1 5

<210> 89

<400> 89
000

<210> 90

<400> 90
000

<210> 91

<400> 91
000

<210> 92

<400> 92
000

<210> 93

<400> 93
000

<210> 94

<400> 94
000

<210> 95

<400> 95
000

<210> 96

<400> 96
000

<210> 97

<400> 97
000

<210> 98

<400> 98
000

<210> 99

<400> 99
000

<210> 100

<400> 100
000

<210> 101

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 101

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

Ser	Val	Lys	Met	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr
			20					25						30	

Trp Ile Thr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Asn Arg Gly Thr Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
 100 105 110

Thr Val Ser Ser
 115

<210> 102

<211> 114

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 102

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

Ser Ala Lys Leu Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30

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

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Gly Asp His Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Val Gly Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 103

<211> 122

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 103

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

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

Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Arg Gly Gly Leu Gly Arg Gly Thr Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 104

<211> 113

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 104

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Ser Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
1 5 10 15

Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly
20 25 30

Lys Ala Leu Glu Trp Leu Gly Phe Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr
35 40 45

Thr Thr Glu Phe Ser Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
50 55 60

Asp Asn Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ala Leu Arg Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Gly Gly Leu Arg Gln
85 90 95

Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 105

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 105

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

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

Tyr	Asn	Trp	Asn	Trp	Ile	Arg	Gln	Phe	Pro	Gly	Asn	Lys	Leu	Glu	Trp
		35					40					45			

Met	Gly	Tyr	Ile	Arg	His	Asp	Gly	Thr	Asn	Asn	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu
	50					55					60				

Lys	Asn	Arg	Ile	Ser	Ile	Ile	Arg	Asp	Thr	Pro	Lys	Asn	Gln	Phe	Phe
65					70					75				80	

Leu	Lys	Leu	Asn	Ser	Val	Thr	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Ile	Tyr	Phe	Cys
				85					90					95	

Thr	Arg	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser
			100					105					110		

<210> 106

<211> 125

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 106

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

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

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

Gly Asn Ile Asp Pro Ser Asn Gly Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Arg Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Asp Gly Tyr Phe
 100 105 110

Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 107

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 107

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

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

Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Phe Pro Gly Ser Gly Ser Val Tyr Cys Asn Glu Gln Phe
50 55 60

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

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

Ala Ser Ser Leu Gly Lys Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ala
115

<210> 108

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 108

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

Ala Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 109

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 109

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

Thr Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 110

<211> 125

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 110

Glu 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

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

Gly Asn Ile Asp Pro Ser Asn Gly Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Ala Thr Leu Thr Val 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 Glu Arg Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Asp Gly Tyr Phe
100 105 110

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

<210> 111

<211> 125

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 111

Glu 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

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

Gly Asn Ile Asp Pro Ser Asn Gly Glu Thr His Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Val 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 Glu Arg Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Asp Gly Tyr Phe
 100 105 110

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

<210> 112
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 112
 Glu 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

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

Gly Asn Ile Asp Pro Ser Asn Gly Glu Thr His Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Val 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 Glu Arg Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Asp Gly Tyr Phe
 100 105 110

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

<210> 113
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 113

Glu 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 Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Phe Pro Gly Ser Gly Ser Val Tyr Cys Asn Glu Gln Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Arg Ser Thr 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 Ser Ser Leu Gly Lys Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 114

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 114

Glu 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 Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Phe Pro Gly Ser Gly Ser Val Tyr Ser Asn Glu Gln Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Arg Ser Thr 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 Ser Ser Leu Gly Lys Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 115

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 115

Glu 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 Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Trp Ile Phe Pro Gly Ser Gly Ser Val Tyr Cys Asn Glu Gln Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Val 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 Ser Ser Leu Gly Lys Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110

Thr Val Ser Ser
 115

<210> 116

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 116

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn
 20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45

Met Gly Tyr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

Lys Asn Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

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

Ala Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 117

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 117

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn
20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 118

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 118

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Asn
 20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45

Met Gly Tyr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 119

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 119

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn
20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 120

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 120

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn
20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45

Met Gly Tyr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 121

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 121

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

Thr Leu Ile Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Asp Ile Thr Ser Asn
 20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45

Met Gly Tyr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 122

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 122

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn
20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Asn Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

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

Ala Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 123
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 123
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn
 20 25 30

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

Met Gly Tyr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 124

<400> 124
 000

<210> 125

<400> 125
000

<210> 126

<400> 126
000

<210> 127

<400> 127
000

<210> 128

<400> 128
000

<210> 129

<400> 129
000

<210> 130
<211> 442
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 130
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn
20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

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

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 145 150 155 160

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

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 195 200 205

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

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 225 230 235 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 260 265 270

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 275 280 285

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 290 295 300

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

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 405 410 415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440

<210> 131

<211> 441

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 131

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn
 20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45

Met Gly Tyr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

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

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 145 150 155 160

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

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 195 200 205

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

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 225 230 235 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 260 265 270

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 275 280 285

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 290 295 300

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

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 405 410 415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440

<210> 132

<211> 442

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 132

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn
 20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45

Met Gly Tyr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

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

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 145 150 155 160

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

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 195 200 205

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

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 225 230 235 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Glu Lys Phe Asn Trp
 260 265 270

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 275 280 285

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 290 295 300

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

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 405 410 415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440

<210> 133

<211> 441

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 133

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn
 20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45

Met Gly Tyr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

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

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 145 150 155 160

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

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 195 200 205

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

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 225 230 235 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Glu Lys Phe Asn Trp
 260 265 270

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 275 280 285

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 290 295 300

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

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
405 410 415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440

<210> 134

<211> 442

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 134

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn
 20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45

Met Gly Tyr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

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

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 145 150 155 160

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

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 195 200 205

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

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 225 230 235 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Tyr Lys Phe Asn Trp
 260 265 270

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 275 280 285

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 290 295 300

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

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 405 410 415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440

<210> 135

<211> 441

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 135

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn
 20 25 30

Tyr Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45

Met Gly Tyr Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

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

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

Ala Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

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

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 145 150 155 160

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

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 195 200 205

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

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 225 230 235 240

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Tyr Lys Phe Asn Trp
 260 265 270

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 275 280 285

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 290 295 300

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

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 405 410 415

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440

<210> 136

<400> 136

000

<210> 137

<400> 137
000

<210> 138

<400> 138
000

<210> 139

<400> 139
000

<210> 140
<211> 219
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 140
Asp Ala Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Thr
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Phe Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Val
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 141

<211> 219

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 141

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Thr
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Phe Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Val
 85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 142

<211> 219

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 142

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Thr
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Phe Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Val
 85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 143

<400> 143
 000

<210> 144

<400> 144
 000

<210> 145

<400> 145
 000

<210> 146

<400> 146
 000

<210> 147

<400> 147
000

<210> 148

<400> 148
000

<210> 149

<400> 149
000

<210> 150

<400> 150
000

<210> 151
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 151
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Tyr Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Phe Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Ile Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Pro Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 152

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 152

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Asn Ser
20 25 30

Asn Glu Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Phe Asn Arg Tyr Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Phe Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 153
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 153
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
 1 5 10 15

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

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Pro Leu Ile
 35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Leu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
 65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105

<210> 154
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 154

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

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

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
 65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Lys Thr Leu Pro Trp
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Ser Lys Leu Glu Met Lys
 100 105

<210> 155

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 155

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser
 20 25 30

Tyr Gly Asn Thr Phe Leu Asn Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Cys Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Phe Cys Leu Gln Val
85 90 95

Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 156

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 156

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Leu Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Trp Thr
 85 90 95

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

<210> 157

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 157

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Leu Ser Tyr Met
 20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
 35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Gly Glu
 65 70 75 80

Asp Gly Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Trp Thr
 85 90 95

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

<210> 158
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 158
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Thr Val Gly
 1 5 10 15

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

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

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

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

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

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

<210> 159
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <221> nguồn
 <223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 159

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Thr
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Phe Leu Asn Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Leu Gln Val
 85 90 95

Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 160

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 160

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Ser
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Phe Leu Asn Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Leu Gln Val
 85 90 95

Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 161

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 161

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Leu Ser Tyr Met
 20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
 35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
 65 70 75 80

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

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

<210> 162

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 162

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

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

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr 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 Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
 85 90 95

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

<210> 163

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 163

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

Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Glu	Asn	Thr
			20				25						30		

Asn	Gly	Asn	Thr	Phe	Leu	Asn	Trp	Phe	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
		35					40					45			

Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
		50				55					60				

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

Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Phe	Cys	Leu	Gln	Val
			85					90						95	

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

<210> 164

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 164

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Thr
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Phe Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Val
 85 90 95

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

<210> 165

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 165

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Thr
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Phe Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Val
 85 90 95

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

<210> 166

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 166

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Thr
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Phe Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Val
 85 90 95

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

<210> 167

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 167

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Thr
 20 25 30

Asn Gly Asn Thr Phe Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
 35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

Thr His Val Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 168

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 168

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

Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Glu	Asn	Thr
			20				25					30			

Asn	Gly	Asn	Thr	Phe	Leu	Asn	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
	35					40					45				

Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	Tyr	Arg	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
	50				55					60					

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

Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Val
			85					90					95		

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

<210> 169

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 169

Asp	Ala	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 Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Thr
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Phe Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

<210> 170

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 170

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Thr
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Phe Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Val
85 90 95

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

<210> 171

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 171

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Glu Asn Thr
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Phe Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Val
85 90 95

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

<210> 172

<400> 172
000

<210> 173

<400> 173
000

<210> 174

<400> 174
000

<210> 175

<400> 175
000

<210> 176

<400> 176
000

<210> 177

<400> 177
000

<210> 178

<400> 178
000

<210> 179

<400> 179
000

<210> 180

<400> 180
000

<210> 181
<211> 452
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 181
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 Gly Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr
100 105 110

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
 130 135 140

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

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

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr
 195 200 205

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

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
 225 230 235 240

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255

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

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

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

Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
325 330 335

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

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

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

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

Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly Lys
450

<210> 182

<211> 214

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<221> nguồn

<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Polypeptit tổng hợp"

<400> 182

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

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

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

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 183

<400> 183
000

<210> 184

<400> 184
000

<210> 185

<400> 185
000

<210> 186

<400> 186
000

<210> 187

<400> 187
000

<210> 188

<400> 188
000

<210> 189

<400> 189
000

<210> 190

<400> 190
000

<210> 191

<400> 191
000

<210> 192

<400> 192
000

<210> 193

<400> 193
000

<210> 194

<400> 194
000

<210> 195

<400> 195
000

<210> 196

<400> 196
000

<210> 197

<400> 197
000

<210> 198

<400> 198
000

<210> 199

<400> 199
000

<210> 200
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /note="Mô tả trình tự nhân tạo: Peptit tổng hợp"

<400> 200
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

Thụ thể CD40 (SEQ ID NO:40) (từ EMBO J, 8(5), 1403-1410 (1989))

10	20	30	40	50
MVRLPLQCVL	WGCLLTAVHP	EPPTACREKQ	YLINSQCCSL	CQPGQKLVSD
60	70	80	90	100
CTEFTETECL	PCGESEFLDT	WNRETHCHQH	KYCDPNLGLR	VQQKGTSETD
110	120	130	140	150
TICTCEEGRH	CTSEACESCV	LHRSCSPGFG	VKQIATGVSD	TICEPCPVGF
160	170	180	190	200
FSNVSSAFEK	CHPWTSCETK	DLVVQQAGTN	KTDVVCQPQD	RLRALVVIPI
210	220	230	240	250
IFGILFAILL	VLVFIKKVAK	KPTNKAPHPK	QEPQEINFPD	DLPGSNTAAP
260	270			
VQETLHGCQP	VTQEDGKESR	ISVQERQ		

Phối tử CD40 (SEQ ID NO:41) (từ FEBS Letters, 315 (3), 259-266 (1993))

10	20	30	40	50
MIETYNQTSP	RSAATGLPIS	MKIFMYLLTV	FLITQMIGSA	LFAVYLHRRRL
60	70	80	90	100
DKIEDERNLH	EDFVFMKTIQ	RCNTGERSLS	LLNCEEIKSQ	FEGFVKDIML
110	120	130	140	150
NKEETKKENS	FEMQKGDQNP	QIAAHVISEA	SSKTTSVLQW	AEKGYTMSN
160	170	180	190	200
NLVTLENGKQ	LTVKRQGLYY	IYAQVTFCSN	REASSQAPFI	ASLCLKSPGR
210	220	230	240	250
FERILLRAAN	THSSAKPCGQ	QSIHLGGVFE	LQPGASVFN	VTDPQSQVSHG
260				
TGFTSFGLLK	L			

HÌNH 1

Miễn kháng thể kháng CD40 người ở chuột
Miền biến đổi (CDR được in đậm)

muAb1 V_H (SEQ ID NO: 101)

QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYWITWVKORPGQGLEWIGINPGSGS
TNYNEKFKSKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARN**RGTDYWGQG**TTLTVSS

muAb1 V_L (SEQ ID NO: 151)

DVVMTQTPLSLPVSLGDOASISCRSSQSLVHSYGNTRYLHWYLOKPGQSPKFLIYKVSNR
ISGVPDRLSGSGGTDFTLKISRVEPEDLGVYFC**SQSTHVPYTF**GGG**TKLEIK**

muAb2 V_H (SEQ ID NO: 102)

QVQLQQSGAELMKPGASAKLSCKATGYTFTGYWQWVKORPGHGLEWIGIELPGGD
HTKYNEKFRGKATFTSDTSSNTVYMQLSSLTTEDSAIYYCAR**VGGDYWGQG**TTLTVSS

muAb2 V_L (SEQ ID NO: 152)

DVVMTQTPLSLPVSLGDOASISCRSSQSLVNSNENTY^LHWYLOKPGQSPKLLIYKVFN**R**
YSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDLGVYFC**FQSTHVPWT**FGG**TKLEIK**

muAb3 V_H (SEQ ID NO: 103)

EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDY^MNWVKQSHGKSLIEWIGDINPN**NGG**
TSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARR**GGLGRGTYALDYWGQ**GSVTVSS

muAb3 V_L (SEQ ID NO: 153)

DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYL^NWYQQKPDGTVKPLIYTSR**LHLGVP**
SRFSGSGGTDYSLTISNLEQEDIA^TYFC**QQGNTLPLTF**GAG**TKLEIK**

HÌNH 2A

Miễn kháng thể kháng CD40 người ở chuột

Miền biến đổi (CDR được in đậm)

muAb4 V_H (SEQ ID NO: 104)

LVQGGSLSLSCAASGFTFSDYYMSWWRQPPGKALEWLGFIRNKANGYTTEFSASVK
GRFTISRDNSQSILYLQMNALRAEDSATYCYARYGGLRQGWYFDVWGTGTTVTVSS

muAb4 V_L (SEQ ID NO: 154)

DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDIRNYLNWYQQKPDGTVKLIYYTSRLHSGVP
SRFSGSGGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGKTLPWTFGGGSKLEMK

muAb5 V_H (SEQ ID NO: 105)

DVQLQESGPGGLVEPSQSLFLTCSVTGYSITTNNWNWIRQFPGNKLEWMGYIRHDGTN
NYP~~SL~~KNRISIIRDTPKNQFFLKLNSVTTEDTAYFCTRLDYWGQGSTVTVSS

muAb5 V_L (SEQ ID NO: 155)

DAVMTQTPLSLPVSLGDAQASISCRSSQSLENYGN~~TFL~~NWFLQRPQSPQLLIYRVSNR
FCGV~~PDR~~FRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDLGIYFCLQVTHVPYTFGGGKLEIK

muAb6 V_H (SEQ ID NO: 106)

QVQLQQPGAELVRPGSSVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKORPIQGLEWIGNIDPSNGE
THYNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARERIYSGSTYDGYFDVWGTGTTVTVSS

muAb6 V_L (SEQ ID NO: 156)

QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSLSYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPA
RFSGSGSGTSYSLTISSEAEADAATYCCQQWSSNPWTFGGGKLEIK

muAb7 V_L (SEQ ID NO: 157)

QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSLSYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPA
RFSGSGSGTSYSLTISSEGE~~DGAT~~YCCQQWSSNPWTFGGGKLEIK

HÌNH 2B

Miền kháng thể kháng CD40 người ở chuột
 Miền biến đổi (CDR được in đậm)
 muAb8 V_H (SEQ ID NO: 107)
 QVQLQQSGPELVKSGASVKISKCKASGYTFDYYINWVKQRPQGQLEWIGWIFPGSGSV
 YCNEQFKGQATLTVDRSSSTAYMLLSSLTSEDSAVYFCASSLGFAYWGQGLVTVSA
 muAb8 V_L (SEQ ID NO: 158)
 DIVMTQSQKFMSTTVGDRVSITCKASQSVTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASNRYTGV
 PDRFTGSGSGTDFALTIRTMQSEDLADYFCQQYSSYPYTFGGGKLEIK
 muAb9 V_H (SEQ ID NO: 108)
 DVQLQESGPGGLVKPSQSLSTCSVTGYSITSNYWNWIRQFPGNKLEWMGYIRYDGSN
 NYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDATYYCARLDYWGQGTTLTVSS
 muAb9 V_L (SEQ ID NO: 159)
 DAVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLENTNGNTFLNWFLQKPGQSPQLLIYRVSNR
 FSGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCLQVTHVPFTFGSGTKLEIK
 muAb10 V_H (SEQ ID NO: 109)
 DVQLQESGPGGLVKPSQSLSTCSVTGYSITSNYWNWIRQFPGNKLEWMGYIRYDGSN
 NYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLRLNSVTTEDATYYCTRLDYWGQGTTLTVSS
 muAb10 V_L (SEQ ID NO: 160)
 DAVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLENSNGNTFLNWFLQKPGQSPQLLIYRISNRF
 SGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCLQVTHVPFTFGSGTKLEIK

HÌNH 2C

Miễn kháng thể kháng CD40 người được làm cho giống người
Miễn biến đổi (CDR được in đậm)

huAb6-1 V_H (SEQ ID NO: 110)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKCKASGYTFTSYWMHWVROAPGQGLEWIGNIDPSNGETHYNQ
KFKDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYCARERIYSGSTYDGYFDVWGQGTTVTVSS

huAb6-1 V_L (SEQ ID NO: 161)

DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCSASSLSYMHWYQQKPKSPKRWIYDTSKLASGVPSPRFGSGSGS
GTEYTLTISSLQPEDFATYCCQWSSNPWTFGGGTKVEIK

huAb6-2 V_H (SEQ ID NO: 111)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKCKASGYTFTSYWMHWVROAPGQGLEWIGNIDPSNGETHYNQ
KFKDRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYCARERIYSGSTYDGYFDVWGQGTTVTVSS

huAb6-3 V_H (SEQ ID NO: 112)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKCKASGYTFTSYWMHWVROAPGQGLEWIGNIDPSNGETHY AQ
KFQGRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYCARERIYSGSTYDGYFDVWGQGTTVTVSS

huAb8-1 V_H (SEQ ID NO: 113)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKCKASGYTFTDYINWVROAPGQGLEWIGWIFPGSGSVYCNEQF
KGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASSLGKFAYWGQGTLVTVSS

huAb8-1 V_L (SEQ ID NO: 162)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQSVWTAVAWYQQKPKSPKLLIYSASNRYTGVPSRFGSGSGS
GTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYSSYPYTFGGGTKVEIK

huAb8-2 V_H (SEQ ID NO: 114)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKCKASGYTFTDYINWVROAPGQGLEWIGWIFPGSGSVY SNEQF
KGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASSLGKFAYWGQGTLVTVSS

HÌNH 2D

Miền kháng thể kháng CD40 người được làm cho giống người
Miền biến đổi (CDR được in đậm)

huAb8-3 V_H (SEQ ID NO: 115)

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGYTFDYINWVRQAPGGLEWIGWIFPGSGSVYCNEQF
KGRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASSLGKFAYWGQGLTVTVSS

huAb9-1 V_H (SEQ ID NO: 116)

EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSNYYWNWIRQPPGKGLEWMGYIRYDGSNNYNPSL
KNRITISRDTSKNQFSLKLSSTAAATAVYYCARLDYWGQGTITVTVSS

huAb9-1 V_L (SEQ ID NO: 163)

DAVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLENTGNFTLNWFLQKPGQSPQLLIYRVSNRFSGVDP
RFGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCLQVTHVPFTFGQGTKLEIK

huAb9-2 V_H (SEQ ID NO: 117)

EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSNYYWNWIRQPPGKGLEWMGYIRYDGSNNYNPSL
KNRVTISRDTSKNQFSLKLSSTAAATAVYYCARLDYWGQGTITVTVSS

huAb9-3 V_H (SEQ ID NO: 118)

EVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGYSISSNYYWNWIRQPPGKGLEWMGYIRYDGSNNYNPSL
KSRVTISRDTSKNQFSLKLSSTAAATAVYYCARLDYWGQGTITVTVSS

huAb9-4 V_L (SEQ ID NO: 164)

DAVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLENTGNFTLNWYLYQKPGQSPQLLIYRVSNRFSGVDP
RFGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCLQVTHVPFTFGQGTKLEIK

HÌNH 2E

Miền kháng thể kháng CD40 người được làm cho giống người
Miền biến đổi (CDR được in đậm)

huAb9-7 V_H (SEQ ID NO: 119)

EVQLVESGGGLVKPGETLSLTCTVSGYSITSNYYWNWIRQPPGKGLEWMGYIRYDGSNNYNPSL
KGRVTISRDTSKNQFYLKLSSTAAADTAVYYCARLDYWGGGTLTVSS

huAb9-8 V_H (SEQ ID NO: 120)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSNYYWNWIRQPPGKGLEWMGYIRYDGSNNYNPS
LKGRVTISRDTSKNQFYLKLSSTAAADTAVYYCARLDYWGGGTLTVSS

huAb9-9 V_H (SEQ ID NO: 121)

EVQLVESGGGLVKPGETLILCTVSGYDITSNYYWNWIRQPPGKGLEWMGYIRYDGSNNYNPSL
KGRVTISRDTSKNQFYLKLSSTAAADTAVYYCARLDYWGGGTLTVSS

huAb9 rehu VH4 V_H (SEQ ID NO: 122)

QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGYSITSNYYWNWIRQPPGKGLEWMGYIRYDGSNNYNPSL
KNRITISRDTSKNQFSLKLSSTAAADTAVYYCARLDYWGGGTLTVSS

huAb9 rehu VH3 V_H (SEQ ID NO: 123)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSNYYWNWIRQPPGKGLEWMGYIRYDGSNNYNPS
LKNRITISRDTSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARLDYWGGGTLTVSS

HÌNH 2F

Miễn kháng thể kháng CD40 người được làm cho giống người
Miền biến đổi (CDR được in đậm)

huAb9-7 V_L (SEQ ID NO: 165)

DAVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLENTNGNTFLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSNRFSGVDP
 RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQVTHVPFTFGQGTKLEIK

huAb9-9 V_L (SEQ ID NO: 166)

DAVMTQTPLSLAVLPGPASISCRSSQSLENTNGNTFLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSNRFSGVDP
 RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQVTHVPFTFGQGTKLEIK

huAb9 VK1 V_L (SEQ ID NO: 167)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRSSQSLENTNGNTFLNWYQQKPGKAPKLLIYRVSNRFSGVPS
 RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQVTHVPFTFGQGTKLEIK

huAb9 rehu VK2 V_L (SEQ ID NO: 168)

DAVMTQSPPLSLPVTLGEPAISCRSSQSLENTNGNTFLNWFAQKPGQSPRLLIYRVSNRFSGVDP
 RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQVTHVPFTFGQGTKLEIK

huAb9 rehu VK1 V_L (SEQ ID NO: 169)

DAQMTQSPSSLSASVGDRTITCRSSQSLENTNGNTFLNWFAQKPGKAPKLLIYRVSNRFSGVPS
 RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQVTHVPFTFGQGTKLEIK

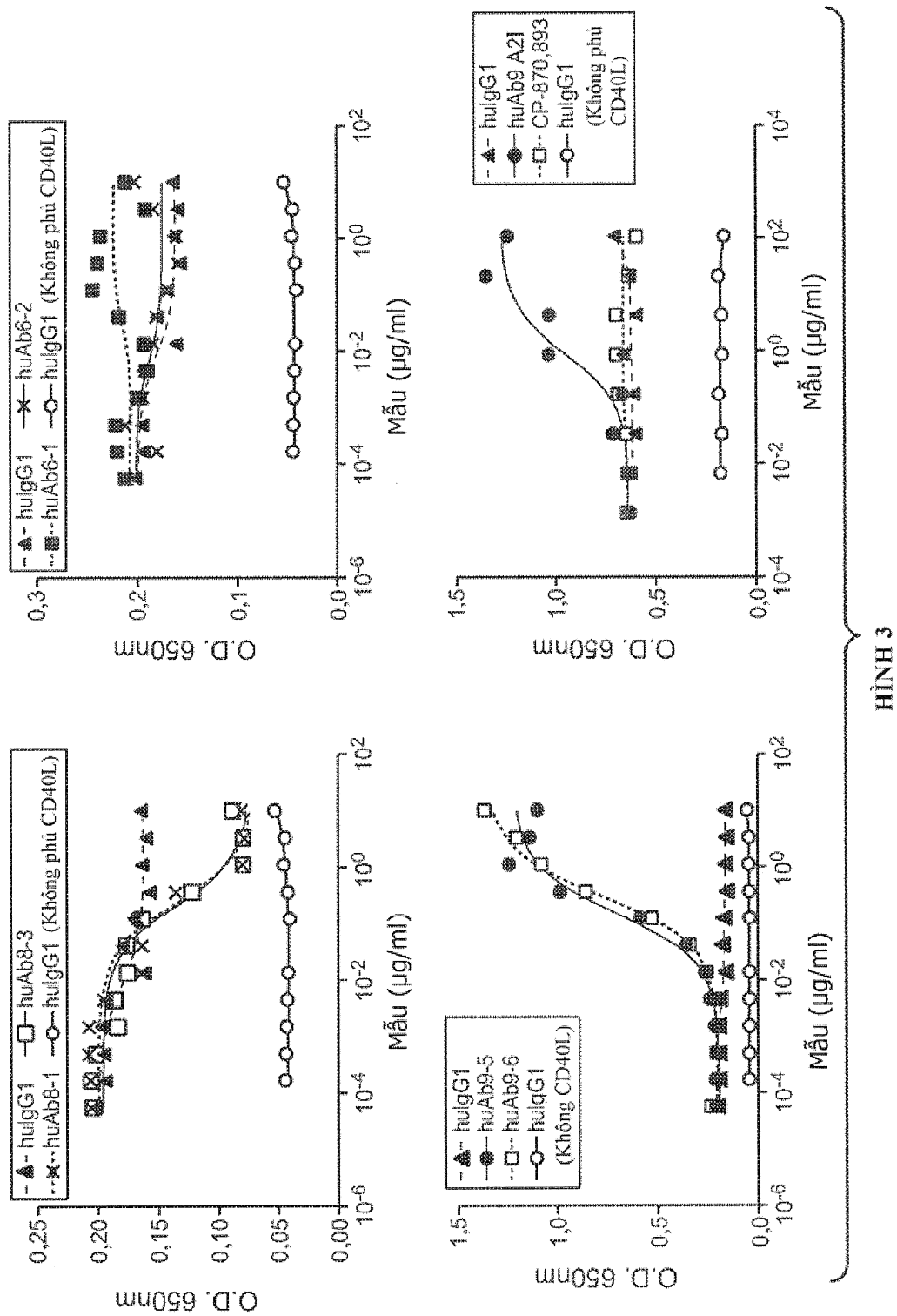
huAb9 A2I V_L (SEQ ID NO: 170)

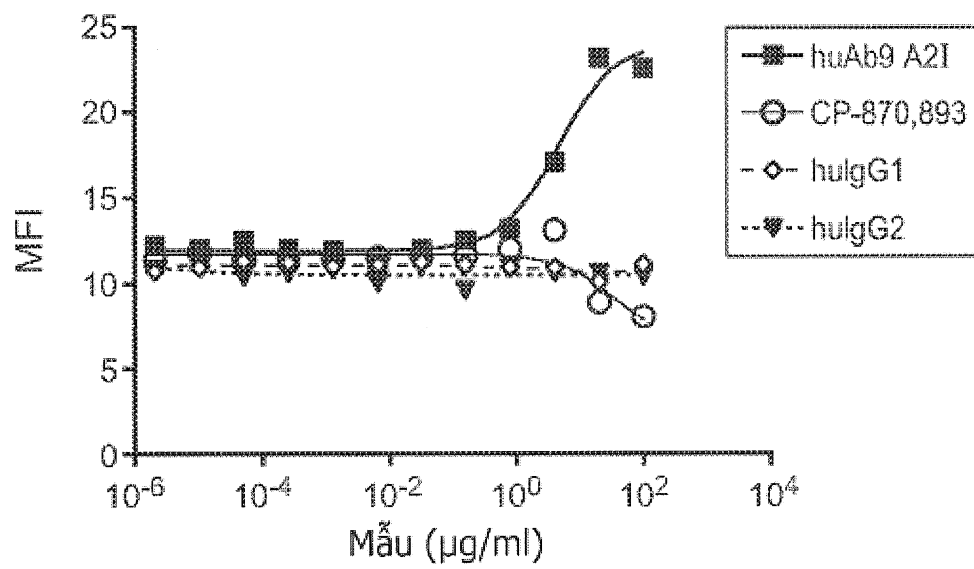
DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLENTNGNTFLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSNRFSGVDPDR
 FSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQVTHVPFTFGQGTKLEIK

huAb9 A2V V_L (SEQ ID NO: 171)

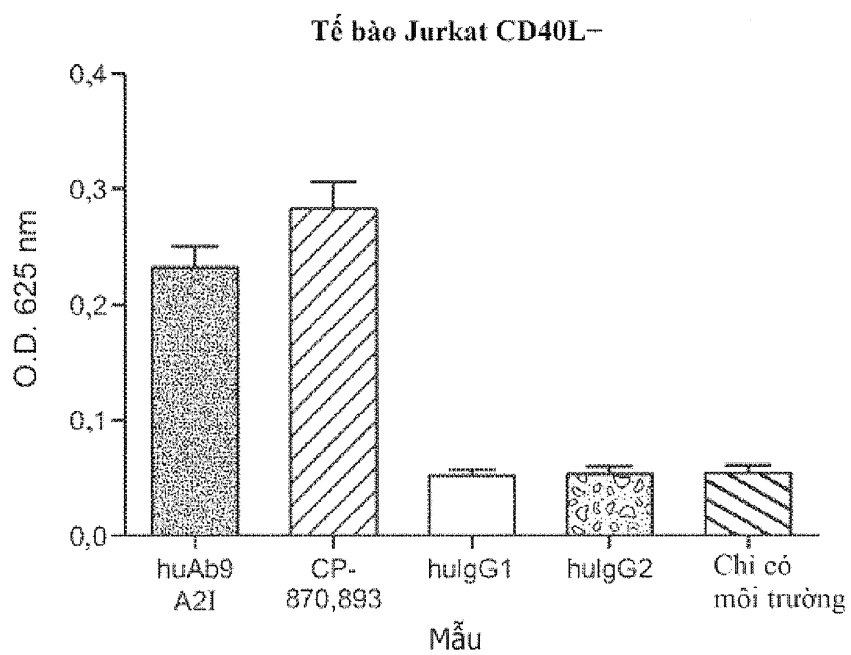
DWVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLENTNGNTFLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSNRFSGVDP
 RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQVTHVPFTFGQGTKLEIK

IIII 2G

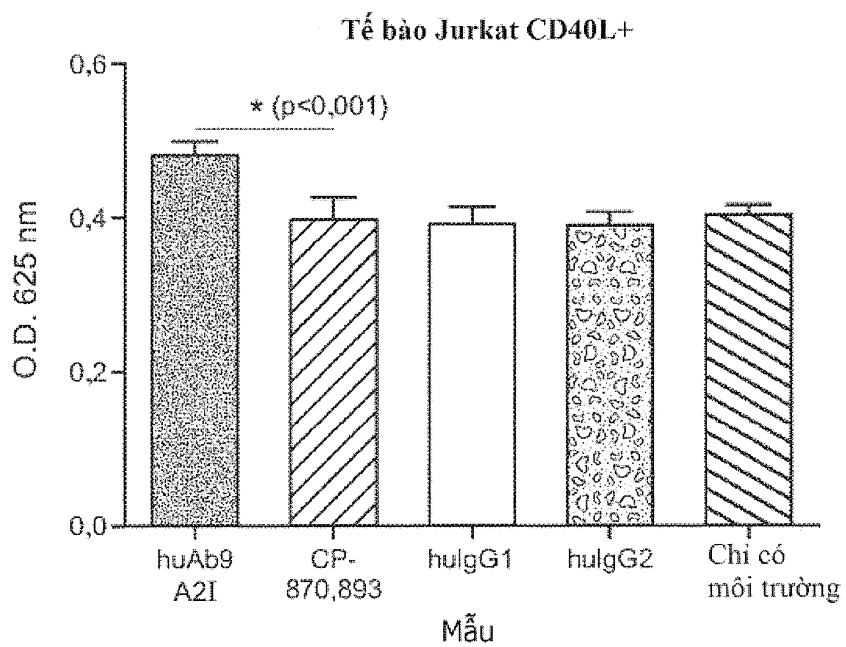




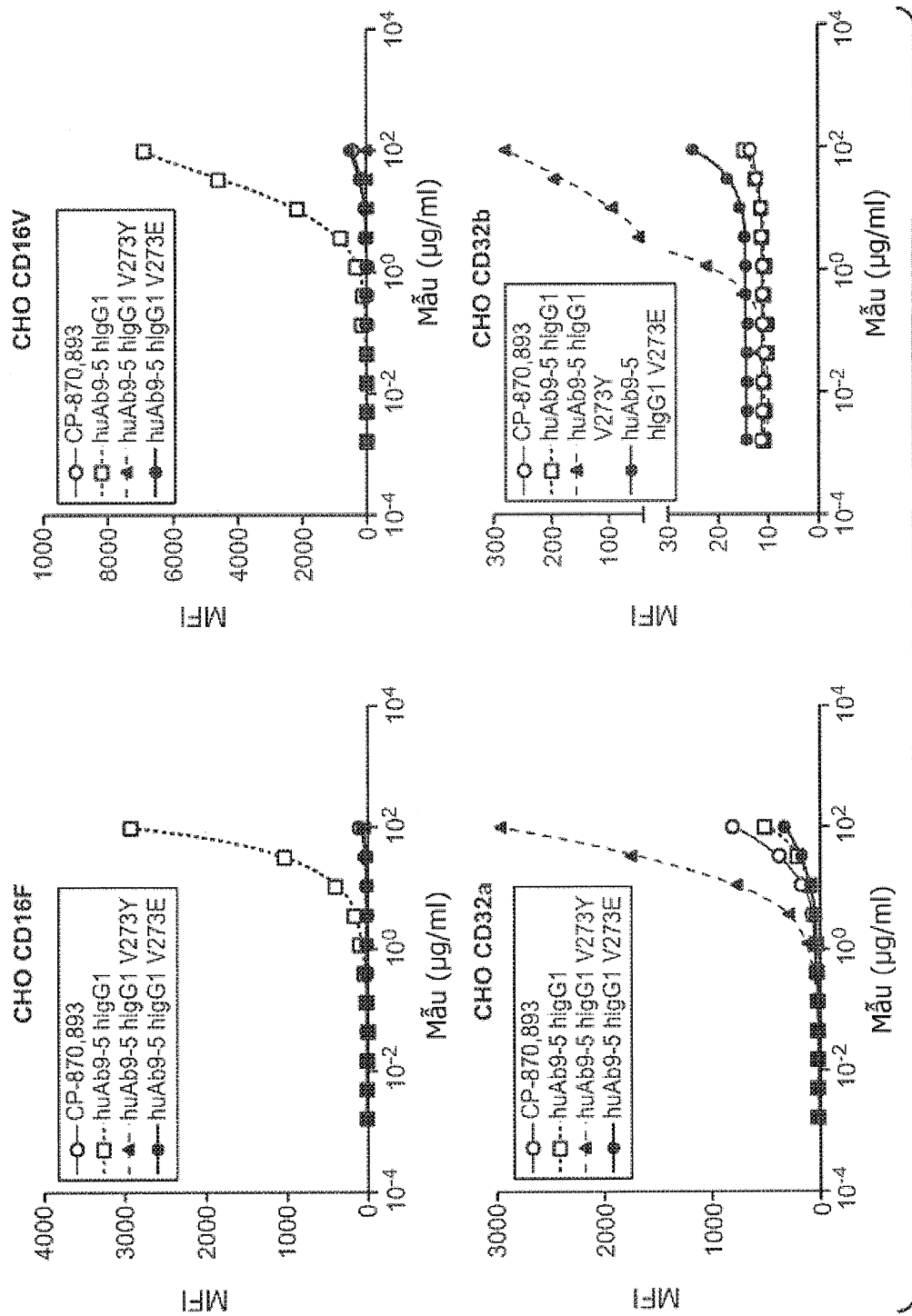
HÌNH 4



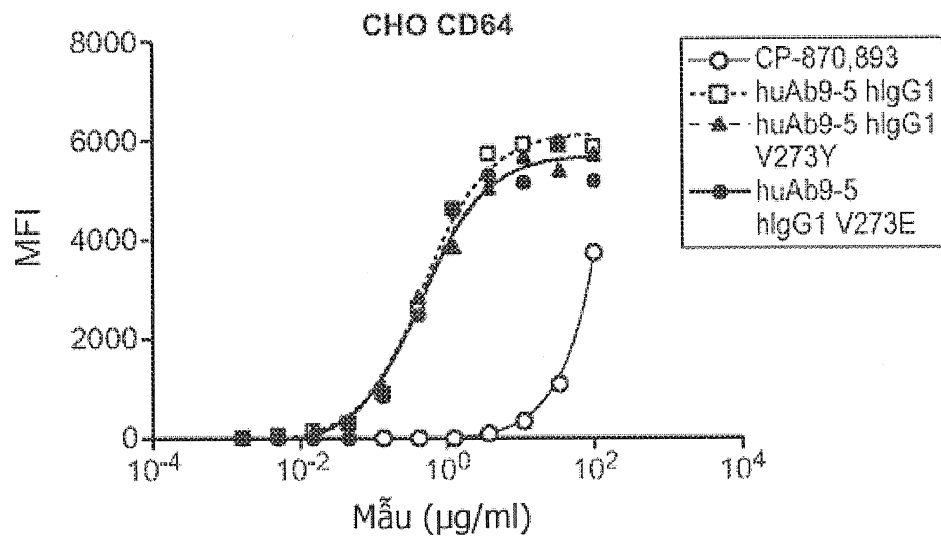
HÌNH 5A



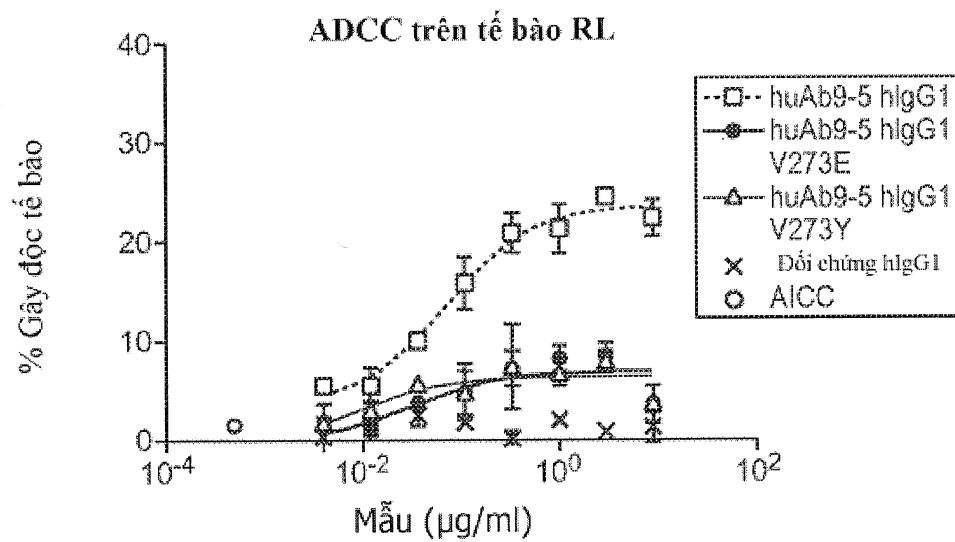
HÌNH 5B



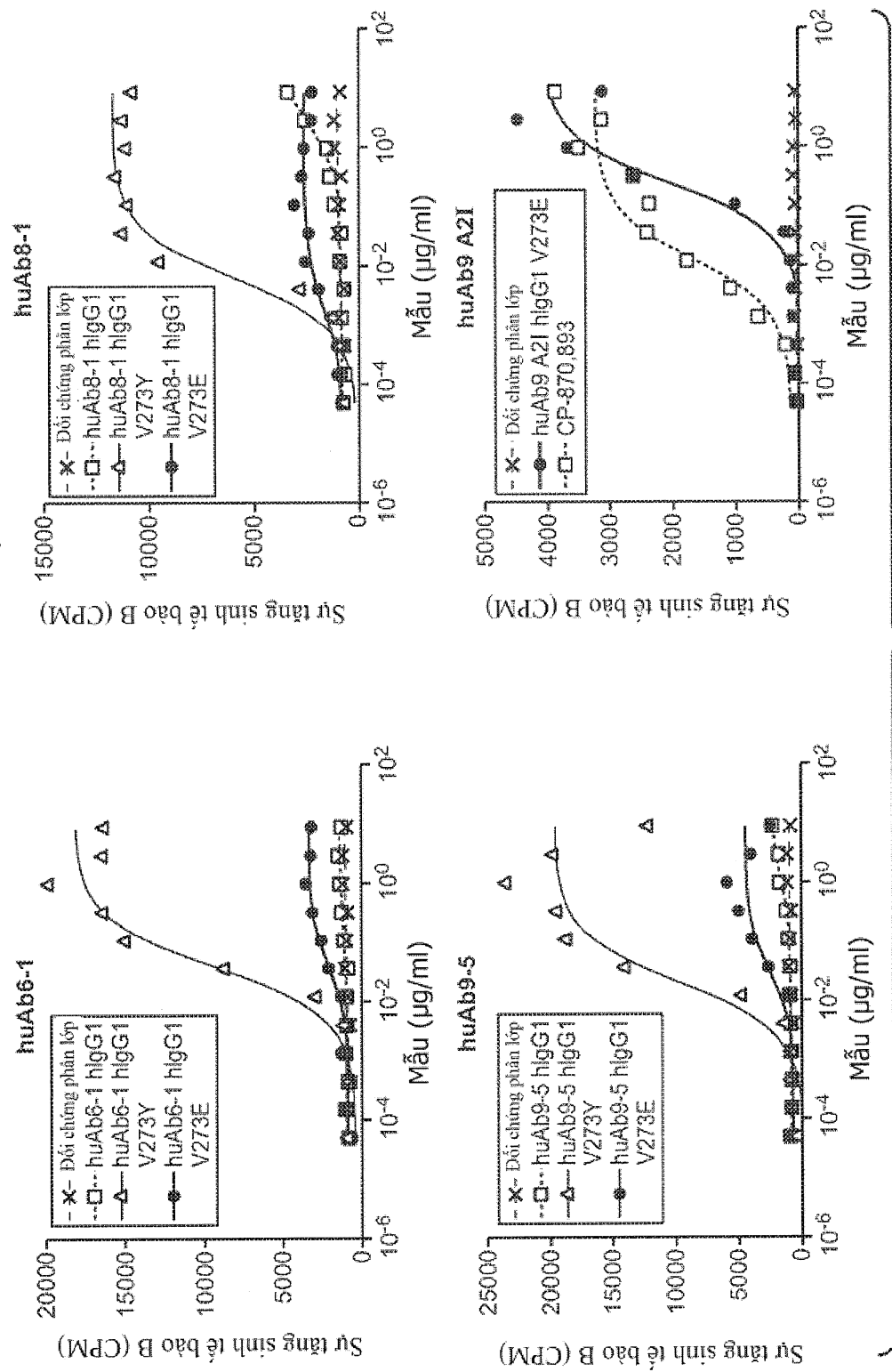
HÌNH 6A



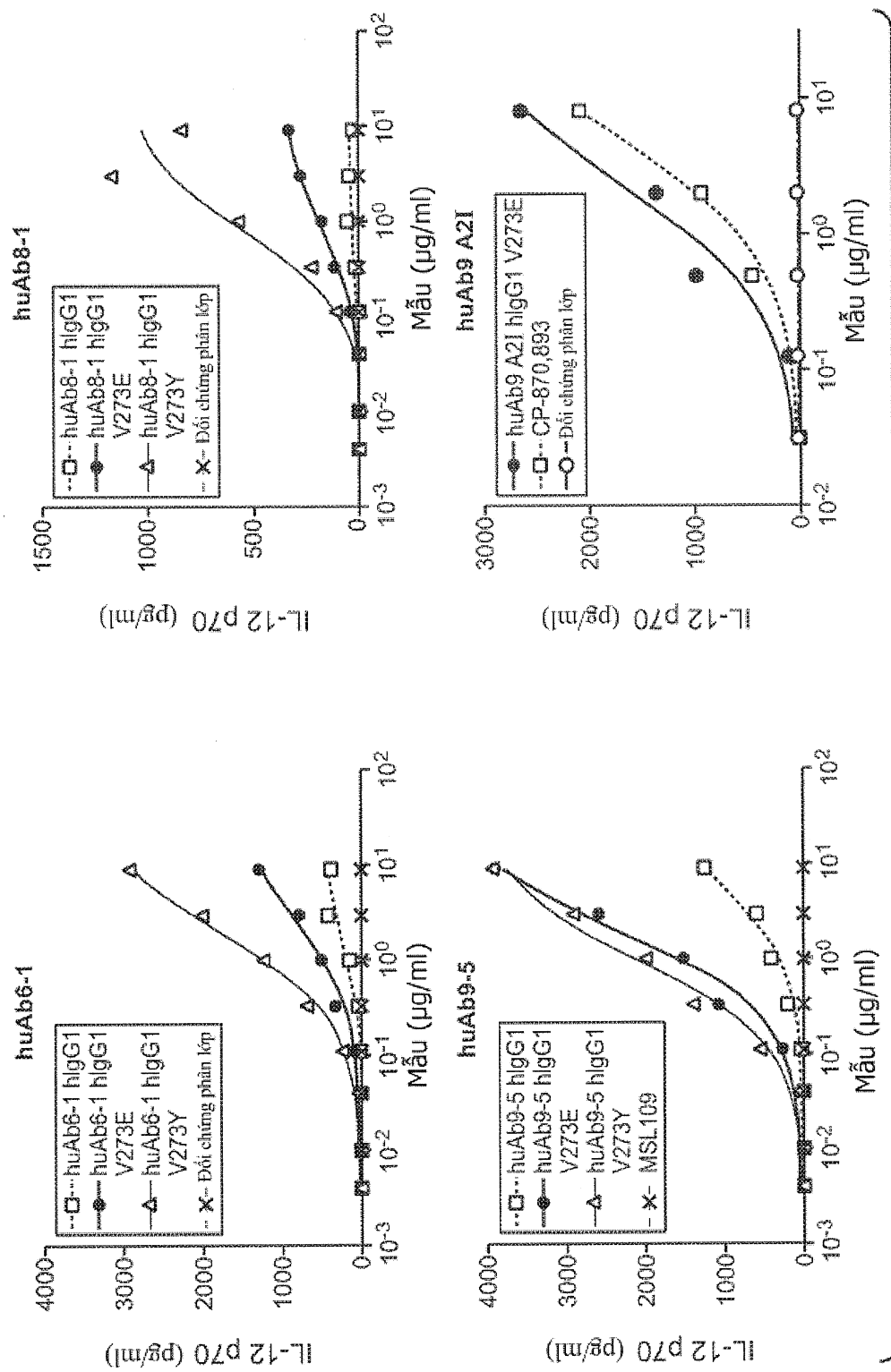
HÌNH 6B



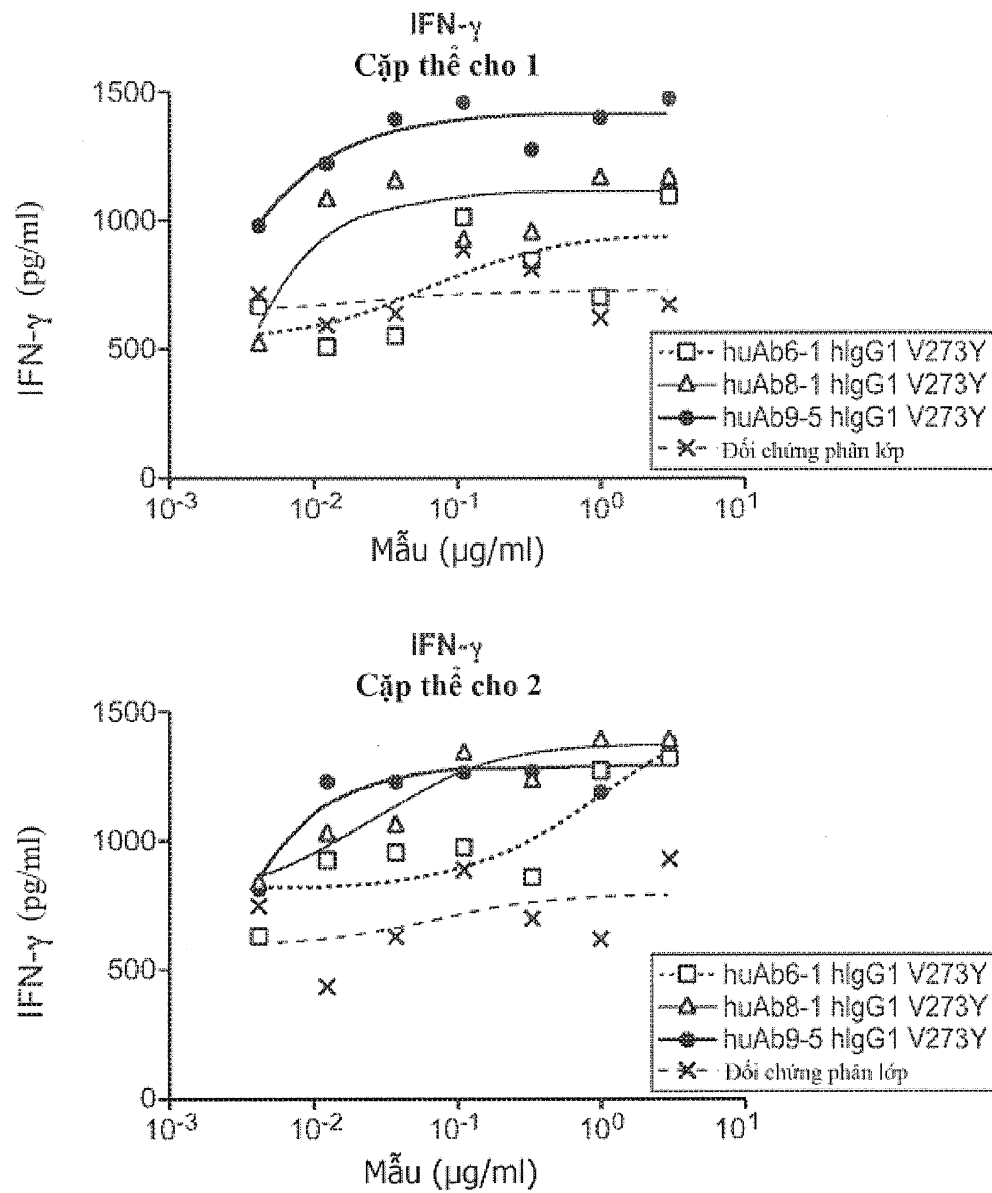
HÌNH 7



HÌNH 8

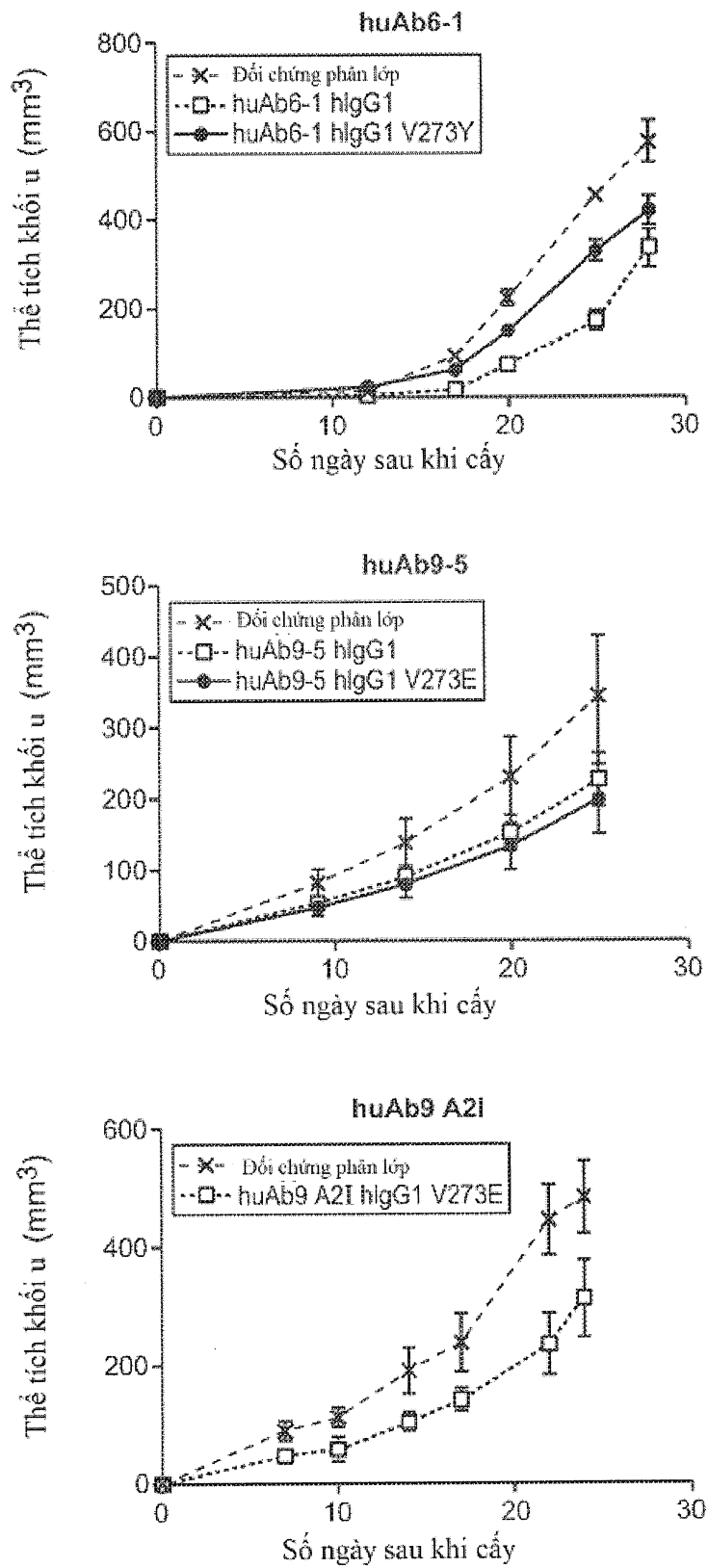


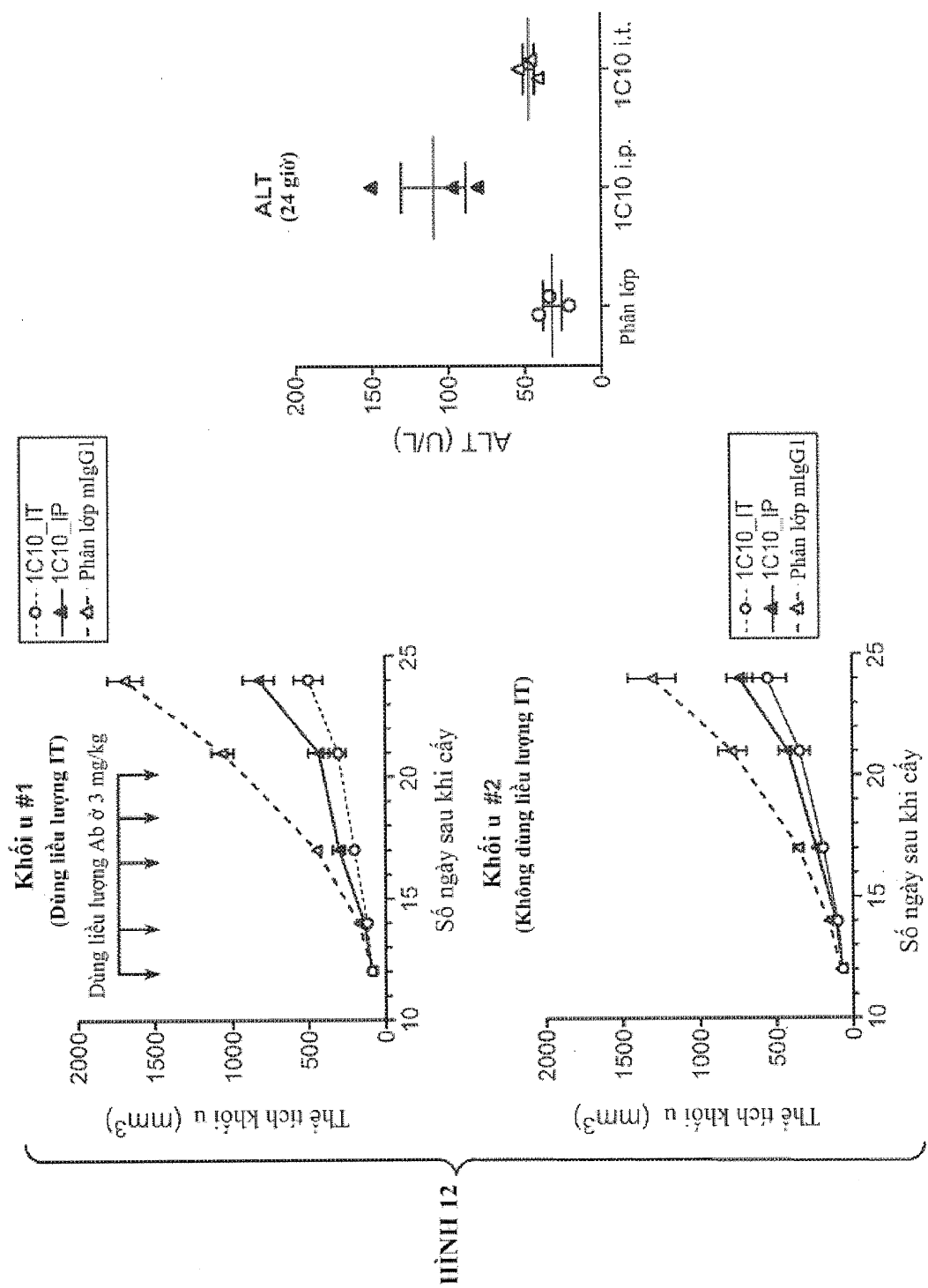
HÌNH 9

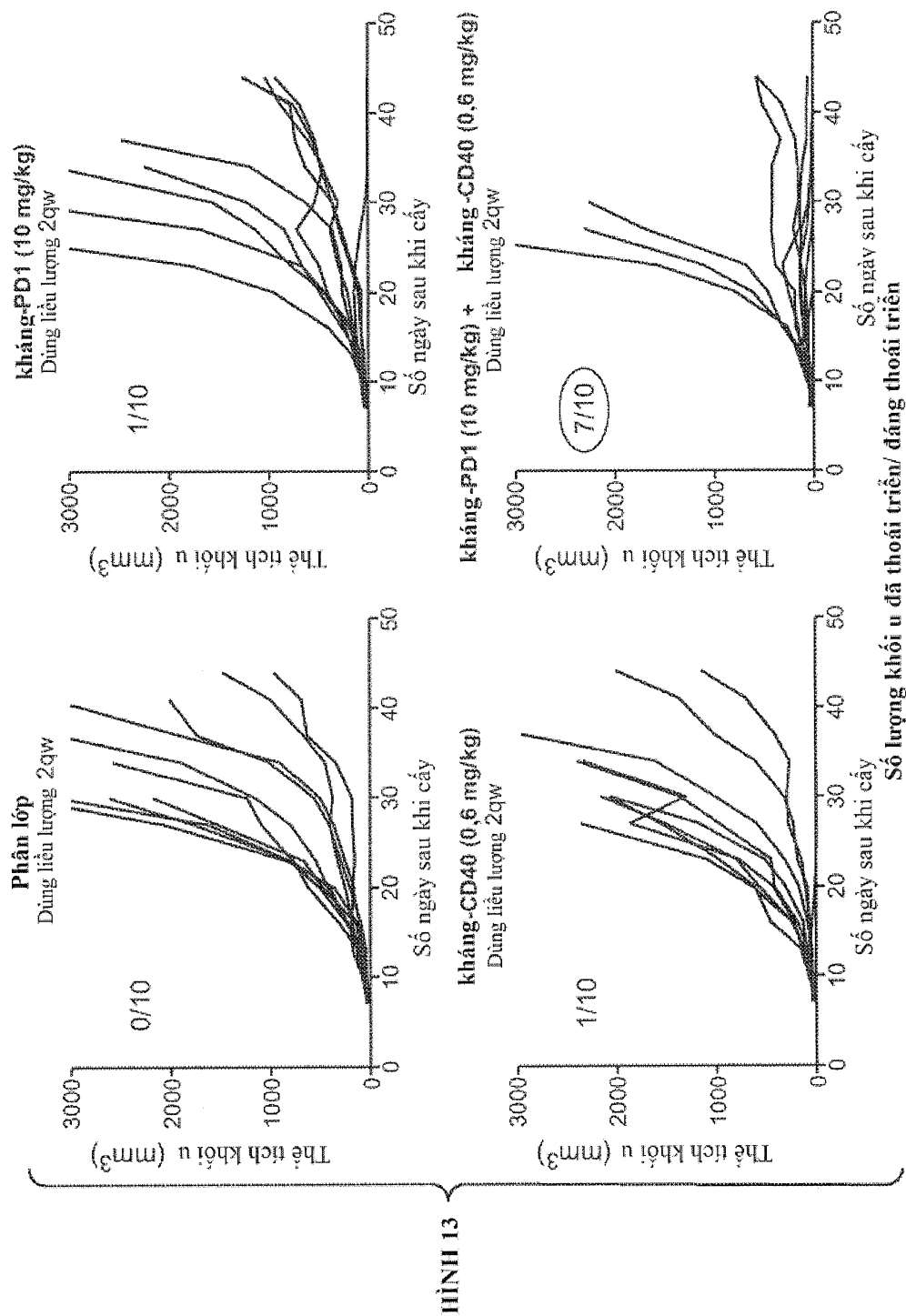


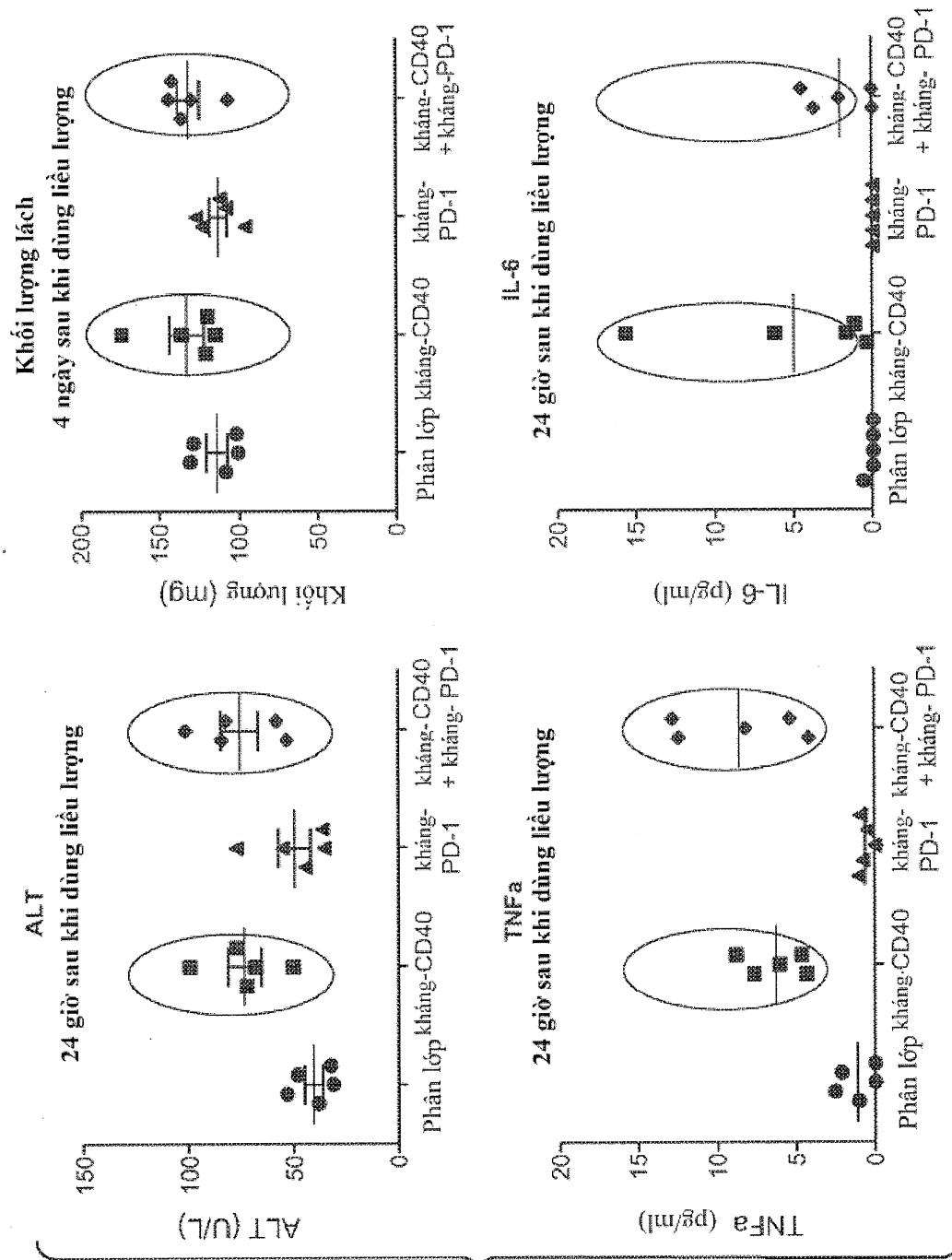
HÌNH 10

HÌNH 11









HÌNH 14