(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) **1-0037426**

(51)[8] **C12N 15/09**; C12P 21/08; A61P 21/02; A61P 21/04; A61P 25/00; A61P 25/14; A61P 25/16; A61P 25/18; A61P 25/24; A61P 25/28; A61P 31/04; A61P 31/12; A61P 35/00; A61P 9/10; C07K 14/475; C07K 16/18; C07K 16/28; C07K 16/46; C07K 19/00; C12N 15/113; C12N 5/10; C12N 9/10; C12N 9/16; C12N 9/24; C12N 9/64; A61K 39/395; A61K 45/00

(13) **B**

(21) 1-2018-00161
(22) 24/06/2016
(86) PCT/JP2016/068738 24/06/2016
(87) WO2016/208695 29/12/2016
(30) 2015-144379 24/06/2015 JP
(45) 27/11/2023 428
(43) 26/03/2018 360A
(73) JCR PHARMACEUTICALS CO., LTD. (JP)
3-19, Kasuga-cho, Ashiya-shi, Hyogo 659-0021 Japan
(72) SONODA, Hiroyuki (JP); TAKAHASHI, Kenichi (JP).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) KHÁNG THỂ KHÁNG THỤ THỂ TRANSFERRIN NGƯỜI THẤM QUA HÀNG RÀO MÁU NÃO, PROTEIN DUNG HỢP CHỨA KHÁNG THỂ NÀY VÀ PHỨC HỢP CỦA KHÁNG THỂ NÀY VÀ HỢP CHẤT CÓ HOẠT TÍNH DƯỢC LÝ

(57) Sáng chế bộc lộ phương tiện để chuyển hóa hợp chất có hoạt tính sinh lý hoặc dược lý và không có khả năng đi qua hàng rào máu não thành dạng cho phép chúng đi qua hàng rào máu não, và các hợp chất đã được chuyển hóa bằng phương tiện này. Cụ thể là, phương tiện mà sáng chế đề cập là kháng thể kháng thụ thể transferrin người và các hợp chất đã được chuyển hóa là các thể liên hợp phân tử giữa protein có hoạt tính dược lý hoặc hợp chất có phân tử lượng thấp có hoạt tính dược lý và kháng thể kháng thụ thể transferrin người. Sáng chế cũng đề cập đến protein dung hợp chứa kháng thể này, đoạn ADN mã hóa trình tự axit amin của kháng thể này, vectơ biểu hiện bao gồm đoạn ADN này, tế bào động vật có vú được biến nạp bằng vectơ biểu hiện này và phức hợp của kháng thể này và hợp chất có hoạt tính dược lý.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến kháng thể kháng thụ thể transferrin người được dùng để liên hợp với một hợp chất mà cần thiết để biểu hiện chức năng của nó ở hệ thần kinh trung ương khi được dùng ngoài đường tiêu hóa (protein hoặc hợp chất có phân tử lượng thấp và các hợp chất tương tự) để khiến cho hợp chất này có khả năng đi qua hàng rào máu não và được dùng ngoài đường tiêu hóa, và cũng đề cập đến phương pháp sản xuất nó, cũng như là phương pháp sử dụng nó.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Không giống như các mao mạch trong các mô khác như mô cơ, các mao mạch mà cung cấp máu đến hầu hết các mô não trừ một số vùng bao gồm cơ quan quanh não thất (tuyến tùng, tuyến yên, vùng nhận cảm hóa học, v.v.) khác biệt ở chỗ các tế bào nội mô hình thành nên nội mô của chúng được liên kết với nhau bằng các mối nối chặt chẽ giữa các tế bào. Nhờ đó, việc chuyển động thụ động của các chất từ các mao mạch đến não bị hạn chế, và mặc dù có một số trường hợp ngoại lệ, các chất không thể dịch chuyển từ máu vào não ngoại trừ những hợp chất có thể hòa tan trong lipit hoặc có phân tử lượng thấp (từ không lớn hơn 200 đến 500 Dalton) và có điện tích trung hòa xung quanh độ pH sinh lý. Hệ thống hạn chế sự trao đổi chất giữa máu và dịch mô của não nhờ nội mô của các mao mạch trong não như vậy được gọi là hàng rào máu não hoặc BBB. Hàng rào máu não không chỉ hạn chế sự trao đổi chất giữa máu và não mà còn hạn chế sự trao đổi chất giữa dịch mô của hệ thần kinh trung ương, bao gồm não và tủy sống, và máu.

Nhờ hàng rào máu não, hầu hết tế bào thuộc hệ thần kinh trung ương tránh được ảnh hưởng của sự dao động của nồng độ các chất như hormon và lymphokin trong máu, và do vậy duy trì được cân bằng nội môi hóa sinh của chúng.

Tuy nhiên, khi phát triển thành dược phẩm, chúng gặp phải vấn đề khi đi qua hàng rào máu não. Đối với bệnh rối loạn chuyển hóa thể tiêu bào loại I (Hội chứng Hurler), bệnh chuyển hóa do di truyền gây ra bởi sự thiếu hụt α-L-iduronidaza, chẳng hạn, mặc dù liệu pháp thay thế enzym được tiến hành bằng liệu pháp bổ sung α-L-iduronidaza tái tổ hợp qua đường tĩnh mạch, liệu pháp này là không hiệu quả đối với sự bất thường đáng chú ý ở hệ thần kinh trung ương (CNS) trong hội chứng Hurler do enzym này không thể đi qua hàng rào máu não.

Người ta đã nỗ lực phát triển của các phương pháp khác nhau khiến cho các chất đại phân tử như protein hoặc các chất tương tự mà cần được đưa vào để thực hiện chức năng trong hệ thần kinh trung ương đi qua được hàng rào máu não. Chẳng hạn, trong trường hợp yếu tố tăng trưởng thần kinh, mặc dù người ta đã nỗ lực thực hiện phương pháp khiến cho yếu tố này đi qua hàng rào máu não bằng cách cho phép các liposom bao nang yếu tố này dung hợp với màng tế bào của các tế bào nội mô trong các mao mạch thuộc não, chúng vẫn chưa được ứng dụng trong thực tế (Tài liệu phi sáng chế 1). Trong trường hợp của α-L-iduronidaza, người ta đã cố gắng tăng cường sự vận chuyển thụ động enzym này qua hàng rào máu não bằng cách làm gia tăng nồng độ của nó trong máu nhờ gia tăng liều đơn enzym này, và vì vậy bằng cách sử dụng mô hình động vật mắc hội chứng Hurler đã chứng minh được rằng sự bất thường thuộc hệ thần kinh trung ương (CNS) được cải thiện bởi phương pháp này (Tài liệu phi sáng chế 2).

Ngoài ra, khi tránh sự ngăn cản của hàng rào máu não, người ta đã cố gắng đưa trực tiếp một chất đại phân tử vào khoang tủy sống hoặc vào não. Ví dụ, đã thực hiện các báo cáo về phương pháp trong đó α-L-iduronidaza người được dùng nội tủy mạc cho bệnh nhân bị hội chứng Hurler (rối loạn chuyển hóa thể tiêu bào loại I) (Tài liệu sáng chế 1), phương pháp trong đó sphingomyelinaza axit ở người được đưa vào não thất của bệnh nhân bị mắc bệnh Niemann-Pick (tài liệu sáng chế 2), và phương pháp trong đó iduronat 2-sulfataza (I2S) được đưa vào não thất của mô hình động vật mắc hội chứng Hunter (tài liệu sáng chế 3). Mặc dù bằng một trong số những phương

pháp như vậy có thể chắc chắn khiến cho một dược phẩm tác động trong hệ thần kinh trung ương, chúng gặp phải vấn đề như tính xâm lấn cao.

Đã có báo cáo về các phương pháp khác nhau nhằm giúp cho một chất đại phân tử đi vào não qua hàng rào máu não, trong đó chất đại phân tử này được cải biến để có được ái lực đối với protein màng tồn tại trên các tế bào nội mô của các mao mạch thuộc não. Ví dụ về các protein màng tồn tại trên các tế bào nội mô của các mao mạch thuộc não bao gồm các thụ thể đối với các hợp chất như insulin, transferrin, yếu tố phát triển tương tự insulin (IGF-I, IGF-II), LDL, và leptin.

Ví dụ, đã có báo cáo về kỹ thuật trong đó yếu tố tăng trưởng thần kinh (nerve growth factor - NGF) được tổng hợp ở dạng protein dung hợp với insulin, và protein dung hợp này đi qua được hàng rào máu não nhờ sự liên kết của nó với thụ thể insulin (tài liệu sáng chế 4-6). Ngoài ra, đã có báo cáo về kỹ thuật trong đó yếu tố tăng trưởng thần kinh (NGF) được tổng hợp ở dạng protein dung hợp với kháng thể thụ thể kháng insulin, và protein dung hợp này đi qua được hàng rào máu não nhờ sự liên kết của nó với thụ thể insulin (tài liệu sáng chế 4 và 7). Ngoài ra, đã có báo cáo về kỹ thuật trong đó yếu tố tăng trưởng thần kinh (nerve growth factor - NGF) được tổng hợp ở dạng protein dung hợp với transferrin, và protein dung hợp này đi qua được hàng rào máu não nhờ sự liên kết của nó với thụ thể transferrin (transferrin receptor - TfR) (tài liệu sáng chế 8). Ngoài ra, đã có báo cáo về kỹ thuật trong đó yếu tố tăng trưởng thần kinh (NGF) được tổng hợp ở dạng protein dung hợp với kháng thể kháng thụ thể transferrin (kháng thể kháng TfR), và protein dung hợp này được phép đi qua hàng rào máu não nhờ sự liên kết của nó với TfR (tài liệu sáng chế 4 và 9).

Xem xét kỹ hơn các kỹ thuật sử dụng kháng thể kháng thụ thể transferrin, đã có báo cáo rằng trong lĩnh vực kỹ thuật bào chế dược phẩm đi qua hàng rào máu não bằng cách gắn kết nó với kháng thể kháng TfR, có thể sử dụng kháng thể chuỗi đơn (tài liệu phi sáng chế 3). Hơn nữa, đã có báo cáo rằng kháng thể kháng hTfR có hằng số phân ly tương đối cao với hTfR (kháng thể kháng hTfR với ái lực thấp) có thể được sử dụng một cách có lợi trong kỹ thuật bào chế dược phẩm đi qua hàng rào máu não

(tài liệu sáng chế 10 và 11, và tài liệu phi sáng chế 4). Hơn nữa, cũng đã có báo cáo rằng kháng thể kháng TfR mà ái lực của chúng với hTfR thay đổi tùy theo độ pH có thể được dùng làm chất mang để bào chế dược phẩm đi qua hàng rào máu não (tài liệu sáng chế 12, và tài liệu phi sáng chế 5).

Danh mục tài liệu viện dẫn

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: JP2007-504166 A1

Tài liệu sáng chế 2: JP2009-525963 A1

Tài liệu sáng chế 3: JP2012-62312 A1

Tài liệu sáng chế 4: US5154924 B1

Tài liệu sáng chế 5: JP2011-144178 A1

Tài liệu sáng chế 6: US2004/0101904 A1

Tài liệu sáng chế 7: JP2006-511516 A1

Tài liệu sáng chế 8: JPH06-228199 A1

Tài liệu sáng chế 9: US5977307 B1

Tài liệu sáng chế 10: WO 2012/075037

Tài liệu sáng chế 11: WO 2013/177062

Tài liệu sáng chế 12: WO 2012/143379

Tài liệu phi sáng chế

Tài liệu phi sáng chế 1: Xie Y. et al., J Control Release. 105. 106-19 (2005)

Tài liệu phi sáng chế 2: Ou L. et al., Mol Genet Metab. 111. 116-22 (2014)

Tài liệu phi sáng chế 3: Li JY. Protein Engineering. 12. 787-96 (1999)

Tài liệu phi sáng chế 4: Bien-Ly N. et al., J Exp Med. 211. 233-44 (2014)

Tài liệu phi sáng chế 5: Sada H. PLoS ONE. 9. E96340 (2014)

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề được giải quyết bởi sáng chế

Dựa trên tình trạng kỹ thuật ở trên, mục tiêu của sáng chế nhằm tạo ra kháng thể kháng TfR có thể sử dụng để liên hợp với hợp chất cần để thể hiện chức năng của

nó ở hệ thần kinh trung ương khi được dùng ngoài đường tiêu hóa (protein hoặc hợp chất có phân tử lượng thấp và các hợp chất tương tự) để khiến cho hợp chất này có khả năng đi qua hàng rào máu não, và cũng đề cập đến phương pháp sản xuất nó, cũng như là phương pháp sử dụng nó.

Phương pháp giải quyết vấn đề

Bằng các nghiên cứu với cường độ cao nhằm mục tiêu nêu trên, tác giả sáng chế hiện thời đã phát hiện ra rằng kháng thể kháng thụ thể transferrin người (kháng thể kháng hTfR) mà nhận biết vùng ngoại bào của hTfR thu được bằng phương pháp sản xuất kháng thể được mô tả cụ thể trong bản mô tả, đi qua hàng rào máu não một cách hiệu quả khi được dùng toàn thân, và do đó sáng chế được hoàn thành. Do đó, sáng chế đề cập đến những vấn đề sau:

1. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể này được chọn từ nhóm gồm (1) đến (14) dưới đây:

(1) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:6 hoặc SEQ ID NO:7 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:8 hoặc SEQ ID NO:9 hoặc trình tự axit amin Trp-Thr-Ser trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:10 trong CDR3;

(2) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:11 hoặc SEQ ID NO:12 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:13 hoặc SEQ ID NO:14 hoặc trình tự axit amin Tyr-Ala-Ser trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:15 trong CDR3;

(3) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:16 hoặc SEQ ID NO:17 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:18 hoặc SEQ ID NO:19 hoặc trình tự axit amin Lys-Val-Ser trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:20 trong CDR3;

(4) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:21 hoặc SEQ ID NO:22 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ

ID NO:23 hoặc SEQ ID NO:24 hoặc trình tự axit amin Asp-Thr-Ser trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:25 trong CDR3;

(5) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:26 hoặc SEQ ID NO:27 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:28 hoặc SEQ ID NO:29 hoặc trình tự axit amin Asp-Thr-Ser trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:30 trong CDR3;

(6) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:31 hoặc SEQ ID NO:32 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:33 hoặc SEQ ID NO:34 hoặc trình tự axit amin Ala-Ala-Ser trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:35 trong CDR3;

(7) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:36 hoặc SEQ ID NO:37 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:38 hoặc SEQ ID NO:39 hoặc trình tự axit amin Gln-Thr-Ser trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:40 trong CDR3;

(8) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:41 hoặc SEQ ID NO:42 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:43 hoặc SEQ ID NO:44 hoặc trình tự axit amin Gly-Thr-Ser trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:45 trong CDR3;

(9) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:46 hoặc SEQ ID NO:47 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:48 hoặc SEQ ID NO:49 hoặc trình tự axit amin Phe-Thr-Ser trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:50 trong CDR3;

(10) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:51 hoặc SEQ ID NO:52 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:53 hoặc SEQ ID NO:54 hoặc trình tự axit amin Ala-Ala-Ser trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:55 trong CDR3;

(11) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:56 hoặc SEQ ID NO:57 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ

ID NO:58 hoặc SEQ ID NO:59 hoặc trình tự axit amin Tyr-Ala-Ser trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:60 trong CDR3;

(12) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:61 hoặc SEQ ID NO:62 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:63 hoặc SEQ ID NO:64 hoặc trình tự axit amin Trp-Ser-Ser trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:65 trong CDR3;

(13) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:66 hoặc SEQ ID NO:67 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:68 hoặc SEQ ID NO:69 hoặc trình tự axit amin Tyr-Ala-Ser trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:70 trong CDR3; và

(14) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:71 hoặc SEQ ID NO:72 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:73 hoặc SEQ ID NO:74 hoặc trình tự axit amin Asp-Thr-Ser trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:75 trong CDR3.

2. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm 1 nêu trên, trong đó trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể này được chọn từ nhóm gồm (1) đến (14) dưới đây:

(1) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:6 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:8 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:10 trong CDR3;

(2) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:11 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:13 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:15 trong CDR3;

(3) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:16 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:18 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:20 trong CDR3;

(4) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:21 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:23 trong

CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:25 trong CDR3;

(5) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:26 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:28 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:30 trong CDR3;

(6) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:31 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:33 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:35 trong CDR3;

(7) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:36 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:38 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:40 trong CDR3;

(8) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:41 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:43 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:45 trong CDR3;

(9) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:46 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:48 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:50 trong CDR3;

(10) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:51 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:53 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:55 trong CDR3;

(11) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:56 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:58 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:60 trong CDR3;

(12) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:61 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:63 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:65 trong CDR3;

(13) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:66 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:68 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:70 trong CDR3; và

(14) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:71 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:73 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:75 trong CDR3.

3. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó trình tự axit amin của CDR1, CDR2 và CDR3 trong vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của nó có mức tương đồng không nhỏ hơn 80% với trình tự axit amin của CDR1, CDR2 và CDR3, tương ứng, trong chuỗi nhẹ theo điểm 1 hoặc 2 nêu trên.

4. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó trình tự axit amin của CDR1, CDR2 và CDR3 trong vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của nó có mức tương đồng không nhỏ hơn 90% với trình tự axit amin của CDR1, CDR2 và CDR3, tương ứng, trong chuỗi nhẹ theo điểm 1 hoặc 2 nêu trên.

5. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó 1 đến 5 axit amin được thay thế, khuyết đoạn hoặc bổ sung tương ứng với trình tự axit amin mà tạo thành ít nhất một trong số các CDR trong chuỗi nhẹ theo điểm 1 hoặc 2 nêu trên.

6. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó 1 đến 3 axit amin được thay thế, khuyết đoạn hoặc bổ sung tương ứng với trình tự axit amin mà tạo thành ít nhất một trong số các CDR trong chuỗi nhẹ theo điểm 1 hoặc 2 nêu trên.

7. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được chọn từ nhóm gồm (1) đến (14) dưới đây:

(1) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:76 hoặc SEQ ID NO:77 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:78 hoặc SEQ ID NO:79 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:80 hoặc SEQ ID NO:81 trong CDR3;

(2) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:82 hoặc SEQ ID NO:83 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:84 hoặc SEQ ID NO:85 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:86 hoặc SEQ ID NO:87 trong CDR3;

(3) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:88 hoặc SEQ ID NO:89 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:90 hoặc SEQ ID NO:91 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:92 hoặc SEQ ID NO:93 trong CDR3;

(4) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:94 hoặc SEQ ID NO:95 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:96 hoặc SEQ ID NO:97 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:98 hoặc SEQ ID NO:99 trong CDR3;

(5) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:100 hoặc SEQ ID NO:101 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:102 hoặc SEQ ID NO:103 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:104 hoặc SEQ ID NO:105 trong CDR3;

(6) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:106 hoặc SEQ ID NO:107 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:108 hoặc SEQ ID NO:278 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:109 hoặc SEQ ID NO:110 trong CDR3;

(7) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:111 hoặc SEQ ID NO:112 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:113 hoặc SEQ ID NO:114 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:115 hoặc SEQ ID NO:116 trong CDR3;

(8) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:117 hoặc SEQ ID NO:118 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:119 hoặc SEQ ID NO:279 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:120 hoặc SEQ ID NO:121 trong CDR3;

(9) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:122 hoặc SEQ ID NO:123 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:124 hoặc SEQ ID NO:125 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:126 hoặc SEQ ID NO:127 trong CDR3;

(10) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:128 hoặc SEQ ID NO:129 hoặc CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:130 hoặc SEQ ID NO:131 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:132 hoặc SEQ ID NO:133 trong CDR3;

(11) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:134 hoặc SEQ ID NO:135 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:136 hoặc SEQ ID NO:137 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:138 hoặc SEQ ID NO:139 trong CDR3;

(12) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:140 hoặc SEQ ID NO:141 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:142 hoặc SEQ ID NO:143 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:144 hoặc SEQ ID NO:145 trong CDR3;

(13) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:146 hoặc SEQ ID NO:147 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:148 hoặc SEQ ID NO:149 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:150 hoặc SEQ ID NO:151 trong CDR3; và

(14) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:152 hoặc SEQ ID NO:153 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:154 hoặc SEQ ID NO:155 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:156 hoặc SEQ ID NO:157 trong CDR3.

8. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm 7 nêu trên, trong đó trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được chọn từ nhóm gồm (1) đến (14) dưới đây:

(1) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:76 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:78 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:80 trong CDR3;

(2) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:82 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:84 trong

CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:86 trong CDR3;

(3) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:88 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:90 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:92 trong CDR3;

(4) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:94 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:96 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:98 trong CDR3;

(5) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:100 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:102 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:104 trong CDR3;

(6) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:106 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:108 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:109 trong CDR3;

(7) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:111 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:113 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:115 trong CDR3;

(8) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:117 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:119 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:120 trong CDR3;

(9) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:122 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:124 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:126 trong CDR3;

(10) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:128 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:130 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:132 trong CDR3;

(11) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:134 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:136 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:138 trong CDR3;

(12) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:140 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:142 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:144 trong CDR3;

(13) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:146 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:148 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:150 trong CDR3; và

(14) trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:152 trong CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:154 trong CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:156 trong CDR3.

9. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó trình tự axit amin của CDR1, CDR2 và CDR3 trong vùng biến đổi của chuỗi nặng của nó có mức tương đồng không nhỏ hơn 80% với các trình tự axit amin của CDR1, CDR2 và CDR3, tương ứng, trong chuỗi nặng theo điểm 7 hoặc 8 nêu trên.

10. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó trình tự axit amin của CDR1, CDR2 và CDR3 trong vùng biến đổi của chuỗi nặng của nó có mức tương đồng không nhỏ hơn 90% với các trình tự axit amin của CDR1, CDR2 và CDR3, tương ứng, trong chuỗi nặng theo điểm 7 hoặc 8 nêu trên.

11. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó 1 đến 5 axit amin được thay thế, khuyết đoạn hoặc bổ sung tương ứng với trình tự axit amin mà tạo thành ít nhất một trong số các CDR trong chuỗi nặng theo điểm 7 hoặc 8 nêu trên.

12. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó 1 đến 3 axit amin được thay thế, khuyết đoạn hoặc bổ sung tương ứng với trình tự axit amin mà tạo thành ít nhất một trong số các CDR trong chuỗi nặng theo điểm 7 hoặc 8 nêu trên.

13. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và vùng biến đổi của chuỗi nặng của nó được chọn từ nhóm gồm (1) đến (14) dưới đây:

(1) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:6 hoặc SEQ ID NO:7 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu

trong SEQ ID NO:8 hoặc SEQ ID NO:9 hoặc trình tự axit amin Trp-Thr-Ser làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:10 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:76 hoặc SEQ ID NO:77 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:78 hoặc SEQ ID NO:79 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:80 hoặc SEQ ID NO:81 làm CDR3;

(2) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:11 hoặc SEQ ID NO:12 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:13 hoặc SEQ ID NO:14 hoặc trình tự axit amin Tyr-Ala-Ser làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:15 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:82 hoặc SEQ ID NO:83 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:84 hoặc SEQ ID NO:85 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:86 hoặc SEQ ID NO:87 làm CDR3;

(3) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:16 hoặc SEQ ID NO:17 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:18 hoặc SEQ ID NO:19 hoặc trình tự axit amin Lys-Val-Ser làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:20 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:88 hoặc SEQ ID NO:89 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:90 hoặc SEQ ID NO:91 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:92 hoặc SEQ ID NO:93 làm CDR3;

(4) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:21 hoặc SEQ ID NO:22 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:23 hoặc SEQ ID NO:24 hoặc trình tự axit amin Asp-Thr-Ser làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:25 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:94 hoặc SEQ ID NO:95 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID

NO:96 hoặc SEQ ID NO:97 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:98 hoặc SEQ ID NO:99 làm CDR3;

(5) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:26 hoặc SEQ ID NO:27 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:28 hoặc SEQ ID NO:29 hoặc trình tự axit amin Asp-Thr-Ser làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:30 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:100 hoặc SEQ ID NO:101 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:102 hoặc SEQ ID NO:103 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:104 hoặc SEQ ID NO:105 làm CDR3;

(6) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:31 hoặc SEQ ID NO:32 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:33 hoặc SEQ ID NO:34 hoặc trình tự axit amin Ala-Ala-Ser làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:35 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:106 hoặc SEQ ID NO:107 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:108 hoặc SEQ ID NO:278, làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:109 hoặc SEQ ID NO:110 làm CDR3;

(7) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:36 hoặc SEQ ID NO:37 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:38 hoặc SEQ ID NO:39 hoặc trình tự axit amin Gln-Thr-Ser làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:40 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:111 hoặc SEQ ID NO:112 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:113 hoặc SEQ ID NO:114 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:115 hoặc SEQ ID NO:116 làm CDR3;

(8) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:41 hoặc SEQ ID NO:42 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu

trong SEQ ID NO:43 hoặc SEQ ID NO:44 hoặc trình tự axit amin Gly-Thr-Ser làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:45 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:117 hoặc SEQ ID NO:118 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:119 hoặc SEQ ID NO:279 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:120 hoặc SEQ ID NO:121 làm CDR3;

(9) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:46 hoặc SEQ ID NO:47 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:48 hoặc SEQ ID NO:49 hoặc trình tự axit amin Phe-Thr-Ser làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:50 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:122 hoặc SEQ ID NO:123 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:124 hoặc SEQ ID NO:125 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:126 hoặc SEQ ID NO:127 làm CDR3;

(10) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:51 hoặc SEQ ID NO:52 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:53 hoặc SEQ ID NO:54 hoặc trình tự axit amin Ala-Ala-Ser làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:55 làmùng thay đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:128 hoặc SEQ ID NO:129 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:130 hoặc SEQ ID NO:131 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:132 hoặc SEQ ID NO:133 làm CDR 3;

(11) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:56 hoặc SEQ ID NO:57 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:58 hoặc SEQ ID NO:59 hoặc trình tự axit amin Tyr-Ala-Ser làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:60 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:134 hoặc SEQ ID NO:135 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ

ID NO:136 hoặc SEQ ID NO:137 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:138 hoặc SEQ ID NO:139 làm CDR3;

(12) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:61 hoặc SEQ ID NO:62 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:63 hoặc SEQ ID NO:64 hoặc trình tự axit amin Trp-Ser-Ser làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:65 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:140 hoặc SEQ ID NO:141 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:142 hoặc SEQ ID NO:143 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:144 hoặc SEQ ID NO:145 làm CDR3;

(13) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:66 hoặc SEQ ID NO:67 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:68 hoặc SEQ ID NO:69 hoặc trình tự axit amin Tyr-Ala-Ser làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:70 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:146 hoặc SEQ ID NO:147 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:148 hoặc SEQ ID NO:149 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:150 hoặc SEQ ID NO:151 làm CDR3; và

(14) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:71 hoặc SEQ ID NO:72 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:73 hoặc SEQ ID NO:74 hoặc trình tự axit amin Asp-Thr-Ser làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:75 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:152 hoặc SEQ ID NO:153 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:154 hoặc SEQ ID NO:155 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:156 hoặc SEQ ID NO:157 làm CDR3.

14. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm 13 nêu trên, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và vùng biến đổi của chuỗi nặng của nó được

chọn từ nhóm gồm từ (1) đến (14) dưới đây:

(1) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:6 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:8 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:10 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:76 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:78 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:80 làm CDR3;

(2) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:11 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:13 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:15 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:82 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:84 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:86 làm CDR3;

(3) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:16 làm CDR1, trình tự axit amin set forth SEQ ID NO:18 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:20 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:88 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:90 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:92 làm CDR3;

(4) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:21 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:23 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:25 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:94 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:96 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:98 làm CDR3;

(5) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu

trong SEQ ID NO:26 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:28 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:30 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:100 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:102 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:104 làm CDR3;

(6) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:31 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:33 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:35 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:106 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:108 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:109 làm CDR3;

(7) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:36 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:38 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:40 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:111 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:113 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:115 làm CDR3;

(8) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:41 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:43 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:45 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:117 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:119 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:120 làm CDR 3;

(9) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu

trong SEQ ID NO:46 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:48 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:50 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:122 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:124 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:126 làm CDR3;

(10) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:51 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:53 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:55 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:128 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:130 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:132 làm CDR3;

(11) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:56 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:58 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:60 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:134 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:136 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:138 làm CDR3;

(12) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:61 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:63 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:65 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:140 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:142 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:144 làm CDR3;

(13) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu

trong SEQ ID NO:66 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:68 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:70 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:146 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:148 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:150 làm CDR3; và

(14) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:71 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:73 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:75 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:152 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:154 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:156 làm CDR3.

15. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó trình tự axit amin của mỗi trong số CDR1, CDR2 và CDR3 trong chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của nó có mức tương đồng không nhỏ hơn 80% với trình tự axit amin của CDR1, CDR2 và CDR3, của một trong số các tổ hợp gồm chuỗi nhẹ và chuỗi nặng theo điểm 13 hoặc 14 nêu trên.

16. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó trình tự axit amin của mỗi trong số CDR1, CDR2 và CDR3 trong chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của nó có mức tương đồng không nhỏ hơn 90% với trình tự axit amin của CDR1, CDR2 và CDR3, của một trong số các tổ hợp gồm chuỗi nhẹ và chuỗi nặng theo điểm 13 hoặc 14 nêu trên.

17. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó từ 1 đến 5 axit amin được thay thế, khuyết đoạn hoặc bổ sung tương ứng với trình tự axit amin mà tạo thành ít nhất một CDR trong mỗi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của một trong số các tổ hợp gồm chuỗi nhẹ và chuỗi nặng theo điểm 13 hoặc 14 nêu trên.

18. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó từ 1 đến 3 axit

amin được thay thế, khuyết đoạn hoặc bổ sung tương ứng với trình tự axit amin mà tạo thành ít nhất một CDR trong mỗi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của một trong số các tổ hợp gồm chuỗi nhẹ và chuỗi nặng theo điểm 13 hoặc 14 nêu trên.

19. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể này bao gồm một trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:158, SEQ ID NO:159, SEQ ID NO:160, SEQ ID NO:161, SEQ ID NO:162, và SEQ ID NO:163; và trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể bao gồm một trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:166, SEQ ID NO:167, SEQ ID NO:168, SEQ ID NO:169, SEQ ID NO:170, và SEQ ID NO:171.

20. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể này bao gồm một trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:174, SEQ ID NO:175, SEQ ID NO:176, SEQ ID NO:177, SEQ ID NO:178, và SEQ ID NO:179; và trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể bao gồm một trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:182, SEQ ID NO:183, SEQ ID NO:184, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:186, và SEQ ID NO:187.

21. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể này bao gồm một trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:190, SEQ ID NO:191, SEQ ID NO:192, SEQ ID NO:193, SEQ ID NO:194, và SEQ ID NO:195, và trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể bao gồm một trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:204, SEQ ID NO:205, SEQ ID NO:206, SEQ ID NO:207, SEQ ID NO:208, và SEQ ID NO:209.

22. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người được chọn từ nhóm gồm từ (1) đến (6) dưới đây:

(1) kháng thể, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:163; và trong đó vùng biến đổi của chuỗi

nặng của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:171,

(2) kháng thể, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:179; và trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:187,

(3) kháng thể, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:191; và trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205,

(4) kháng thể, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:193; và trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205,

(5) kháng thể, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:194; và trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205, và

(6) kháng thể, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:195; và trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205.

23. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người được chọn từ nhóm gồm từ (1) đến (10) dưới đây:

(1) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:164; và trong đó chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:172,

(2) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:180; và trong đó chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:188,

(3) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:196; và trong đó chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210,

(4) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin như được

nêu trong SEQ ID NO:198; và trong đó chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210,

(5) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:200; và trong đó chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210,

(6) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:202; và trong đó chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210,

(7) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:196; và trong đó chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:212,

(8) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:198; và trong đó chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:212,

(9) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:200; và trong đó chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:212, và

(10) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:202; và trong đó chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:212.

24. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người có mức tương đồng không nhỏ hơn 80% với kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 19 đến 23 nêu trên về trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng.

25. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người có mức tương đồng không nhỏ hơn 90% với kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 19 đến 23 nêu trên về trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng.

26. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó từ 1 đến 10 axit amin được thay thế, khuyết đoạn hoặc bổ sung tương ứng với trình tự axit amin mà tạo thành vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 19 đến 23 nêu trên.

27. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó từ 1 đến 3 axit amin được thay thế, khuyết đoạn hoặc bổ sung tương ứng với trình tự axit amin mà tạo thành vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 19 đến 23 nêu trên.

28. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó từ 1 đến 10 axit amin được thay thế, khuyết đoạn hoặc bổ sung tương ứng với trình tự axit amin mà tạo thành vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 19 đến 23 nêu trên.

29. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó từ 1 đến 3 axit amin được thay thế, khuyết đoạn hoặc bổ sung tương ứng với trình tự axit amin mà tạo thành vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 19 đến 23 nêu trên.

30. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó từ 1 đến 10 axit amin được thay thế, khuyết đoạn hoặc bổ sung tương ứng với trình tự axit amin tương ứng mà tạo thành vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 19 đến 23 nêu trên.

31. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người, trong đó từ 1 đến 3 axit amin được thay thế, khuyết đoạn hoặc bổ sung tương ứng với trình tự axit amin tương ứng mà tạo thành vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 19 đến 23 nêu trên.

32. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 31 nêu trên, trong đó kháng thể này có ái lực đối với cả vùng ngoại

bào của thụ thể transferrin người và vùng ngoại bào của thụ thể transferrin khỉ.

33. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm 32 nêu trên, trong đó hằng số phân ly của phức hợp của nó với vùng ngoại bào của thụ thể transferrin người không lớn hơn 1×10^{-8} M, và hằng số phân ly của phức hợp của nó với vùng ngoại bào của thụ thể transferrin khỉ không lớn hơn 5×10^{-8} M.

34. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 33 nêu trên, trong đó kháng thể này là kháng thể Fab, kháng thể $F(ab')_2$, hoặc kháng thể F(ab').

35. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 33 nêu trên, trong đó kháng thể này là kháng thể chuỗi đơn được chọn từ nhóm gồm scFab, scF(ab'), $scF(ab')_2$ và scFv.

36. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm 35 nêu trên, trong đó chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của nó được liên kết qua một trình tự liên kết.

37. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm 35 nêu trên, trong đó chuỗi nặng được liên kết, qua một trình tự liên kết, với chuỗi nhẹ ở phía đầu tận cùng C của nó.

38. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm 35 nêu trên, trong đó chuỗi nhẹ được liên kết, qua một trình tự liên kết, với chuỗi nặng ở phía đầu tận cùng C của nó.

39. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 36 đến 38 nêu trên, trong đó trình tự liên kết bao gồm từ 8 đến 50 gốc axit amin.

40. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm 39 nêu trên, trong đó trình tự liên kết được chọn từ nhóm gồm trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Gly, trình tự axit amins như được nêu trong SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, và SEQ ID NO:5, và trình tự axit amin bao gồm ba trình tự axit amin được liên kết liên tiếp, mỗi trình tự như được nêu trong SEQ ID NO:3.

41. Protein dung hợp chứa kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 40 nêu trên và trình tự axit amin của một protein (A) khác được liên kết với chuỗi nhẹ của kháng thể ở phía đầu tận cùng C hoặc đầu tận cùng N của nó.

42. Protein dung hợp chứa kháng thể kháng thụ thể transferrin người và một protein A khác,

trong đó kháng thể kháng thụ thể transferrin người là kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 40 nêu trên, và

trong đó protein (A) khác được liên kết với chuỗi nhẹ của kháng thể kháng thụ thể transferrin người ở phía đầu tận cùng C hoặc đầu tận cùng N của nó.

43. Protein dung hợp theo điểm 41 hoặc 42 nêu trên, trong đó protein (A) khác được liên kết, qua một trình tự liên kết, với chuỗi nhẹ ở phía đầu tận cùng C hoặc đầu tận cùng N của nó.

44. Protein dung hợp theo điểm 43 nêu trên, trong đó trình tự liên kết bao gồm từ 1 đến 50 gốc axit amin.

45. Protein dung hợp theo điểm 44 nêu trên, trong đó trình tự liên kết bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm glyxin đơn lẻ, serin đơn lẻ, trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:3, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:4, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:5, và trình tự axit amin bao gồm từ 1 đến 10 trình tự axit amin mà được liên kết liên tiếp.

46. Protein dung hợp chứa kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 40 nêu trên và trình tự axit amin của một protein (A) khác được liên kết với chuỗi nặng của kháng thể ở phía đầu tận cùng C hoặc đầu tận cùng N của nó.

47. Protein dung hợp của kháng thể kháng thụ thể transferrin người và một protein A khác,

trong đó kháng thể kháng thụ thể transferrin người là kháng thể kháng thụ thể

transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 40 nêu trên, và

trong đó protein (A) khác được liên kết với chuỗi nặng của kháng thể kháng thụ thể transferrin người ở phía đầu tận cùng C hoặc đầu tận cùng N của nó.

48. Protein dung hợp theo điểm 46 hoặc 47 nêu trên, trong đó protein (A) khác được liên kết, qua một trình tự liên kết, với chuỗi nặng ở phía đầu tận cùng C hoặc đầu tận cùng N của nó.

49. Protein dung hợp theo điểm 48 nêu trên, trong đó trình tự liên kết bao gồm từ 1 đến 50 gốc axit amin.

50. Protein dung hợp theo điểm 48 nêu trên, trong đó trình tự liên kết bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm glyxin đơn lẻ, serin đơn lẻ, trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:3, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:4, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:5, và trình tự axit amin bao gồm từ 1 đến 10 trình tự axit amin mà được liên kết liên tiếp.

51. Protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 41 đến 50 nêu trên, trong đó protein (A) khác là protein có nguồn gốc từ người.

52. Protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 41 đến 51 nêu trên, trong đó protein (A) khác được chọn từ nhóm gồm yếu tố tăng trưởng thần kinh (NGF), enzym tiêu thể, yếu tố dinh dưỡng thần kinh mi (ciliary neurotrophic factor - CNTF), yếu tố dinh dưỡng thần kinh bắt nguồn từ dòng tế bào thần kinh đệm (glial cell line-derived neurotrophic factor - GDNF), neurotrophin-3, neurotrophin-4/5, neurotrophin-6, neuregulin-1, erythropoietin, darbepoetin, activin, yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi cơ bản (basic fibroblast growth factor - bFGF), yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi 2 (FGF2), yếu tố tăng trưởng biểu bì (epidermal growth factor - EGF), yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch (vascular endothelial growth factor - VEGF), interferon α, interferon β, interferon γ, interleukin 6, yếu tố kích thích tạo cụm bạch cầu hạt - đại thực bào (granulocyte-macrophage colony stimulating factor - GM-CSF), yếu tố kích thích tạo cụm bạch cầu hạt (granulocyte colony stimulating factor -

G-CSF), yếu tố kích thích tạo cụm đại bạch cầu (macrophage colony stimulating factor - M-CSF), xytokin, yếu tố hoại tử khối u α thụ thể (thụ thể TNF-α), phối tử PD-1, enzym có hoạt tính phân giải β-amyloid, kháng thể kháng β-amyloid, kháng thể kháng BACE, kháng thể kháng EGFR , kháng thể kháng PD-1, kháng thể kháng PD-L1, kháng thể kháng HER2, kháng thể kháng TNF-α, và các thuốc kháng thể khác.

53. Protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 41 đến 51 nêu trên, trong đó protein (A) khác là enzym tiêu thể, và trong đó enzym tiêu thể được chọn từ nhóm gồm α-L-iduronidaza, iduronat 2-sulfataza, glucocerebrosidaza, β-galactosidaza, protein hoạt hóa GM2, β-hexosaminidaza A, β-hexosaminidaza B, N-axetylglucosamin-1-phosphotransferaza, α-mannosidaza, β-mannosidaza, galactosylceramidaza, saposin C, arylsulfataza A, α-L-fucosidaza, aspartylglucosaminidaza, α-N-axetylgalactosaminidaza, sphingomyelinaza có tính axit, α-galactosidaza A, β-glucuronidaza, heparan N-sulfataza, α-N-axetylglucosaminidaza, axetyl CoA:α-glucosaminit N-axetyltransferaza, N-axetylglucosamin-6-sulfat sulfataza, xeramidaza axit, amylo-1,6-glucosidaza, sialidaza, palmitoyl protein thioesteraza 1, tripeptidyl-peptidaza 1, hyaluronidaza 1, CLN1 và CLN2.

54. Protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 41 đến 51 nêu trên, trong đó protein (A) khác là iduronat 2-sulfataza.

55. Protein dung hợp theo điểm 50 nêu trên, trong đó protein (A) khác là iduronat 2-sulfataza người, và trong đó protein dung hợp này được chọn từ (1) đến (3) dưới đây:

(1) protein dung hợp, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:164, và trong đó chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với iduronat 2-sulfataza người, và toàn bộ chuỗi nặng đã liên kết này có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:247.

(2) protein dung hợp, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:180, và trong đó chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với iduronat 2-sulfataza người, và toàn bộ chuỗi nặng đã liên kết này có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:249, và

(3) protein dung hợp, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:196. và trong đó chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với iduronat 2-sulfataza người, và toàn bộ chuỗi nặng đã liên kết này có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:251.

56. Protein dung hợp theo điểm 50 nêu trên, trong đó protein (A) khác là iduronat 2-sulfataza người, và trong đó protein dung hợp này được chọn từ (1) đến (3) dưới đây:

(1) protein dung hợp bao gồm: chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:164; và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:172 mà được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với iduronat 2-sulfataza người như được nêu trong SEQ ID NO:246;

(2) protein dung hợp bao gồm: chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:180; và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:188 mà được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với iduronat 2-sulfataza người như được nêu trong SEQ ID NO:246;

(3) protein dung hợp bao gồm: chuỗi nhẹ kháng thể được làm giống như của

người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:196; và chuỗi nặng kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210 mà được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với iduronat 2-sulfataza người như được nêu trong SEQ ID NO:246.

57. Protein dung hợp theo điểm 50 nêu trên, trong đó protein (A) khác là iduronat 2-sulfataza người, và trong đó protein dung hợp này được chọn từ (1) đến (3) dưới đây:

(1) protein dung hợp bao gồm: iduronat 2-sulfataza người được liên kết qua một trình tự liên kết Gly-Ser với chuỗi nặng ở phía đầu tận cùng C của nó; và chuỗi nhẹ, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng là như được nêu trong SEQ ID NO:247, và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ là như được nêu trong SEQ ID NO:164,

(2) protein dung hợp bao gồm: iduronat 2-sulfataza người được liên kết qua một trình tự liên kết Gly-Ser với chuỗi nặng ở phía đầu tận cùng C của nó; và chuỗi nhẹ, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng là như được nêu trong SEQ ID NO:249, và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ là như được nêu trong SEQ ID NO:180, và

(3) protein dung hợp bao gồm: iduronat 2-sulfataza người được liên kết qua một trình tự liên kết Gly-Ser với chuỗi nặng ở phía đầu tận cùng C của nó; và chuỗi nhẹ, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng là như được nêu trong SEQ ID NO:251, và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ là như được nêu trong SEQ ID NO:196.

58. Đoạn ADN mã hóa trình tự axit amin của kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 40 nêu trên.

59. Đoạn ADN mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 41 đến 57 nêu trên.

60. Vectơ biểu hiện bao gồm đoạn ADN theo điểm 58 hoặc 59 nêu trên được kết hợp vào trong đó.

61. Tế bào động vật có vú được biến nạp với vectơ biểu hiện theo điểm

60 nêu trên.

62. Phức hợp kháng thể kháng thụ thể transferrin người-hợp chất có hoạt tính dược lý, trong đó chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng của kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 40 nêu trên được liên kết với hợp chất có phân tử lượng thấp có hoạt tính dược lý cần được phép đi qua hàng rào máu não và thể hiện chức năng của nó trong não.

63. Kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm 62 nêu trên, trong đó hợp chất có hoạt tính dược lý được chọn từ nhóm gồm thuốc chống ung thư, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh Alzheimer, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh Parkinson, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh Huntington, tác nhân trị liệu dùng cho chứng tâm thần phân liệt, thuốc chống trầm cảm, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh đa xơ cứng, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh xơ cứng teo cơ một bên, tác nhân trị liệu dùng cho khối u thuộc hệ thần kinh trung ương bao gồm khối u não, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh dự trữ lysosom đi kèm với bệnh não, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh tích tụ glycogen, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh loạn dưỡng cơ, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh thiếu mãu não cục bộ, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh prion, tác nhân trị liệu dùng cho rối loạn hệ thần kinh trung ương do chấn thương, tác nhân trị liệu dùng cho các bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương do virus và vi khuẩn gây ra, dược phẩm được dùng để phục hồi sau phẫu thuật não, dược phẩm được sử dụng để phục hồi sau phẫu thuật cột sống, siARN, ADN đối nghĩa, và peptit.

64. Sử dụng kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 40 nêu trên để cho phép protein (A) khác hoặc hợp chất có phân tử lượng thấp có hoạt tính dược lý đi qua hàng rào máu não và thể hiện chức năng của nó trong não.

65. Sử dụng kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 40 nêu trên để sản xuất thuốc để dùng ngoài đường tiêu hóa để điều trị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương, bằng cách cho phân tử protein có hoạt tính dược lý hoặc hợp chất có phân tử lượng thấp có hoạt tính dược lý

đối với tình trạng bệnh này liên kết với kháng thể này.

66. Phương pháp điều trị rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương bao gồm bước cho bệnh nhân mắc rối loạn này dùng ngoài đường tiêu hóa lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu của protein có hoạt tính dược lý, hoặc hợp chất có phân tử lượng thấp có hoạt tính dược lý, đối với rối loạn này, ở dạng thể liên hợp với phân tử kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 40 nêu trên.

67. Sử dụng kháng thể kháng thụ thể transferrin người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 40 nêu trên để tạo ra iduronat 2-sulfataza người đi qua hàng rào máu não và thể hiện chức năng của nó trong não.

68. Sử dụng protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 54 đến 57 để sản xuất dược phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa để điều trị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm hội chứng Hunter.

69. Phương pháp điều trị bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm hội chứng Hunter bao gồm bước cho bệnh nhân mắc bệnh này sử dụng ngoài đường tiêu hóa lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu của protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 54 đến 57 nêu trên.

Hiệu quả của sáng chế

Theo sáng chế này, các hợp chất khác nhau, như protein và hợp chất có phân tử lượng thấp mà mặc dù có hoạt tính sinh lý hoặc hoạt tính dược lý nhưng không thích hợp để dùng qua đường miệng do chúng không có khả năng hoặc có rất ít khả năng đi qua được hàng rào máu não, có thể được tạo ra ở dạng mà cho phép chúng đi qua hàng rào máu não, vì vậy khiến cho chúng trở thành những dược phẩm mới để dùng ngoài đường tiêu hóa để điều trị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

[Fig. 1] Ảnh chụp thay thế của các hình vẽ thể hiện kết quả của việc nhuộm hóa miễn dịch mô của kháng thể kháng hTfR trong vỏ não của khỉ cynomolgus sau khi dùng liều đơn của kháng thể kháng hTfR qua đường tĩnh mạch. (a) kháng thể kháng

hTfR không được dùng, (b) kháng thể kháng hTfR số 1 được dùng, (c) kháng thể kháng hTfR số 2 được dùng, (d) kháng thể kháng hTfR số 3 được dùng. Đường cuối cùng phía bên tay phải ở mỗi ảnh chụp là thước đo 50-μm.

[Fig. 2] Hình thể hiện kết quả của việc nhuộm hóa miễn dịch mô của kháng thể kháng hTfR trong vùng đồi hải mã của khỉ cynomolgus sau khi dùng liều đơn của kháng thể kháng hTfR qua đường tĩnh mạch. (a) kháng thể kháng hTfR không được dùng, (b) kháng thể kháng hTfR số 1 được dùng, (c) kháng thể kháng hTfR số 2 được dùng, (d) kháng thể kháng hTfR số 3 được dùng. Đường cuối cùng phía bên tay phải ở mỗi ảnh chụp là thước đo 50-μm.

[Fig. 3] Ảnh chụp thay thế của các hình vẽ thể hiện kết quả của việc nhuộm hóa miễn dịch mô của kháng thể kháng hTfR trong vùng tiểu não của khỉ cynomolgus sau khi dùng liều đơn của kháng thể kháng hTfR qua đường tĩnh mạch. (a) kháng thể kháng hTfR không được dùng, (b) kháng thể kháng hTfR số 1 được dùng, (c) kháng thể kháng hTfR số 2 được dùng, (d) kháng thể kháng hTfR số 3 được dùng. Đường ở cuối cùng phía bên tay phải ở mỗi ảnh chụp là thước đo 50-μm.

[Fig. 4] Hình thể hiện lượng kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR tích tụ trong các cơ quan khác nhau ngoài não của khỉ cynomolgus sau khi dùng liều đơn qua đường tĩnh mạch. Trục thẳng đứng chỉ ra lượng kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR (μg/g trọng lượng ướt) trên trọng lượng ướt của mỗi cơ quan. Đường màu trắng thể hiện, từ trái sang, lượng được tích tụ trong mỗi cơ quan của khỉ sau khi dùng kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3, kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2, kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 (IgG4), và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 (IgG4), tương ứng, và đường màu đen thể hiện lượng được tích tụ trong các cơ quan tương ứng của khỉ sau khi dùng trastuzumab (Herceptin™). "ND" có nghĩa là "không phát hiện được".

[Fig. 5] Ảnh chụp thay thế của các hình vẽ thể hiện kết quả của việc nhuộm hóa miễn dịch mô của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR trong vỏ

não của khỉ cynomolgus sau khi dùng liều đơn qua đường tĩnh mạch. (a) Herceptin được dùng, (b) kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 được dùng, (c) kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 được dùng, (d) kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 (IgG4) được dùng, (e) kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 (IgG4) được dùng. Đường ở cuối cùng phía bên tay phải ở mỗi ảnh chụp là thước đo 20-μm.

[Fig. 6] Ảnh chụp thay thế của các hình vẽ thể hiện kết quả của việc nhuộm hóa miễn dịch mô của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR trong vùng đồi hải mã của khỉ cynomolgus sau khi dùng liều đơn qua đường tĩnh mạch. (a) Herceptin được dùng, (b) kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 được dùng, (c) kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 được dùng, (d) kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 (IgG4) được dùng, (e) kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 (IgG4) được dùng. Đường ở cuối cùng phía bên tay phải ở mỗi ảnh chụp là thước đo 20-μm.

[Fig. 7] Hình thể hiện kết quả của việc nhuộm hóa miễn dịch mô của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR trong vùng tiểu não của khỉ cynomolgus sau khi dùng liều đơn qua đường tĩnh mạch. (a) Herceptin được dùng, (b) kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 được dùng, (c) kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 được dùng, (d) kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 (IgG4) được dùng, (e) kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 (IgG4) được dùng. Đường ở cuối cùng phía bên tay phải ở mỗi ảnh chụp là thước đo 20-μm.

[Fig. 8] Hình thể hiện kết quả của việc nhuộm hóa miễn dịch mô của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR trong hành tủy của khỉ cynomolgus sau khi dùng liều đơn qua đường tĩnh mạch. (a) Herceptin được dùng, (b) kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 được dùng, (c) kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 được dùng, (d) kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 (IgG4) được dùng, (e) kháng thể được làm giống như của

người kháng hTfR số 3-2 (IgG4) được dùng. Đường ở cuối cùng phía bên tay phải ở mỗi ảnh chụp là thước đo 20-μm.

[Fig. 9] Hình thể hiện lượng I2S-kháng thể kháng-hTfR và rhI2S được tích tụ trong mô não của khỉ cynomolgus sau khi dùng liều đơn qua đường tĩnh mạch. Trục nằm ngang chỉ ra lượng I2S-kháng thể kháng-hTfR và rhI2S trên trọng lượng ướt của mô não (μg/g trọng lượng ướt). Đường gạch chấm thể hiện lượng rhI2S được tích tụ trong mô não của khỉ cynomolgus. Đường gạch bóng thể hiện lượng I2S-kháng thể kháng-hTfR được tích tụ trong mô não của khỉ cynomolgus. Đoạn đường thẳng đứng chỉ ra độ lệch chuẩn.

[Fig. 10] Sơ đồ thể hiện lượng glycosaminoglycan (GAG) trong các cơ quan khác nhau của chuột khuyết thiếu gen I2S (chuột I2S-KO) được tiêm kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR hoặc rhI2S trong tĩnh mạch. (a) não, (b) gan, (c) phổi, (d) tim. Đối với mỗi đồ thị, các đường biểu thị, từ trái sang, chuột nhắt kiểu hoang (WT), nhóm đối chứng (nhóm không dùng thuốc), nhóm được dùng 0,5 mg/kg, nhóm được dùng 1,0 mg/kg, và nhóm được dùng 2,0 mg/kg. Trục nằm ngang chỉ ra lượng GAG theo trọng lượng khô của mỗi cơ quan (μg/g trọng lượng khô). Đường thẳng đứng chỉ ra độ lệch chuẩn, và "**" chỉ ra $p<0,01$ so với nhóm đối chứng theo thử nghiệm Dunnett.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trong sáng chế này, thuật ngữ "kháng thể" chủ yếu dùng để chỉ kháng thể người, kháng thể chuột nhắt, kháng thể được làm giống như của người, cũng như là kháng thể khảm giữa kháng thể người và kháng thể động vật có vú không phải người, và kháng thể khảm giữa kháng thể chuột và kháng thể động vật có vú không phải chuột nhắt, nhưng nghĩa của thuật ngữ này không chỉ giới hạn ở các kháng thể này trong chừng mực mà một chất quan tâm có đặc tính để gắn kết đặc hiệu với một kháng nguyên nhất định, và cũng không giới hạn cụ thể đối với các loại kháng thể từ động vật

Trong sáng chế này, thuật ngữ "kháng thể người" dùng để chỉ kháng thể mà toàn bộ protein của nó được mã hóa bởi gen có nguồn gốc từ người. Tuy nhiên, thuật

ngữ "kháng thể người", cũng bao gồm kháng thể được mã hóa bởi gen thu được bằng cách đưa đột biến vào gen người ban đầu để tăng cường hiệu quả biểu hiện của gen này, chẳng hạn, mà không làm biến đổi trình tự axit amin ban đầu. Thuật ngữ "kháng thể người" cũng bao gồm kháng thể có thể thu được nhờ việc kết hợp hai hoặc nhiều hơn hai gen mã hóa kháng thể người bằng cách thay thế một phần nhất định của kháng thể người bằng một phần của một kháng thể người khác. Kháng thể người bao gồm ba vùng quyết định bổ trợ (complementarity determining region - viết tắt là CDR) trong chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch và ba vùng quyết định bổ trợ (CDR) trong chuỗi nặng của globulin miễn dịch. Ba CDR trong chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch được gọi, từ phía đầu tận cùng N, là CDR1, CDR2 và CDR3, tương ứng. Ba CDR trong chuỗi nặng của globulin miễn dịch cũng được gọi, từ phía đầu tận cùng N, là CDR1, CDR2 và CDR3, tương ứng. Thuật ngữ "kháng thể người" còn bao gồm kháng thể người được tạo ra bằng cách thay thế CDR của kháng thể người bằng một CDR của một kháng thể người khác để cải biến các đặc tính như tính đặc hiệu kháng nguyên và ái lực của kháng thể người ban đầu, v.v..

Trong sáng chế này, thuật ngữ "kháng thể người" cũng bao gồm kháng thể mà được tạo ra nhờ sự cải biến gen của kháng thể người ban đầu bằng cách đưa sự đột biến, như sự thế đoạn, khuyết đoạn, bổ sung, vào trình tự axit amin của kháng thể ban đầu. Khi thay thế một hoặc nhiều axit amin trong trình tự axit amin của kháng thể ban đầu bằng các axit amin khác, số axit amin được thay thế tốt hơn là có thể là từ 1 đến 20, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, và cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin thuộc trình tự axit amin của kháng thể ban đầu, số axit amin bị khuyết đoạn tốt hơn là có thể là từ 1 đến 20, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, và cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3. Kháng thể được tạo ra bằng sự đột biến kết hợp của sự thế và khuyết đoạn như vậy của các axit amin cũng là "kháng thể người". Trong một số trường hợp, một hoặc nhiều axit amin, tốt hơn là từ 1 đến 20, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, và cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3 axit amin có thể được bổ sung vào bên trong trình tự axit amin của kháng thể ban đầu hoặc ở phía đầu tận cùng N hoặc C của nó. Kháng thể

được tạo ra bằng sự đột biến kết hợp của sự bổ sung, thế và khuyết đoạn như vậy của các axit amin cũng là "kháng thể người". Trình tự axit amin của một kháng thể đột biến như vậy có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95%, và thậm chí tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 98%, với trình tự axit amin của kháng thể ban đầu. Vì vậy, trong sáng chế này, thuật ngữ "gen có nguồn gốc từ người" không chỉ bao gồm gen chưa đột biến có nguồn gốc từ người mà còn bao gồm gen được tạo ra bằng cách cải biến gen này.

Mức tương đồng giữa trình tự axit amin của kháng thể chưa đột biến và trình tự axit amin của kháng thể được tạo ra bằng cách đưa đột biến vào kháng thể này có thể được tính toán dễ dàng bằng cách sử dụng các thuật toán tính toán sự tương đồng đã được biết rõ. Các thuật toán như vậy là, chẳng hạn, BLAST (Altschul SF. J Mol. Biol. 215. 403-10 (1990)), nghiên cứu sự tương tự bởi Pearson và Lipman (Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 85. 2444 (1988)), và thuật toán tương đồng cục bộ của Smith và Waterman (Adv. Appl. Math. 2. 482-9 (1981)), và các thuật toán tương tự.

Thuật ngữ "kháng thể chuột nhắt" dùng để chỉ kháng thể mà toàn bộ protein của nó bao gồm trình tự axit amin tương tự như kháng thể được mã hóa bởi gen có nguồn gốc từ chuột nhắt. Vì vậy, thuật ngữ "kháng thể chuột nhắt" cũng bao gồm kháng thể mà được mã hóa bởi gen được tạo ra bằng cách đưa đột biến vào gen chuột ban đầu mà không gây ra sự thay đổi về trình tự axit amin của nó nhưng gây ra sự thay đổi về trật tự, chẳng hạn, để cải thiện hiệu quả biểu hiện của gen này. Ngoài ra, thuật ngữ "kháng thể chuột nhắt" cũng bao gồm kháng thể được sản xuất nhờ việc kết hợp hai hoặc hoặc nhiều hơn hai gen mã hóa kháng thể chuột nhắt bằng cách thay thế một phần của kháng thể chuột nhắt bằng một phần của kháng thể chuột nhắt khác. Kháng thể chuột nhắt có ba vùng quyết định bổ trợ (CDR) trong chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch và ba vùng quyết định bổ trợ (CDR) trong chuỗi nặng của globulin miễn dịch. Ba CDR trong chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch được gọi, từ phía đầu tận cùng N, là CDR1, CDR2 và CDR3, tương ứng. Ba CDR trong chuỗi nặng của globulin miễn dịch cũng được gọi, từ phía đầu tận cùng N, là CDR1, CDR2 và CDR3, tương ứng. Thuật

ngữ "kháng thể chuột nhắt" cũng bao gồm kháng thể được tạo ra bằng cách thay thế CDR của kháng thể chuột nhắt bằng CDR của một kháng thể chuột nhắt khác để cải biến tính đặc hiệu và ái lực của kháng thể chuột nhắt ban đầu.

Trong sáng chế này, thuật ngữ "kháng thể chuột nhắt" cũng bao gồm kháng thể mà được tạo ra nhờ sự cải biến gen của kháng thể chuột nhắt ban đầu bằng cách đưa sự đột biến, như sự thế đoạn, khuyết đoạn, bổ sung, vào trình tự axit amin của kháng thể ban đầu. Khi thay thế một hoặc nhiều axit amin trong trình tự axit amin của kháng thể ban đầu bằng các axit amin khác, số axit amin được thay thế tốt hơn là có thể là từ 1 đến 20, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, và cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin thuộc trình tự axit amin của kháng thể ban đầu, số axit amin bị khuyết đoạn tốt hơn là có thể là từ 1 đến 20, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, và cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3. Kháng thể được tạo ra bằng sự đột biến kết hợp của sự thế và khuyết đoạn như vậy của các axit amin cũng là "kháng thể chuột nhắt". Khi bổ sung một hoặc nhiều axit amin, chúng có thể được bổ sung vào bên trong trình tự axit amin của kháng thể ban đầu hoặc ở phía đầu tận cùng N hoặc C của nó, tốt hơn là với số lượng từ 1 đến 20, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, và cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3. Kháng thể được tạo ra nhờ sự đột biến kết hợp của sự bổ sung, sự thế và khuyết đoạn của các axit amin cũng là "kháng thể chuột nhắt". Trình tự axit amin của một kháng thể đột biến như vậy có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95%, và thậm chí tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 98%, với trình tự axit amin của kháng thể ban đầu. Vì vậy, trong sáng chế này, thuật ngữ "gen có nguồn gốc từ chuột" không chỉ bao gồm gen chưa đột biến có nguồn gốc từ chuột mà còn bao gồm gen được tạo ra bằng cách cải biến gen này.

Trong sáng chế này, thuật ngữ "kháng thể được làm giống như của người" dùng để chỉ kháng thể mà trong đó một phần của trình tự axit amin của vùng biến đổi của nó (chẳng hạn, đặc biệt là toàn bộ hoặc một phần của CDR của nó) có nguồn gốc từ động vật có vú không phải người trong khi phần còn lại có nguồn gốc từ người. Ví dụ về kháng thể được làm giống như của người là kháng thể được tạo ra bằng cách

thay thế ba vùng quyết định bổ trợ (CDR) của chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch và ba vùng quyết định bổ trợ (CDR) của chuỗi nặng của globulin miễn dịch cấu thành kháng thể người, bằng các CDR từ động vật có vú không phải người. Nếu kháng thể có nguồn gốc từ động vật có vú không phải người, không có giới hạn cụ thể đối với các loài sinh học mà từ đó tạo ra các CDR được ghép vào một vị trí thích hợp của kháng thể người, mặc dù tốt hơn là chuột nhắt, chuột cống, thỏ, ngựa hoặc động vật linh trưởng không phải người, tốt hơn nữa là chuột nhắt và chuột cống, và chuột nhắt, chẳng hạn.

Trong sáng chế này, thuật ngữ "kháng thể khảm" dùng để chỉ kháng thể được tạo ra bằng cách nối các đoạn của hai hoặc nhiều hơn hai kháng thể khác nhau có nguồn gốc từ hai hoặc nhiều hơn hai loài khác nhau.

Kháng thể khảm giữa kháng thể người và kháng thể động vật có vú không phải người là kháng thể được tạo ra bằng cách thay thế một phần của kháng thể người bằng một phần của kháng thể động vật có vú không phải người. Như đã giải thích trên đây, kháng thể được tạo ra từ vùng Fc, vùng Fab và vùng bản lề. Ví dụ cụ thể về các kháng thể khảm như vậy là kháng thể khảm mà vùng Fc của nó có nguồn gốc từ kháng thể người trong khi vùng Fab của nó có nguồn gốc từ kháng thể động vật có vú không phải người. Vùng bản lề hoặc có nguồn gốc từ kháng thể người hoặc từ kháng thể động vật có vú không phải người. Ngược lại, thuật ngữ kháng thể khảm cũng bao gồm kháng thể mà vùng Fc của nó có nguồn gốc từ kháng thể động vật có vú không phải người trong khi vùng Fab của nó có nguồn gốc từ kháng thể người. Cũng trong trường hợp như vậy, vùng bản lề có thể có nguồn gốc từ kháng thể người hoặc từ kháng thể động vật có vú không phải người. Ngược lại, ví dụ về kháng thể khảm cũng bao gồm kháng thể mà vùng Fc của nó có nguồn gốc từ kháng thể động vật có vú không phải người trong khi vùng Fab của nó có nguồn gốc từ kháng thể người. Cũng trong trường hợp như vậy, vùng bản lề có thể có nguồn gốc từ kháng thể người hoặc từ kháng thể động vật có vú không phải người.

Kháng thể có thể được xem như là gồm có một vùng biến đổi và vùng hằng

định. Các ví dụ khác về các kháng thể khảm bao gồm kháng thể mà trong đó vùng hằng định của chuỗi nặng (C_H) và vùng hằng định của chuỗi nhẹ (C_l) đều có nguồn gốc từ kháng thể người trong khi vùng biến đổi của chuỗi nặng (V_H) và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ (V_L) đều có nguồn gốc từ kháng thể của động vật có vú không phải người, và ngược lại, kháng thể trong đó vùng hằng định của chuỗi nặng (C_H) và vùng hằng định của chuỗi nhẹ (C_l) đều có nguồn gốc từ kháng thể của động vật có vú không phải người, trong khi vùng biến đổi của chuỗi nặng (V_H) và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ (V_L) đều có nguồn gốc từ kháng thể người. Trong các kháng thể khảm này, không có giới hạn cụ thể nào đối với các loài sinh học của động vật có vú không phải người, miễn là nó là động vật có vú không phải người, mặc dù chuột nhắt, chuột cống, thỏ, ngựa hoặc động vật linh trưởng không phải người, và tốt hơn là chuột nhắt là được ưu tiên.

Kháng thể khảm giữa kháng thể chuột nhắt và kháng thể động vật có vú không phải chuột nhắt là kháng thể được tạo ra bằng cách thay thế một phần của kháng thể chuột nhắt bằng một phần của kháng thể động vật có vú không phải chuột nhắt. Ví dụ cụ thể về các kháng thể khảm như vậy bao gồm kháng thể khảm mà vùng Fc của nó có nguồn gốc từ kháng thể chuột nhắt trong khi vùng Fab của nó có nguồn gốc từ kháng thể động vật có vú không phải chuột nhắt, và ngược lại, kháng thể khảm vùng Fc của nó có nguồn gốc từ động vật có vú không phải chuột nhắt trong khi vùng Fab của nó có nguồn gốc từ kháng thể chuột nhắt. Trong các kháng thể này, không có giới hạn cụ thể nào đối với các loài sinh học của động vật có vú không phải chuột nhắt, miễn là nó là động vật có vú khác ngoài chuột, mặc dù tốt hơn là chuột cống, thỏ, ngựa hoặc động vật linh trưởng không phải người, và tốt hơn nữa là người.

Kháng thể khảm giữa kháng thể người và kháng thể chuột nhắt được chỉ định cụ thể là "kháng thể khảm người/chuột nhắt". Ví dụ về các kháng thể khảm người/chuột nhắt bao gồm kháng thể khảm trong đó vùng Fc có nguồn gốc từ kháng thể người trong khi trong khi vùng Fab có nguồn gốc từ kháng thể chuột nhắt, và ngược lại, kháng thể khảm mà vùng Fc của nó có nguồn gốc từ kháng thể chuột nhắt,

trong khi vùng Fab của nó có nguồn gốc từ kháng thể người. Vùng bản lề có nguồn gốc từ kháng thể người hoặc kháng thể chuột nhắt. Các ví dụ cụ thể khác về kháng thể khảm người/chuột nhắt bao gồm các kháng thể khảm mà vùng hằng định của chuỗi nặng (C_H) và vùng hằng định của chuỗi nhẹ (C_l) của nó có nguồn gốc từ kháng thể người trong khi vùng biến đổi của chuỗi nặng (V_H) và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ (V_L) của nó có nguồn gốc từ kháng thể chuột nhắt, và ngược lại, các kháng thể khảm mà vùng hằng định của chuỗi nặng (C_H) và vùng hằng định của chuỗi nhẹ (C_l) của nó có nguồn gốc từ kháng thể chuột nhắt trong khi vùng biến đổi của chuỗi nặng (V_H) và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ (V_L) của nó có nguồn gốc từ kháng thể người.

Ban đầu, một kháng thể có cấu trúc cơ bản gồm tổng số bốn chuỗi polypeptit bao gồm hai chuỗi nhẹ globulin miễn dịch và hai chuỗi nặng globulin miễn dịch. Tuy nhiên, trong sáng chế này thuật ngữ "kháng thể", ngoài kháng thể có cấu trúc cơ bản này, còn dùng để chỉ:

(1) kháng thể bao gồm hai chuỗi polypeptit: một chuỗi nhẹ globulin miễn dịch đơn và một chuỗi nặng globulin miễn dịch đơn, và cũng bao gồm kháng thể, như được giải thích dưới đây,

(2) kháng thể chuỗi đơn bao gồm globulin miễn dịch chuỗi nhẹ mà được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với trình tự liên kết mà trình tự này được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với globulin miễn dịch chuỗi nặng,

(3) kháng thể chuỗi đơn bao gồm globulin miễn dịch chuỗi nặng mà được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với trình tự liên kết mà trình tự liên kết này được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với globulin miễn dịch chuỗi nhẹ, và

(4) kháng thể bao gồm vùng Fab, nghĩa là, cấu trúc còn lại sau khi loại bỏ vùng Fc từ kháng thể có cấu trúc cơ bản, theo nghĩa ban đầu, và kháng thể bao gồm vùng Fab và toàn bộ hoặc một phần của vùng bản lề (bao gồm Fab, F(ab'), và $F(ab')_2$) cũng được bao hàm trong thuật ngữ "kháng thể" trong sáng chế này.

Thuật ngữ "Fab" dùng để chỉ phân tử bao gồm chuỗi nhẹ đơn chứa vùng biến đổi và vùng C_L (vùng hằng định của chuỗi nhẹ) và chuỗi nặng đơn chứa vùng biến đổi

và vùng C_H1 (phần 1 của vùng hằng định của chuỗi nặng) được kết hợp bởi liên kết disulfua giữa các gốc xystein tương ứng của chúng. Mặc dù chuỗi nặng trong Fab có thể bao gồm một phần của vùng bản lề ngoài vùng biến đổi và vùng C_H1 (phần 1 của vùng hằng định của chuỗi nặng), vùng bản lề trong trường hợp này không có gốc xystein mà theo cách khác có mặt trong vùng bản lề này và sẽ đóng vai trò liên kết hai chuỗi nặng của kháng thể với nhau. Trong Fab, chuỗi nhẹ và chuỗi nặng được nối bởi liên kết disulfua được tạo thành giữa gốc xystein có mặt trong vùng hằng định của chuỗi nhẹ (vùng C_L) và gốc xystein được đặt trong vùng hằng định của chuỗi nặng (vùng C_H1) hoặc vùng bản lề. Do không có gốc xystein trong vùng bản lề mà nó đóng vai trò liên kết hai chuỗi nặng của kháng thể, Fab bao gồm một chuỗi nhẹ đơn và một chuỗi nặng đơn. Chuỗi nhẹ cấu thành nên Fab bao gồm vùng biến đổi và vùng C_L. Chuỗi nặng dùng làm thành phần của Fab có thể bao gồm vùng biến đổi và vùng C_H1 hoặc còn bao gồm một phần của vùng bản lề ngoài vùng biến đổi và vùng C_H1. Tuy nhiên, trong trường hợp thứ hai, vùng bản lề được lựa chọn sao cho không bao gồm gốc xystein mà có thể liên kết hai chuỗi nặng, để tránh tạo thành liên kết disulfua giữa hai chuỗi nặng ở các vùng bản lề của chúng. Trong F(ab'), chuỗi nặng bao gồm, ngoài vùng biến đổi và vùng C_H1, toàn bộ hoặc một phần của vùng bản lề chứa gốc xystein mà có thể liên kết hai chuỗi nặng. $F(ab')_2$ là phân tử bao gồm hai F(ab')s được liên kết với nhau nhờ một liên kết disulfua được tạo thành giữa các gốc xystein có mặt trong các vùng bản lề tương ứng của chúng. Hơn nữa, polyme như dime và trime, bao gồm hai hoặc nhiều hơn hai kháng thể được liên kết với nhau, trực tiếp hoặc qua một đoạn liên kết, cũng được bao hàm trong thuật ngữ "kháng thể". Ngoài ra, ngoài những kháng thể đã nêu ở trên, phân tử bất kỳ mà bao gồm một phần của phân tử globulin miễn dịch và có đặc tính để gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên cũng được bao hàm trong thuật ngữ "kháng thể" trong sáng chế này. Vì vậy, trong sáng chế này, thuật ngữ "globulin miễn dịch chuỗi nhẹ" bao gồm phân tử mà được tạo dẫn xuất từ globulin miễn dịch chuỗi nhẹ ban đầu và chứa trình tự axit amin của toàn bộ hoặc một phần của vùng biến đổi của nó. Tương tự, thuật ngữ "globulin miễn dịch chuỗi nặng" bao gồm phân tử mà

được tạo dẫn xuất từ globulin miễn dịch chuỗi nặng ban đầu và chứa trình tự axit amin của toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của nó. Vì vậy, nếu chứa toàn bộ hoặc một phần trình tự axit amin của vùng biến đổi, phân tử được bao hàm trong thuật ngữ "globulin miễn dịch chuỗi nặng", ngay cả khi nó không có vùng Fc của nó, chẳng hạn.

Trong trường hợp nêu trên, thuật ngữ "Fc" hoặc "vùng Fc" dùng để chỉ vùng chứa đoạn bao gồm vùng C_H2 (phần 2 của vùng hằng định của chuỗi nặng), và vùng C_H3 (phần 3 của vùng hằng định của chuỗi nặng) trong phân tử kháng thể.

Ngoài ra, trong sáng chế này, thuật ngữ "kháng thể" cũng bao gồm:

(5) scFab, scF(ab'), và $scF(ab')_2$, là các kháng thể chuỗi đơn được tạo ra bằng cách liên kết chuỗi nhẹ với chuỗi nặng mà tương ứng tạo thành Fab, F(ab') và $F(ab')_2$ đã nêu trong mục (4) nêu trên, qua một trình tự liên kết. scFab, scF(ab') và $scF(ab')_2$ như vậy có thể là phân tử trong đó chuỗi nhẹ được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với trình tự liên kết, mà trình tự này được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với chuỗi nặng, hoặc trong đó chuỗi nặng được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với trình tự liên kết, mà trình tự liên kết này được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với chuỗi nhẹ. Hơn nữa, scFv, mà là kháng thể chuỗi đơn được tạo ra bằng cách liên kết vùng biến đổi của chuỗi nhẹ với vùng biến đổi của chuỗi nặng, qua một trình tự liên kết giữa chúng, cũng được bao hàm trong thuật ngữ "kháng thể" trong sáng chế này. scFv như vậy có thể là phân tử trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với trình tự liên kết, mà trình tự liên kết này được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với vùng biến đổi của chuỗi nặng, hoặc trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với trình tự liên kết, mà trình tự liên kết này được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với vùng biến đổi của chuỗi nhẹ.

Hơn nữa, ngoài kháng thể với chiều dài đầy đủ và các kháng thể được mô tả trong các mục (1) đến (5) nêu trên, thuật ngữ "kháng thể" trong bản mô tả này bao gồm, dạng bất kỳ của đoạn gắn kết kháng nguyên mà nó không có phần kháng thể với chiều dài đầy đủ (đoạn kháng thể), khái niệm rộng hơn mà nó bao gồm (4) và (5) nêu

trên.

Thuật ngữ "đoạn gắn kết kháng nguyên" dùng để chỉ đoạn kháng thể mà vẫn có ít nhất một phần hoạt tính gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên của nó. Ngoài các đoạn gắn kết được mô tả trong mục (4) và (5) nêu trên, ví dụ về các đoạn gắn kết bao gồm Fab, Fab', $F(ab')_2$, vùng biến đổi (Fv); kháng thể chuỗi đơn (scFv) được tạo ra bằng cách liên kết vùng biến đổi của chuỗi nặng (V_H) và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ (V_L), qua một đoạn liên kết thích hợp giữa chúng; diabody, mà nó là dime của polypeptit bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng (V_H) và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ (V_L); minibody, mà nó là dime của phân tử trong đó chuỗi nặng (chuỗi H) của scFv được liên kết với phần của vùng hằng định (C_H3), và các kháng thể có phân tử lượng thấp khác. Tuy nhiên, thuật ngữ này không bị giới hạn ở các phân tử này miễn là nó có khả năng gắn kết kháng nguyên. Các đoạn gắn kết như vậy không chỉ bao gồm các đoạn gắn kết được tạo ra bằng cách xử lý phân tử protein kháng thể với chiều dài đầy đủ bằng enzym thích hợp mà còn bao gồm các đoạn gắn kết được tạo ra bằng các tế bào chủ thích hợp có sử dụng gen kháng thể được tạo ra theo công nghệ di truyền.

Trong sáng chế này, thuật ngữ "kháng thể chuỗi đơn" dùng để chỉ protein trong đó trình tự axit amin bao gồm toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nhẹ globulin miễn dịch được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với trình tự liên kết, mà trình tự này được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với trình tự axit amin của toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nặng globulin miễn dịch, và có khả năng gắn kết đặc hiệu một kháng nguyên nhất định. Ví dụ, các trình tự được mô tả trong (2), (3) và (5) được bao hàm trong "kháng thể chuỗi đơn". Hơn nữa, protein trong đó trình tự axit amin bao gồm toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nặng globulin miễn dịch được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với trình tự liên kết, mà trình tự này còn được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với trình tự axit amin của toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nhẹ globulin miễn dịch, và which có khả năng gắn kết đặc hiệu với một kháng nguyên nhất định, cũng được bao hàm trong thuật ngữ "kháng thể chuỗi đơn" trong sáng chế này. Trong kháng thể chuỗi

đơn trong đó globulin miễn dịch chuỗi nặng được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một trình tự liên kết, với globulin miễn dịch chuỗi nhẹ, globulin miễn dịch chuỗi nặng này thường không có vùng Fc. Vùng biến đổi của chuỗi nhẹ globulin miễn dịch có ba vùng quyết định bổ trợ (CDR) mà nó tham gia vào việc quyết định tính đặc hiệu kháng nguyên của kháng thể. Tương tự, vùng biến đổi của chuỗi nặng globulin miễn dịch cũng có ba CDR. Các CDR này là các vùng chủ yếu quyết định tính đặc hiệu kháng nguyên của kháng thể. Vì vậy, kháng thể chuỗi đơn tốt hơn là chứa tất cả ba CDR của chuỗi nặng globulin miễn dịch và cả ba CDR của chuỗi nhẹ globulin miễn dịch. Tuy nhiên, cũng có thể tạo ra kháng thể chuỗi đơn trong đó một hoặc nhiều trong số các CDR này được khuyết đoạn, nếu ái lực đặc hiệu kháng nguyên của kháng thể vẫn còn.

Trong kháng thể chuỗi đơn, trình tự liên kết được đặt giữa chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của globulin miễn dịch tốt hơn là chuỗi peptit bao gồm tốt hơn là 2 đến 50, tốt hơn nữa là 8 đến 50, cũng tốt hơn nữa là 10 đến 30, thậm chí tốt hơn nữa là 12 đến 18, hoặc 15 đến 25, ví dụ 15 hoặc 25 gốc axit amin. Mặc dù không có giới hạn cụ thể đối với trình tự axit amin cụ thể của trình tự liên kết như vậy nếu kháng thể kháng hTfR chứa cả hai chuỗi được liên kết bằng cách này vẫn có ái lực với hTfR, tốt hơn là nó chỉ được tạo thành từ glyxin, hoặc glyxin và serin: ví dụ trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Gly, trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3), trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:4), trình tự axit amin Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:5), hoặc trình tự bao gồm 2 đến 10 hoặc 2 đến 5 đơn vị lặp lại của trình tự axit amin bất kỳ trong só các trình tự axit amin này. Ví dụ, trong khi liên kết trình tự axit amin của toàn bộ vùng biến đổi của chuỗi nặng globulin miễn dịch, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một trình tự liên kết, với vùng biến đổi của chuỗi nhẹ globulin miễn dịch, trình tự liên kết này tốt hơn là trình tự liên kết bao gồm 15 axit amin tương ứng với ba trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3) được liên kết nối tiếp.

Trong sáng chế này, thuật ngữ "thụ thể transferrin người" hoặc "hTfR" dùng

để chỉ protein màng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:1. Kháng thể kháng hTfR theo sáng chế là, theo một trong số các phương án của nó, kháng thể mà gắn kết đặc hiệu với vùng từ gốc xystein ở vị trí thứ 89 từ phía đầu tận cùng N đến phenylalanin ở đầu tận cùng C trong trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO: 1 (nghĩa là, vùng ngoại bào của hTfR), mặc dù nó không bị giới hạn ở phương án này. Hơn nữa, trong sáng chế này, thuật ngữ "thụ thể transferrin khỉ" hoặc "TfR khỉ" cụ thể dùng để chỉ protein màng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:2, có nguồn gốc từ khỉ cynomolgus (Macaca fascicularis). Kháng thể kháng hTfR theo sáng chế, theo một trong số các phương án của nó, là kháng thể mà còn gắn kết với vùng từ gốc xystein ở vị trí thứ 89 từ phía đầu tận cùng N đến phenylalanin ở đầu tận cùng C trong trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:2 (nghĩa là, vùng ngoại bào của TfR khỉ), mặc dù nó không bị giới hạn ở phương án này.

Đã biết phương pháp chung để điều chế kháng thể kháng hTfR, theo đó thụ thể transferrin người tái tổ hợp (rhTfR) được tạo ra bằng cách sử dụng các tế bào mà có đưa vào vectơ biểu hiện có kết hợp gen hTfR, và sau đó các động vật như chuột nhắt được gây miễn dịch với rhTfR này. Bằng cách thu gom các tế bào sản xuất kháng thể kháng hTfR từ các động vật được gây miễn dịch và dung hợp chúng với tế bào u tủy, có thể thu được các tế bào lai có khả năng sản xuất kháng thể.

Ngoài ra, cũng có thể thu được các tế bào sản xuất kháng thể kháng hTfR bằng cách thu gom các tế bào có khả năng tạo miễn dịch từ động vật như chuột nhắt, và gây miễn dịch chúng với rhTfR bằng cách gây miễn dịch in vitro. Trong khi tiến hành gây miễn dịch in vitro, không có giới hạn cụ thể đối với các loài động vật mà các tế bào có khả năng tạo miễn dịch được bắt nguồn từ đó, mặc dù tốt hơn là chuột nhắt, chuột cống, thỏ, chuột lang, chó, mèo, ngựa, và các động vật linh trưởng bao gồm người, và tốt hơn nữa là chuột nhắt, chuột cống và người, và cũng tốt hơn nữa là chuột nhắt và người. Các tế bào lách được chuẩn bị từ lách chuột nhắt có thể được sử dụng làm các tế bào có khả năng tạo miễn dịch ở chột nhắt, chẳng hạn. Để làm các tế bào có khả năng tạo miễn dịch ở người, các tế bào được chuẩn bị từ máu ngoại biên, tủy xương,

lách, và các cơ quan tương tự của người có thể được sử dụng. Bằng cách gây miễn dịch với các tế bào có khả năng tạo miễn dịch ở người theo quy trình gây miễn dịch in vitro, có thể thu được kháng thể người kháng hTfR.

Sau khi gây miễn dịch với các tế bào có khả năng tạo miễn dịch theo quy trình gây miễn dịch in vitro, các tế bào có thể được dung hợp với tế bào u tủy để tạo ra các tế bào lai có khả năng sản xuất kháng thể. Ngoài ra, cũng có thể chiết các mARN từ các tế bào đã được gây miễn dịch, tổng hợp cADN, thực hiện phản ứng PCR bằng cách sử dụng cADN này làm khuôn để khuếch đại đoạn ADN chứa gen mã hóa chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của globulin miễn dịch, và xây dựng lại cấu trúc nhân tạo gen kháng thể này bằng cách sử dụng chúng.

Các tế bào lai mới thu được ở trên cũng bao gồm các tế bào mà sản xuất các kháng thể nhận biết các protein khác ngoài hTfR. Hơn nữa, không nhất thiết toàn bộ các tế bào lai sản sinh kháng thể kháng hTfR phải sản sinh kháng thể kháng hTfR mà biểu hiện ái lực cao với hTfR.

Tương tự, gen kháng thể đã được xây dựng lại theo cách nhân tạo bao gồm các gen như là các kháng thể mã hóa nhận biết các protein khác ngoài hTfR làm kháng nguyên. Hơn nữa, không phải tất cả các gen mã hóa kháng thể kháng hTfR đều nhất thiết phải có các đặc tính mong muốn như mã hóa kháng thể kháng hTfR thể hiện ái lực cao với hTfR.

Vì vậy, cần có bước lựa chọn để lựa chọn các tế bào lai sản sinh kháng thể có các đặc tính mong muốn (như ái lực cao với hTfR) từ các tế bào lai mới thu được ở trên. Ngoài ra, trong trường hợp mà ở đó gen kháng thể được xây dựng lại theo cách nhân tạo, bước lựa chọn là cần thiết để lựa chọn một gen mã hóa kháng thể có các đặc tính mong muốn (như ái lực cao đối với hTfR) từ các gen kháng thể này. Các phương pháp được giải thích cụ thể dưới đây là hữu hiệu để chọn lọc các tế bào lai mà sản sinh kháng thể biểu hiện ái lực cao đối với hTfR (kháng thể có ái lực cao), hoặc để lựa chọn các gen mã hóa kháng thể có ái lực cao. Ngoài ra, các kháng thể thể hiện ái lực cao với hTfR là các kháng thể mà hằng số phân ly (K_D) của chúng với hTfR như được xác

định bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 7 tốt hơn là không lớn hơn 1×10^{-8} M, tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-9} M, cũng tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-10} M, và thậm chí tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-11} M. Ví dụ, các kháng thể có hằng số phân ly bằng 1×10^{-13} M đến 1×10^{-9} M, hoặc 1×10^{-13} M đến 1×10^{-10} M là được ưu tiên.

Ví dụ, để chọn lọc các tế bào lai sản sinh kháng thể có ái lực cao đối với kháng thể kháng hTfR, sử dụng phương pháp trong đó hTfR tái tổ hợp được bổ sung vào đĩa và được giữ lại trong đĩa, sau đó phần dịch nổi nuôi cấy của các tế bào lai được bổ sung, và sau khi loại bỏ các kháng thể không gắn kết với hTfR tái tổ hợp ra khỏi đĩa, xác định lượng kháng thể được giữ lại trong đĩa. Theo phương pháp này, ái lực đối với hTfR của kháng thể được chứa trong dịch nổi nuôi cấy của các tế bào lai được bổ sung vào đĩa càng cao, lượng kháng thể được giữ lại trong đĩa càng lớn. Vì vậy, bằng cách xác định lượng kháng thể được giữ lại trong đĩa, có thể chọn lọc được các tế bào lai tương ứng với đĩa ở đó kháng thể được giữ lại với lượng lớn hơn do các dòng tế bào sản sinh kháng thể kháng hTfR có ái lực tương đối cao hơn đối với hTfR. Cũng có thể phân lập gen mã hóa kháng thể ái lực cao bằng cách chiết mARN từ mỗi dòng tế bào được chọn lọc theo cách này, tổng hợp cADN, và khuếch đại đoạn ADN chứa gen mã hóa kháng thể kháng hTfR bằng PCR có sử dụng ADN này làm khuôn.

Để lựa chọn gen mã hóa kháng thể kháng hTfR với ái lực cao từ các gen kháng thể được xây dựng lại theo cách nhân tạo nêu trên, các gen kháng thể được xây dựng lại theo cách nhân tạo được kết hợp một lần vào vectơ biểu hiện, và vectơ biểu hiện này sau đó được đưa vào các tế bào chủ. Mặc dù không có giới hạn cụ thể nào đối với các tế bào để dùng làm tế bào chủ, bất kể là chúng là sinh vật chưa có nhân điển hình hay sinh vật đã có nhân điển hình, miễn là chúng có thể biểu hiện gen kháng thể sau khi đưa vào một vectơ biểu hiện có kết hợp gen kháng thể được xây dựng lại theo cách nhân tạo, tốt hơn là các tế bào có nguồn gốc từ động vật có vú như người, chuột nhắt, chuột túi má Trung Quốc, và các động vật tương tự, và đặc biệt tốt hơn là các tế bào CHO có nguồn gốc từ tế bào buồng trứng chuột túi má Trung Quốc, hoặc các tế bào NS/0 có nguồn gốc từ u tủy chuột nhắt. Hơn nữa, không có giới hạn cụ thể nào đối

với vectơ biểu hiện được dùng để kết hợp gen mã hóa kháng thể và biểu hiện nó, và vectơ biểu hiện bất kỳ có thể được dùng miễn là nó có thể biểu hiện gen này khi được đưa vào tế bào của động vật có vú. Gen được kết hợp vào vectơ biểu hiện được đặt xuôi chiều trình tự ADN mà có thể điều hòa tần số phiên mã của gen trong tế bào của động vật có vú (vị trí điều hòa biểu hiện gen). Ví dụ về vị trí điều hòa biểu hiện gen mà có thể được dùng trong sáng chế này bao gồm trình tự khởi đầu bắt nguồn từ cytomegalovirus, trình tự khởi đầu sớm SV40, trình tự khởi đầu yếu tố kéo dài mạch 1 ở người α (EF-1α), trình tự khởi đầu ubiquitin C ở người.

Tế bào của động vật có vú mang vectơ biểu hiện được đưa vào này sẽ biểu hiện kháng thể đã được xây dựng lại theo cách nhân tạo và được kết hợp vào vectơ biểu hiện này. Để chọn lọc các tế bào mà sản sinh ra kháng thể có ái lực cao đối với kháng thể kháng hTfR từ các tế bào thu được ở trên biểu hiện kháng thể được xây dựng lại theo cách nhân tạo, sử dụng phương pháp trong đó hTfR tái tổ hợp được bổ sung vào đĩa và được giữ trong đĩa này, sau đó hTfR tái tổ hợp được tiếp xúc bởi dịch nổi nuôi cấy của các tế bào, và sau khi loại bỏ kháng thể không gắn kết với hTfR tái tổ hợp ra khỏi đĩa, xác định lượng kháng thể được giữ lại trong đĩa. Theo phương pháp này, ái lực của kháng thể được chứa trong dịch nổi nuôi cấy tế bào đối với hTfR càng cao, lượng kháng thể được giữ lại trong đĩa càng lớn. Vì vậy, bằng cách xác định lượng kháng thể được giữ lại trong đĩa, người ta có thể chọn lọc được những tế bào tương ứng với đĩa mà ở đó kháng thể được giữ lại với lượng lớn hơn, để làm dòng tế bào sản sinh ra kháng thể kháng hTfR mang kháng thể kháng hTfRR với ái lực tương đối cao, và cuối cùng có thể lựa chọn gen mã hóa kháng thể kháng hTfR mang kháng thể kháng hTfR có ái lực cao đối với hTfR. Bằng cách sử dụng dòng tế bào được chọn lọc theo cách này, người ta có thể thực hiện PCR để khuếch đại đoạn ADN chứa gen mã hóa kháng thể kháng hTfR để phân lập gen mã hóa kháng thể có ái lực cao.

Việc lựa chọn gen mã hóa kháng thể kháng hTfR ái lực cao từ các gen kháng thể được xây dựng lại theo cách nhân tạo nêu trên cũng có thể được thực hiện bằng cách kết hợp các gen kháng thể được xây dựng lại theo cách nhân tạo vào vectơ biểu

hiện, đưa vectơ biểu hiện này vào tế bào E. coli, nuôi cấy tế bào E. coli, và chọn lọc tế bào E. coli mang gen mong muốn, theo cách tương tự như cách chọn lọc các tế bào lai nêu trên bằng cách sử dụng dịch nổi nuôi cấy của tế bào E. coli hoặc dung dịch chứa kháng thể được điều chế bằng cách dung giải tế bào E. coli. Vì vậy, tế bào E. coli đã chọn lọc biểu hiện gen mã hóa kháng thể kháng hTfR có ái lực tương đối cao đối với hTfR. Từ dòng tế bào này, có thể chọn lọc được gen mã hóa kháng thể kháng hTfR có ái lực tương đối cao của kháng thể kháng hTfR đối với hTfR. Để cho phép kháng thể được tiết vào dịch nổi nuôi cấy E. coli, gen kháng thể có thể được hợp nhất vào vectơ biểu hiện sao cho trình tự tín hiệu tiết được gắn ở phía đầu tận cùng N của gen này.

Một phương pháp khác để chọn lọc gen mã hóa kháng thể kháng hTfR ái lực cao là phương pháp trong đó kháng thể được mã hóa bởi gen kháng thể được xây dựng lại theo cách nhân tạo nêu trên được biểu hiện và được giữ trên các hạt thể thực khuẩn. Để làm điều đó, gen kháng thể được xây dựng lại là gen mã hóa kháng thể chuỗi đơn. Phương pháp để giữ kháng thể trên bề mặt của các hạt thể thực khuẩn được bộc lộ trong các Công bố đơn yêu cầu cấp patent quốc tế số WO1997/09436 và WO1995/11317, và các tài liệu tương tự, và do vậy phương pháp này đã được biết rõ. Để lựa chọn thể thực khuẩn duy trì kháng thể ái lực cao đối với kháng thể kháng hTfR từ các thể thực khuẩn duy trì kháng thể được mã hóa bởi các gen kháng thể được xây dựng lại theo cách nhân tạo, sử dụng phương pháp trong đó hTfR tái tổ hợp được bổ sung vào một đĩa và được giữ bởi đĩa này, được tiếp xúc bởi các thể thực khuẩn, và sau khi loại bỏ các thể thực khuẩn không gắn kết với hTfR tái tổ hợp ra khỏi đĩa này, xác định lượng thể thực khuẩn được giữ lại trong đĩa. Theo phương pháp này, ái lực đối với hTfR của kháng thể được giữ lại trên các hạt thể thực khuẩn càng cao, lượng thể thực khuẩn được giữ lại trong đĩa càng lớn. Vì vậy, bằng cách xác định lượng kháng thể được giữ lại trong đĩa, người ta có thể lựa chọn các hạt thể thực khuẩn tương ứng với đĩa mà ở đó thể thực khuẩn' được giữ lại với lượng lớn hơn, để làm các hạt thể thực khuẩn sản sinh kháng thể kháng hTfR có kháng thể kháng hTfR ái lực tương đối cao đối với hTfR, và cuối cùng có thể lựa chọn gen mã hóa kháng thể kháng hTfR với ái

lực cao đối với hTfR. Bằng cách sử dụng các hạt thể thực khuẩn được lựa chọn như vậy, người ta có thể thực hiện PCR để khuếch đại đoạn ADN chứa gen mã hóa kháng thể kháng hTfR và phân lập gen mã hóa kháng thể có ái lực cao.

Có thể điều chế cADN hoặc ADN thể thực khuẩn từ các tế bào nêu trên như các tế bào lai sản sinh kháng thể có ái lực cao đối với kháng-hTfR, hoặc từ các hạt thể thực khuẩn duy trì kháng thể có ái lực cao đối với anti-hTfR nêu trên, và thực hiện PCR hoặc các phương pháp tương tự bằng cách sử dụng nó làm khuôn để khuếch đại và phân lập đoạn ADN chứa gen mã hóa toàn bộ hoặc một phần chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR, chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR, hoặc kháng thể chuỗi đơn. Theo cách tương tự, cũng có thể thực hiện PCR hoặc các phương pháp tươn tự để khuếch đại và phân lập đoạn ADN chứa gen mã hóa toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR, hoặc đoạn ADN chứa gen mã hóa toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR.

Kháng thể kháng hTfR ái lực cao có thể thu được bằng cách kết hợp toàn bộ hoặc một phần gen mã hóa chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR ái lực cao này vào vectơ biểu hiện, biến nạp các tế bào chủ như tế bào của động vật có vú với vectơ biểu hiện này, và nuôi cấy tế bào biến nạp thu được. Bằng cách sử dụng trình tự nucleotit của gen đã được phân lập mã hóa kháng thể kháng hTfR, cũng có thể dịch mã trình tự axit amin của kháng thể kháng hTfR, và tổng hợp nhân tạo đoạn ADN mã hóa cùng trình tự axit amin này. Trong quá trình tổng hợp nhân tạo đoạn ADN, mức biểu hiện của kháng thể kháng hTfR trong các tế bào chủ có thể được tăng cường bằng cách lựa chọn thích hợp các codon.

Để đưa sự đột biến như sự thế, khuyết đoạn, bổ sung và các đột biến tương tự vào trình tự axit amin của kháng thể kháng hTfR ban đầu, đột biến có thể được đưa vào gen mã hóa kháng thể kháng hTfR được chứa trong đoạn ADN đã được phân lập. Mặc dù gen mã hóa kháng thể kháng hTfR đột biến có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, với gen ban đầu, không có giới hạn cụ thể về mức tương đồng. Bằng cách đưa đột biến vào trình tự axit amin để

cải biến số lượng hoặc loại chuỗi đường được gắn với kháng thể kháng hTfR, cũng có thể tăng cường độ ổn định của kháng thể kháng hTfR trong cơ thể.

Khi đưa đột biến vào gen mã hóa toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR, gen được đột biến theo cách này có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, với gen ban đầu, mặc dù không có giới hạn cụ thể nào đối với mức tương đồng. Khi thay thế một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bằng các axit amin khác, số lượng axit amin được thay thế tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, số lượng axit amin được làm khuyết đoạn tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể thực hiện đột biến kết hợp của sự thế và sự khuyết đoạn các axit amin. Khi bổ sung một hoặc nhiều axit amin vào vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, chúng có thể được bổ sung vào bên trong, hoặc ở phía đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của, trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, và số lượng axit amin được bổ sung vào tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể thực hiện đột biến kết hợp của sự bổ sung, sự thế và sự khuyết đoạn các axit amin. Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ được đột biến theo cách này có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95% với trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ ban đầu. Cụ thể, khi thay thế một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của CDR bằng các axit amin khác, số lượng axit amin được thay thế tốt hơn là từ 1 đến 5, tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, cũng tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của CDR, số lượng axit amin được làm khuyết đoạn tốt hơn là từ 1 đến 5, tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, cũng tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể thực hiện đột biến kết hợp của sự thế và sự khuyết đoạn axit amin. Khi bổ sung một hoặc nhiều axit amin, chúng

có thể được bổ sung vào bên trong, hoặc ở phía đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của, trình tự axit amin, và số lượng axit amin được bổ sung tốt hơn là từ 1 đến 5, tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, cũng tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể thực hiện đột biến kết hợp của sự bổ sung, sự thế và sự khuyết đoạn các axit amin. Trình tự axit amin của CDR được đột biến tương ứng có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, và cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95% với trình tự axit amin của CDR ban đầu.

Khi đưa đột biến vào gen mã hóa toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR, gen được đột biến theo cách này có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, với gen ban đầu, mặc dù không có giới hạn cụ thể nào đối với mức tương đồng. Khi thay thế một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng bằng các axit amin khác, số lượng axit amin được thay thế tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng, số lượng các axit amin được làm khuyết đoạn tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể thực hiện đột biến kết hợp của sự thế và sự khuyết đoạn các axit amin. Khi bổ sung một hoặc nhiều axit amin vào vùng biến đổi của chuỗi nặng, chúng có thể được bổ sung vào bên trong, hoặc ở phía đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của, trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng, và số lượng axit amin được bổ sung vào tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể thực hiện đột biến kết hợp của sự bổ sung, sự thế và sự khuyết đoạn các axit amin. Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng được đột biến theo cách này có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95% với trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng ban đầu. Cụ thể, khi thay thế một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của CDR bằng các axit amin khác, số

lượng axit amin được thay thế tốt hơn là từ 1 đến 5, tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, cũng tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của CDR, số lượng axit amin được làm khuyết đoạn tốt hơn là từ 1 đến 5, tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, cũng tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể thực hiện đột biến kết hợp của sự thế và sự khuyết đoạn axit amin. Khi bổ sung một hoặc nhiều axit amin, chúng có thể được bổ sung vào bên trong, hoặc ở phía đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của, trình tự axit amin, và số lượng axit amin được bổ sung tốt hơn là từ 1 đến 5, tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, cũng tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể thực hiện đột biến kết hợp của sự bổ sung, sự thế và sự khuyết đoạn các axit amin. Trình tự axit amin của CDR được đột biến tương ứng có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, và cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95% với trình tự axit amin của CDR ban đầu.

Đột biến có thể được đưa vào cả vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR, bằng cách kết hợp đột biến nêu trên vào vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR và đột biến nêu trên vào vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR.

Ví dụ về sự thế một hoặc nhiều axit amin trong trình tự axit amin của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR như đã nêu ở trên bao gồm sự thế giữa các axit amin có tính axit, nghĩa là, axit aspartic và axit glutamic, sự thế giữa các axit amin kiểu amit, nghĩa là, asparagin và glutamin, sự thế giữa các axit amin có tính bazơ, nghĩa là, lysin và arginin, sự thế giữa các axit amin mạch nhánh, nghĩa là, valin, leuxin và isoleuxin, sự thế giữa các axit amin béo, nghĩa là, glyxin và alanin, sự thế giữa các hydroxyamino axit, nghĩa là, serin và threonin, và sự thế giữa các axit amin thơm, nghĩa là, phenylalanin và tyrosin.

Ngoài ra, trong trường hợp ở đó đột biến được đưa vào kháng thể kháng hTfR bằng cách bổ sung một hoặc nhiều axit amin vào đầu tận cùng C hoặc đầu tận cùng N, nếu kháng thể kháng hTfR và một protein A khác được dung hợp nhờ các axit amin được bổ sung, các axit amin được bổ sung này tạo thành một phần của đoạn liên kết.

Giải thích cụ thể sẽ được đưa ra dưới đây đối với đoạn liên kết mà đặt giữa kháng thể kháng hTfR và một protein A khác trong trường hợp ở đó kháng thể kháng hTfR được dung hợp với protein (A) khác này.

Kháng thể kháng hTfR thu được bằng cách nuôi cấy các tế bào được chọn lọc bởi các phương pháp nêu trên và các phương pháp tương tự để tạo ra kháng thể kháng hTfR có ái lực tương đối cao đối với hTfR, và kháng thể kháng hTfR thu được bằng cách biểu hiện gen mã hóa kháng thể kháng hTfR ái lực cao, có thể được cải biến bằng cách đưa đột biến như sự thế, sự khuyết đoạn, sự bổ sung vào các trình tự axit amin của chúng để chúng có được những đặc tính mong muốn. Việc đưa đột biến vào trình tự axit amin của kháng thể kháng hTfR có thể được thực hiện bằng cách đưa đột biến vào gen tương ứng với trình tự axit amin này.

Ái lực của kháng thể kháng hTfR đối với hTfR có thể được điều chỉnh nếu muốn bằng cách đưa đột biến, như sự thế, sự khuyết đoạn, và sự bổ sung, vào trình tự axit amin của vùng biến đổi của kháng thể. Ví dụ, nếu kháng thể có ái lực cao với kháng nguyên của nó mà dẫn đến hằng số phân ly quá thấp trong dung dịch chứa nước, có khả năng là kháng thể này sau khi được dùng cho cơ thể có thể không phân ly từ kháng nguyên, nhờ đó dẫn đến sự bất lợi về mặt chức năng. Trong trường hợp như vậy, có thể thu được kháng thể được ưu tiên nhất thích hợp đối với mục đích đã nêu bằng cách đưa đột biến vào vùng biến đổi của kháng thể để điều chỉnh hằng số phân ly của nó theo bậc bằng từ 2 đến 5 lần, 5 đến 10 lần, 10 đến 100 lần, và tương tự, hằng số phân ly của kháng thể ban đầu. Ngược lại, hằng số phân ly có thể được điều chỉnh giảm theo bậc bằng từ 1/2 đến 1/5 lần, 1/5 đến 1/10 lần, 1/10 đến 1/100 lần, và tương tự, hằng số phân ly của kháng thể ban đầu, bằng cách đưa đột biến vào.

Việc đưa đột biến như sự thế, sự khuyết đoạn và sự bổ sung vào trình tự axit amin của kháng thể kháng hTfR có thể được tiến hành, ví dụ bằng cách đưa đột biến vào các vị trí nhất định của trình tự nucleotit của gen này, hoặc bằng cách đưa đột biến vào một cách ngẫu nhiên, bằng PCR hoặc các phương pháp tương tự bằng cách sử dụng gen mã hóa kháng thể kháng hTfR làm khuôn.

Việc đưa đột biến vào trình tự axit amin của kháng thể kháng hTfR để điều chỉnh ái lực của kháng thể kháng hTfR có thể được thực hiện bằng cách, ví dụ, kết hợp gen mã hóa kháng thể kháng hTfR ở dạng kháng thể chuỗi đơn vào phagemid, điều chế với phagemid này một thể thực khuẩn với kháng thể chuỗi đơn được biểu hiện trên bề mặt của vỏ capsid của nó, để thể thực khuẩn này nhân lên trong khi đưa đột biến vào gen mã hóa kháng thể chuỗi đơn bằng cách sử dụng tác nhân gây đột biến hoặc tác nhân tương tự, và lựa chọn, từ thể thực khuẩn được nhân lên nay, một thể thực khuẩn biểu hiện kháng thể chuỗi đơn có hằng số phân ly mong muốn bằng phương pháp được mô tả nêu trên hoặc bằng cách tinh chế có sử dụng cột kháng nguyên trong điều kiện nhất định.

Kháng thể có ái lực tương đối cao đối với hTfR thu được bằng phương pháp lựa chọn tế bào sản xuất kháng thể ái lực cao đã nêu ở trên, là các kháng thể mà hằng số phân ly (K_D) của nó với hTfR như được xác định bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 7 tốt hơn là không lớn hơn 1×10^{-8} M, tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-9} M, cũng tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-10} M, và thậm chí tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-11} M. Ví dụ, các kháng thể có hằng số phân ly bằng 1×10^{-13} M đến 1×10^{-9} M, hoặc 1×10^{-13} M đến 1×10^{-10} M là được ưu tiên. Áp dụng tương tự nếu kháng thể là kháng thể chuỗi đơn. Khi thu được kháng thể, nó có thể được cải biến nếu cần bằng cách, chẳng hạn, đưa đột biến vào để nó có được đặc tính mong muốn.

Có thể thu được kháng thể có ái lực cả với TfR người và khỉ bằng cách chọn lọc kháng thể có ái lực với TfR khỉ từ các kháng thể có ái lực tương đối cao mà thu được bằng các phương pháp đã được mô tả ở trên bao gồm bước lựa chọn tế bào sản xuất kháng thể ái lực cao. Việc chọn lọc kháng thể có ái lực đối với TfR khỉ có thể được thực hiện bằng, ví dụ, ELISA có sử dụng TfR khỉ tái tổ hợp mà được điều chế bằng cách sử dụng công nghệ ADN tái tổ hợp. Trong thử nghiệm ELISA, TfR khỉ tái tổ hợp được bổ sung vào đĩa và được giữ trong đó, và được cho tiếp xúc với kháng thể kháng hTfR, sau khi loại bỏ kháng thể không gắn kết với TfR khỉ tái tổ hợp ra khỏi đĩa, xác định lượng kháng thể được giữ lại trong đĩa. Vì vậy, ái lực của kháng thể đối

với hTfR khỉ tái tổ hợp càng cao, lượng kháng thể được giữ lại trong đĩa càng lớn. Kết quả là, kháng thể tương ứng với đĩa mà giữ được lượng kháng thể lớn hơn có thể được chọn làm kháng thể có ái lực đối với TfR khỉ. Ở đây, thuật ngữ "khỉ" tốt hơn là được phân loại như là thuộc khỉ trừ người, tốt hơn nữa là Cercopithecidae, cũng tốt hơn nữa là khỉ đuôi ngắn, và ví dụ khỉ cynomolgus hoặc khỉ Rhesus, trong số chúng khỉ cynomolgus là tiện lợi để dùng trong kiểm tra.

Kháng thể có ái lực đối với cả hTfR người và khỉ có lợi thế ở chỗ nó cho phép quan sát dược động học của kháng thể được dùng cho cơ thể bằng cách sử dụng khỉ. Ví dụ, nếu một thuốc được phát triển bằng cách sử dụng kháng thể kháng hTfR theo sáng chế, quá trình phát triển thuốc này có thể được thúc đẩy một cahs đáng kể, do nghiên cứu dược động học của nó có thể được tiến hành bằng cách sử dụng khỉ.

Kháng thể có ái lực tương đối cao đối với hTfR và có ái lực đồng thời đối với cả TfR người và khỉ, có hằng số phân ly với TfR khỉ, như được xác định bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 7, mà tốt hơn là không lớn hơn 5×10^{-8} M, tốt hơn nữa là không lớn hơn 2×10^{-8} M, và cũng tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-8} M. Ví dụ, kháng thể có hằng số phân ly bằng 1×10^{-13} M đến 2×10^{-8} M, hoặc 1×10^{-13} M đến 2×10^{-8} M là được ưu tiên. Áp dụng tương tự nếu kháng thể là kháng thể chuỗi đơn.

Nếu kháng thể có ái lực tương đối cao đối với hTfR và thu được bằng phương pháp nêu trên trong đó các tế bào sản sinh kháng thể ái lực cao được lựa chọn, là kháng thể của động vật không phải người, nó có thể được chuyển hóa thành kháng thể được làm giống như của người. Kháng thể được làm giống như của người là kháng thể được tạo ra bằng cách thay thế một vùng thích hợp của kháng thể người bằng trình tự axit amin của một phần của vùng biến đổi (chẳng hạn, toàn bộ hoặc một phần CDR) của kháng thể từ động vật không phải người (ghép trình tự này vào vùng thích hợp của kháng thể người) trong khi vẫn duy trì tính đặc hiệu đối với kháng nguyên. Ví dụ về kháng thể được làm giống như của người bao gồm kháng thể được tạo ra bằng cách thay thế ba vùng quyết định bổ trợ (CDR) trong globulin miễn dịch chuỗi nhẹ và ba vùng quyết định bổ trợ (CDR) trong globulin miễn dịch chuỗi nặng, cả hai đều tạo

thành kháng thể người, bằng các CDR của động vật có vú không phải người. Mặc dù không có giới hạn cụ thể về các loài sinh học mà các CDR dùng để kết hợp vào kháng thể người được bắt nguồn từ đó miễn là nó là động vật có vú không phải người, tốt hơn là các loài này là chuột nhắt, chuột cống, thỏ, ngựa, và động vật linh trưởng không phải người, tốt hơn nữa là chuột nhắt và chuột cống, và cũng tốt hơn nữa là chuột nhắt.

Phương pháp điều chế kháng thể được làm giống như của người là đã biết trong lĩnh vực và phổ biến nhất là phương pháp trong đó trình tự axit amin của các vùng quyết định bổ trợ (CDR) trong vùng biến đổi của kháng thể người được thay bằng các CDR của kháng thể của động vật có vú không phải người, như được đề xuất bởi Winter et al. (Verhoeyen M. Science. 239, 1534-1536 (1988)). Cũng biết rõ rằng trong một số trường hợp, phần tương ứng của kháng thể người nhận cần được thay thế không chỉ bằng các CDR của kháng thể động vật có vú không phải người mà còn bằng các trình tự axit amin xuất hiện trong các vùng bên ngoài các CDR đóng vai trò duy trì cấu trúc của các CDR hoặc gắn kết với kháng nguyên, để tái tạo hoạt tính mà kháng thể cho có từ ban đầu (Queen C. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 86. 10029-10033 (1989)). Ở đây, các vùng bên ngoài các CDR được gọi là các vùng khung (framework regions - FR).

Vì vậy, việc điều chế kháng thể được làm giống như của người bao gồm các quá trình cấy ghép các CDR (và các FR bên cạnh, tùy từng trường hợp) của kháng thể động vật có vú không phải người vào vị trí của các CDR (và các FR bên cạnh chúng, tùy từng trường hợp) trong vùng biến đổi của kháng thể người. Trong các quá trình như vậy, có thể thu được vùng khung bắt đầu của vùng biến đổi của kháng thể người từ cơ sở dữ liệu ADN công khai và các cơ sở dữ liệu tương tự mà nó bao gồm gen kháng thể dòng tinh. Ví dụ, các trình tự ADN dòng tinh, cũng như là trình tự axit amin, của các vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ ở người có thể được chọn từ cơ sở dữ liệu dòng tinh người "VBase" (sẵn có trên Internet, ở www.mrc- cpe.cam.ac.uk/vbase). Ngoài ra, chúng có thể được chọn từ các trình tự ADN và các trình tự axit amin được mô tả trong các tài liệu công bố, như "Kabat EA. Sequences of Proteins of

Immunological Interest, 5th Ed., U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No.91-3242 (1991); "Tomlinson IM. J. fol. Biol. 227. 776-98 (1992)"; và "Cox JPL. Eur. J Immunol. 24:827-836 (1994)".

Như đã nêu ở trên, trong kháng thể được làm giống như của người, các vùng của kháng thể động vật có vú không phải người được cấy ghép vào các vùng biến đổi của kháng thể người ban đầu thường bao gồm bản thân các CDR, hoặc các CDR và các phần FR bên cạnh của chúng. Tuy nhiên, các FR như vậy được cấy ghép cùng với các CDR cũng đóng vai trò trong việc duy trì cấu trúc của CDR hoặc trong việc gắn kết với kháng nguyên, vì vậy có chức năng quan trọng trong việc quyết định tính bổ trợ của kháng thể, và vì vậy thuật ngữ "CDR" trong sáng chế này dùng để chỉ những vùng như vậy mà được, hoặc có thể được, lấy ra từ kháng thể động vật có vú không phải người và được ghép vào kháng thể được làm giống như của người, trong quá trình điều chế kháng thể được làm giống như của người. Vì vậy, vùng thường được xem là vùng FR được bao gồm trong CDR trong sáng chế này miễn là chúng có vai trò trong việc duy trì cấu trúc của CDR hoặc trong việc gắn kết với kháng nguyên, và vì vậy được xem là có chức năng quan trọng trong việc quyết định tính bổ trợ của kháng nguyên.

Kháng thể kháng hTfR theo sáng chế, khi được dùng cho cơ thể, chẳng hạn, bằng cách tiêm qua đường tĩnh mạch, gắn kết hữu hiệu với hTfR tồn tại trên các tế bào nội mô của các mao mạch trong não. Kháng thể đã gắn kết với hTfR được đi vào não qua hàng rào máu não bằng các cơ chế như nội nhập bào, và xuyên bào. Vì vậy, bằng cách gắn kết với kháng thể kháng hTfR theo sáng chế, các protein, hợp chất có phân tử lượng thấp và các chất tương tự mà cần thực hiện chức năng trong não, có thể được phân phối một cách hữu hiệu vào não qua hàng rào máu não. Hơn nữa, kháng thể kháng hTfR theo sáng chế, sau khi đi qua hàng rào máu não, có thể đi đến các mô mềm trong não, và các tế bào dạng thần kinh trong vùng đồi hải mã; các tế bào Purkinje và các tế bào tương tự của tiểu não hoặc ít nhất một trong số chúng. Và người ta cũng mong đợi rằng nó đạt đến được các tế bào dạng thần kinh trong thể vân của

não; và các tế bào dạng thần kinh trong vùng chất đen của não giữa. Vì vậy, có thể khiến cho một trong số các protein, hợp chất có phân tử lượng thấp và các chất tương tự này, mà nó có thể tác động lên các mô hoặc tế bào, đạt đến các mô hoặc tế bào, bằng cách gắn kết nó với kháng thể kháng hTfR theo sáng chế.

Kháng thể kháng hTfR theo sáng chế có thể là phương tiện hữu hiệu để khiến cho các hợp chất này (protein, hợp chất có phân tử lượng thấp và các hợp chất tương tự) vận chuyển từ máu vào não và thực hiện chức năng tại đây, mà các hợp chất này theo cách khác không thể đi qua hàng rào máu não khi được dùng trong tĩnh mạch và vì vậy không thể hoặc khó có thể thể hiện các chức năng sinh lý hoặc dược lý của chúng trong não. Cụ thể, kháng thể kháng hTfR theo sáng chế, sau khi đi qua hàng rào máu não, có thể đi đến các mô mềm trong não, và các tế bào dạng thần kinh trong vùng đồi hải mã; các tế bào Purkinje và các tế bào tương tự của tiểu não hoặc ít nhất một trong số chúng. Và người ta cũng mong đợi rằng nó đạt đến được các tế bào dạng thần kinh trong thể vân của não; cũng như là các tế bào dạng thần kinh trong vùng chất đen của não giữa. Vì vậy, có thể khiến cho các hợp chất này thực hiện chức năng hoặc làm gia tăng chức năng của chúng, trong các mô hoặc tế bào trong não bằng cách sử dụng các hợp chất này kết hợp với phân tử kháng thể kháng hTfR ngoài đường tiêu hóa, chẳng hạn, dùng trong tĩnh mạch.

Để gắn kết kháng thể kháng hTfR với những hợp chất như vậy (protein, hợp chất có phân tử lượng thấp và các hợp chất tương tự), phương pháp gắn kết chúng cùng với nhau thông qua đoạn liên kết không phải peptit hoặc đoạn liên kết peptit là sẵn có. Để làm đoạn liên kết không phải peptit, có thể sử dụng polyetylen glycol, polypropylen glycol, copolyme của etylen glycol và propylen glycol, polyoxyetylat polyol, rượu polyvinylic, polysacarit, dextran, polyvinyl ete, polyme dễ phân hủy sinh học, lipit được polyme hóa, chitin, và axit hyaluronic, hoặc dẫn xuất của nó, hoặc tổ hợp của chúng. Đoạn liên kết peptit là chuỗi peptit bao gồm từ 1 đến 50 axit amin được nối bởi liên kết peptit hoặc dẫn xuất của nó, mà đầu tận cùng N và đầu tận cùng C của nó được liên kết cộng hóa trị với kháng thể kháng hTfR hoặc với hợp chất như

protein hoặc hợp chất có phân tử lượng thấp và các hợp chất tương tự, tương ứng, để gắn kết kháng thể kháng hTfR với hợp chất như protein, hợp chất có phân tử lượng thấp này.

Cụ thể, thể liên hợp mà được tạo thành bằng cách gắn kết kháng thể kháng hTfR theo sáng chế với một protein (A) mong muốn khác nhờ đoạn liên kết không phải peptit là PEG, được gọi là "kháng thể kháng hTfR-PEG-protein". Kháng thể kháng hTfR-PEG-protein có thể được điều chế bằng cách trước tiên cho kháng thể kháng hTfR này gắn kết với PEG để tạo thành kháng thể kháng hTfR-PEG, và sau đó cho kháng thể kháng hTfR-PEG này gắn kết với protein (A) khác. Theo cách khác, kháng thể kháng hTfR-PEG-protein có thể được điều chế bằng cách trước tiên cho protein (A) khác gắn kết với PEG để tạo thành "protein-PEG", và sau đó cho "protein-PEG" này gắn kết với kháng thể kháng hTfR. Để gắn kết PEG với kháng thể kháng hTfR và protein (A) khác, PEG được sử dụng được cải biến với các nhóm chức như cacbonat, cacbonylimidazol, este có hoạt tính của axit carboxylic, azlacton, imit thion mạch vòng, isoxyanat, isothioxyanat, imidat, aldehyt hoặc các nhóm chức tương tự. Các nhóm chức như vậy được đưa vào PEG phản ứng chủ yếu với các nhóm amin trong kháng thể kháng hTfR và protein A khác để PEG liên kết cộng hóa trị với kháng thể hTfR và protein A khác này. Mặc dù không có giới hạn cụ thể đối với phân tử lượng và cấu hình của PEG được dùng trong sáng chế này, phân tử lượng trung bình (MW) của nó là như sau: tốt hơn là MW=500 đến 60000, tốt hơn nữa là MW=500 đến 20000. Ví dụ, PEG như vậy là các PEG mà phân tử lượng trung bình của nó bằng khoảng 300, khoảng 500, khoảng 1000, khoảng 2000, khoảng 4000, khoảng 10000, khoảng 20000, và các PEG tương tự. PEG tốt hơn là được dùng ở dạng đoạn liên kết không phải peptit. Kháng thể kháng hTfR có thể được gắn kết với hợp chất có phân tử lượng thấp mong muốn theo cách tương tự như đã nêu ở trên.

Ví dụ, "kháng thể kháng hTfR-PEG" có thể được điều chế bằng cách trộn kháng thể kháng hTfR với polyetylen glycol mang các nhóm aldehyt làm các nhóm chức (ALD-PEG-ALD) sao cho tỷ lệ phân tử gam giữa ALD-PEG-ALD và kháng thể

là 11, 12,5, 15, 110, 120 và các giá trị tương tự, và sau đó bổ sung chất khử như $NaCNBH_3$ vào hỗn hợp để khiến cho phản ứng xảy ra. Tiếp theo, bằng cách cho "kháng thể kháng hTfR-PEG" phản ứng với protein (A) khác với sự có mặt của chất khử như $NaCNBH_3$, thu được "kháng thể kháng hTfR-PEG-protein". Ngược lại, cũng có thể thu được "kháng thể kháng hTfR-PEG-protein" bằng cách trước tiên cho protein (A) khác gắn kết với ALD-PEG-ALD để điều chế "protein-PEG", và sau đó cho "protein-PEG" này gắn kết với kháng thể kháng hTfR.

Kháng thể kháng hTfR và một protein A khác cũng có thể được gắn kết với nhau nhờ các liên kết peptit bằng cách cho kháng thể kháng hTfR chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ, ở phía đầu tận cùng C hoặc đầu tận cùng N của nó, liên kết qua một trình tự liên kết hoặc trực tiếp, với đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của protein (A) khác, tương ứng. Vì vậy, có thể thu được protein dung hợp giữa kháng thể kháng hTfR và một protein A khác bằng cách hợp nhất đoạn ADN vào trong một vectơ biểu hiện của động vật có vú, trong đó cADN mã hóa protein (A) khác này nằm trực tiếp trong khung, hoặc thông qua một đoạn ADN mã hóa trình tự liên kết, ở đầu 3' hoặc đầu 5' của cADN mã hóa chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR, và nuôi cấy tế bào của động vật có vú mà trong đó vectơ biểu hiện nêu trên đã được đưa vào. Khi đoạn ADN mã hóa protein (A) khác được liên kết với chuỗi nặng, vectơ biểu hiện của động vật có vú trong đó đoạn cADN mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR cũng được đưa vào cùng tế bào chủ, trong khi nếu đoạn ADN mã hóa protein (A) khác này được liên kết với chuỗi nhẹ, vectơ biểu hiện của động vật có vú trong đó đoạn cADN mã hóa chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR cũng được hợp nhất vào cùng các tế bào chủ này. Trong trường hợp mà ở đó kháng thể kháng hTfR là kháng thể chuỗi đơn, có thể thu được protein dung hợp bao gồm kháng thể kháng hTfR và một protein A khác được kết hợp bằng cách hợp nhất đoạn ADN vào một vectơ biểu hiện (đối với tế bào đã có nhân điển hình như động vật có vú và nấm men, hoặc đối với tế bào chưa có nhân điển hình như E. coli.), đoạn ADN mà được tạo thành bằng cách cho cADN mã hóa protein (A) khác liên kết, ở đầu 5' hoặc ở đầu 3' của nó, trực tiếp hoặc

qua đoạn ADN mã hóa trình tự liên kết, với cADN mã hóa kháng thể chuỗi đơn kháng hTfR, và cho phép protein dung hợp này được biểu hiện trong các tế bào mà vectơ biểu hiện được đưa vào đó.

Trong protein dung hợp thuộc loại mà trong đó protein (A) khác được liên kết với kháng thể kháng hTfR chuỗi nhẹ ở phía đầu tận cùng C của nó, kháng thể kháng thụ thể transferrin người gồm có trình tự axit amin bao gồm toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và trình tự axit amin bao gồm toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nặng, và protein (A) khác được liên kết với chuỗi nhẹ của kháng thể kháng thụ thể transferrin người ở phía đầu tận cùng C của nó. Ở đây, chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR và một protein A khác có thể được liên kết với nhau, trực tiếp hoặc qua một đoạn liên kết.

Trong protein dung hợp thuộc loại mà trong đó protein (A) khác được liên kết với kháng thể kháng hTfR chuỗi nặng ở phía đầu tận cùng C của nó, kháng thể kháng thụ thể transferrin người gồm có trình tự axit amin bao gồm toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và trình tự axit amin bao gồm toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nặng, và protein (A) khác được liên kết với chuỗi nặng của kháng thể kháng thụ thể transferrin người ở phía đầu tận cùng C của nó. Ở đây, chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR và một protein A khác có thể được liên kết với nhau, trực tiếp hoặc qua một đoạn liên kết.

Trong protein dung hợp thuộc loại mà trong đó protein (A) khác được liên kết với kháng thể kháng hTfR chuỗi nhẹ ở phía đầu tận cùng N của nó, kháng thể kháng thụ thể transferrin người gồm có trình tự axit amin bao gồm toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và trình tự axit amin bao gồm toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nặng, và protein (A) khác được liên kết với chuỗi nhẹ của kháng thể kháng thụ thể transferrin người ở phía đầu tận cùng N của nó. Ở đây, chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR và một protein A khác có thể được liên kết với nhau, trực tiếp hoặc qua một đoạn liên kết.

Trong protein dung hợp thuộc loại mà trong đó protein (A) khác được liên kết

với kháng thể kháng hTfR chuỗi nặng ở phía đầu tận cùng N của nó, kháng thể kháng thụ thể transferrin người gồm có trình tự axit amin bao gồm toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và trình tự axit amin bao gồm toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nặng, và protein (A) khác được liên kết với chuỗi nặng của kháng thể kháng thụ thể transferrin người ở phía đầu tận cùng N của nó. Ở đây, chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR và một protein A khác có thể được liên kết với nhau, trực tiếp hoặc qua một đoạn liên kết.

Trong các protein nêu trên, trình tự liên kết được đặt giữa kháng thể kháng hTfR và một protein A khác có thể là chuỗi peptit bao gồm tốt hơn là từ 1 đến 50, tốt hơn nữa là từ 1 đến 17, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 10, thậm chí tốt hơn nữa là từ 1 đến 5 axit amin, và phù hợp với protein (A) khác được liên kết với kháng thể kháng hTfR, số lượng axit amin của trình tự liên kết này có thể được điều chỉnh đến 1, 2, 3, từ 1 đến 17, từ 1 đến 10, từ 10 đến 40, từ 20 đến 34, từ 23 đến 31, từ 25 đến 29, 27, v.v., nếu cần. Mặc dù không có giới hạn cụ thể về trình tự axit amin của trình tự liên kết miễn là kháng thể kháng hTfR được liên kết với nó vẫn có ái lực đối với hTfR và một protein A khác được liên kết bởi trình tự liên kết này cũng thể hiện hoạt tính sinh lý của chính protein này trong điều kiện sinh lý, đoạn liên kết này tốt hơn là có thể bao gồm glyxin và serin. Ví dụ về một trong số các đoạn liên kết như vậy bao gồm một axit amin đơn lẻ là glyxin hoặc serin, trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3), trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:4), trình tự axit amin Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:5), hoặc trình tự bao gồm từ 1 đến 10 hoặc từ 2 đến 5 trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin này được liên kết nối tiếp. Chúng có trình tự bao gồm từ 1 đến 50, từ 2 đến 17, từ 2 đến 10, từ 10 đến 40, từ 20 đến 34, từ 23 đến 31, từ 25 đến 29, hoặc 27 axit amin. Ví dụ, tốt hơn là các trình tự bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser có thể được dùng làm trình tự liên kết. Ngoài ra, tốt hơn là sử dụng trình tự liên kết bao gồm 27 axit amin mà bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser được theo sau bởi năm bản sao của trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser

(SEQ ID NO:3) được liên kết nối tiếp.

Trong protein dung hợp gồm kháng thể kháng hTfR và một protein A khác, trong đó kháng thể kháng hTfR là kháng thể chuỗi đơn, trình tự axit amin bao gồm toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nhẹ globulin miễn dịch và trình tự axit amin bao gồm toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nặng globulin miễn dịch được liên kết, thường là qua một trình tự liên kết. Nếu ái lực của kháng thể kháng hTfR đối với hTfR vẫn còn, trình tự axit amin bắt nguồn từ chuỗi nhẹ này có thể được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với trình tự liên kết mà trình tự liên kết này được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với trình tự axit amin bắt nguồn từ chuỗi nặng này hoặc, ngược lại, trình tự axit amin bắt nguồn từ chuỗi nặng này có thể được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với trình tự liên kết mà trình tự liên kết này được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó, với trình tự axit amin bắt nguồn từ chuỗi nhẹ.

Trình tự liên kết nằm giữa chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của globulin miễn dịch là chuỗi peptit chứa tốt hơn là từ 2 đến 50, tốt hơn nữa là từ 8 đến 50, cũng tốt hơn nữa là từ 10 đến 30, thậm chí tốt hơn nữa là từ 12 đến 18 hoặc từ 15 đến 25, và ví dụ là 15 hoặc 25 axit amin. Mặc dù không có giới hạn cụ thể về trình tự liên kết miễn là kháng thể kháng hTfR được tạo thành từ cả hai chuỗi mà được liên kết qua trình tự liên kết này vẫn có ái lực đối với hTfR và protein A khác được liên kết với kháng thể này cũng thể hiện hoạt tính sinh lý của chính protein này trong điều kiện sinh lý, trình tự liên kết này tốt hơn là bao gồm glyxin, hoặc glyxin và serin. Ví dụ về các đoạn liên kết như vậy bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Gly, trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3), trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:4), trình tự axit amin Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly) (SEQ ID NO:5), hoặc trình tự bao gồm từ 2 đến 10 hoặc từ 2 đến 5 trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin này được liên kết nối tiếp. Phương án được ưu tiên của trình tự liên kết như vậy bao gồm 15 axit amin gồm có ba bản sao trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3) được liên kết

nối tiếp.

Trong trường hợp ở đó kháng thể kháng hTfR là kháng thể chuỗi đơn, ví dụ về các phương án cụ thể của protein dung hợp giữa kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR theo sáng chế và một protein A khác là protein dung hợp bao gồm protein (A) khác được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một trình tự liên kết thứ nhất bao gồm 27 axit amin gồm có trình tự axit amin Gly-Ser được theo sau bởi năm bản sao của trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3) được liên kết nối tiếp, với kháng thể chuỗi đơn. Ví dụ về phương án được ưu tiên của kháng thể chuỗi đơn được dùng ở đây là kháng thể có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:277, mà bao gồm trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR như được nêu trong SEQ ID NO:205 mà được liên kết, ở đầu tận cùng C của nó và qua trình tự liên kết thứ nhất bao gồm 15 axit amin gồm có ba bản sao trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3) được liên kết nối tiếp, với vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:191.

Khi kháng thể kháng hTfR là kháng thể chuỗi đơn, protein dung hợp như vậy có thể được sản xuất bằng cách, ví dụ, biến nạp các tế bào chủ như tế bào của động vật có vú với vectơ biểu hiện mang đoạn ADN được hợp nhất chứa trình tự nucleotit mã hóa protein dung hợp này, và sau đó nuôi cấy các tế bào chủ.

Ngoài ra, trong sáng chế này, khi chuỗi peptit bao gồm nhiều trình tự liên kết, để thuận tiện, mỗi trình tự trong số các trình tự liên kết này được gọi tên, từ phía đầu tận cùng N, trình tự liên kết thứ nhất, trình tự liên kết thứ hai, v.v..

Trong trường hợp ở đó kháng thể kháng hTfR là Fab, ví dụ về các phương án cụ thể của protein dung hợp giữa kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và một protein A khác theo sáng chế là protein dung hợp mà bao gồm protein (A) khác được dung hợp, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một trình tự liên kết bao gồm 27 axit amin gồm có Gly-Ser được theo sau bởi năm bản sao trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3) được liên kết nối tiếp, với vùng mang vùng biến

đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR và vùng C_H1. Mặc dù ngoài vùng C_H1 ở đây, một phần của vùng bản lề có thể được bao hàm, vùng bản lề này không bao hàm gốc xystein mà sẽ tạo thành liên kết disulfua giữa các chuỗi nặng.

Mặc dù không có giới hạn cụ thể đối với protein (A) khác được liên kết với kháng thể kháng hTfR, đây là protein mà có thể thể hiện hoạt tính sinh lý của nó trong cơ thể, và cụ thể, protein mà cần có trong não và thể hiện chức năng của nó ở não nhưng do bản thân nó không có khả năng đi qua hàng rào máu não nên không thể thực hiện được chức năng trong não nếu chỉ được dùng một cách đơn thuần trong tĩnh mạch. Ví dụ về các protein như vậy bao gồm enzym tiêu thể như yếu tố tăng trưởng thần kinh (NGF), α-L-iduronidaza, iduronat 2-sulfataza, glucocerebrosidaza, β-galactosidaza, protein hoạt hóa GM2, β-hexosaminidaza A, β-hexosaminidaza B, N-axetylglucosamin-1-phosphotransferaza, α-mannosidaza, β-mannosidaza, galactosylxeramidaza, saposin C, arylsulfataza A, α-L-fucosidaza, aspartylglucosaminidaza, α-N-axetylgalactosaminidaza, sphingomyelinaza có tính axit, α-galactosidaza A, β-glucuronidaza, heparan N-sulfataza, α-N-axetylglucosaminidaza, axetyl CoA:α-glucosaminit N-axetyltransferaza, N-axetylglucosamin-6-sulfat sulfataza, xeramidaza có tính axit, amylo-1,6-glucosidaza, sialidaza, aspartylglucosaminidaza (PPT1), tripeptidyl-peptidaza 1, hyaluronidaza 1, CLN1, và CLN2, và các protein tương tự.

Yếu tố tăng trưởng thần kinh (NGF) được liên kết với kháng thể kháng hTfR có thể được sử dụng làm tác nhân trị liệu đối với chứng mất trí ở bệnh Alzheimer; α-L-iduronidaza liên kết với kháng thể kháng hTfR dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương trong hội chứng Hurler hoặc hội chứng Hurler-Scheie; iduronat 2-sulfataza liên kết với kháng thể kháng hTfR dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở hội chứng Hunter; glucocerebrosidaza dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh Gaucher; β-galactosidaza dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh GM1 gangliosidosis các loại từ 1 đến 3;

protein hoạt hóa GM2 dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh GM2-gangliosidosis, biến thể AB; β-hexosaminidaza A dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh Sandhoff's và bệnh Tay-Sachs; β-hexosaminidaza B dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh Sandhoff's; N-axetylglucosamin-1-phosphotransferaza dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh tế bào I; α-mannosidaza dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh α-mannosidosis; β-mannosidaza dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh β-mannosidosis; galactosylceramidaza dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh Krabbe; saposin C dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh tích trữ tương tự Gaucher arylsulfataza A dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh thoái hóa chất trắng biến sắc (loạn dưỡng chất trắng biến sắc); α-L-fucosidaza dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh fucosidosis; aspartylglucosaminidaza dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh aspartylglucosaminuria; α-N-axetylgalactosaminidaza dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh Schindler và bệnh Kawasaki; sphingomyelinaza có tính axit dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh Niemann-Pick; α-galactosidaza A dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh Fabry; β-glucuronidaza dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở hội chứng Sly; heparan N-sulfataza, α-N-axetylglucosaminidaza, axetyl CoA:α-glucosaminit N-axetyltransferaza và N-axetylglucosamin-6-sulfat sulfataza dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở hội chứng Sanfilippo; xeramidaza axit dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh Farber; amylo-1,6-glucosidaza dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối

loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh Cori's (bệnh Forbes-Cori's); sialidaza dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh thiếu hụt sialidaza; aspartylglucosaminidaza dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh aspartylglucosaminuria; palmitoyl protein thioesteraza 1 (PPT-1) dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh lipofuscinosis dạng sáp của tế bào thần kinh hoặc bệnh Santavuori-Haltia; tripeptidyl-peptidaza 1 (TPP-1) dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh lipofuscinosis dạng sáp của tế bào thần kinh hoặc bệnh Jansky-Bielschowsky; hyaluronidaza 1 dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh thiếu hụt hyaluronidaza; CLN1 và CLN2 dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh Batten. Cụ thể, kháng thể kháng hTfR theo sáng chế, sau khi đi qua hàng rào máu não, đạt đến mô mềm thuộc não và các tế bào dạng thần kinh thuộc vùng đồi hải mã, và các tế bào Purkinje thuộc tiểu não, và cũng được mong đợi đạt đến các tế bào dạng thần kinh thuộc thể vân của não và các tế bào dạng thần kinh thuộc vùng chất đen của não giữa. Vì vậy, kháng thể kháng hTfR có thể được dung hợp với các protein mà cần thể hiện chức năng của chúng trong các mô hoặc tế bào này để củng cố tác dụng dược lý của những protein này. Tuy nhiên, ứng dụng trong y học của chúng không chỉ giới hạn ở đó.

Ngoài ra, ví dụ về các protein có thể thể hiện tác dụng dược lý của chúng khi được liên kết với kháng thể kháng hTfR bao gồm: enzym tiêu thể, yếu tố dinh dưỡng thần kinh mi (CNTF), yếu tố dinh dưỡng thần kinh bắt nguồn từ dòng tế bào thần kinh đệm (GDNF), neurotrophin-3, neurotrophin-4/5, neurotrophin-6, neuregulin-1, erythropoietin, darbepoetin, activin, yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi cơ bản (bFGF), yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi 2 (FGF2), yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGF), yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch (VEGF), interferon α, interferon β, interferon γ, interleukin 6, yếu tố kích thích tạo cụm bạch cầu hạt - đại thực bào (GM-CSF), yếu tố kích thích tạo cụm bạch cầu hạt (G-CSF), yếu tố kích thích tạo cụm đại thực bào(M-CSF),

cytokines, thụ thể yếu tố hoại tử khối u α (thụ thể TNF-α), phối tử PD-1, enzym có hoạt tính phân giải β-amyloid, kháng thể khángβ-amyloid, kháng thể kháng BACE, kháng thể kháng EGFR , kháng thể kháng PD-1, kháng thể kháng PD-L1, kháng thể kháng HER2, kháng thể kháng TNF-α, và các thuốc kháng thể khác.

Enzym tiêu thể liên kết với kháng thể kháng hTfR có thể được sử dụng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh dự trữ lysosoms; CNTF dùng làm tác nhân trị liệu đối với bệnh xơ cứng teo cơ một bên; GDNF, neurotrophin-3 và neurotrophin-4/5 dùng làm tác nhân trị liệu đối với chứng thiếu máu não cục bộ; GDNF dùng làm tác nhân trị liệu đối với bệnh Parkinson; neuregulin-1 dùng làm tác nhân trị liệu đối với chứng tâm thần phân liệt; erythropoietin và darbepoetin dùng làm tác nhân trị liệu đối với chứng thiếu máu não cục bộ; bFGF và FGF2 dùng làm tác nhân trị liệu đối với rối loạn hệ thần kinh trung ương do chấn thương; đối với phục hồi sau phẫu thuật não và phẫu thuật cột sống; enzym có hoạt tính phân giải β-amyloid, kháng thể khángβ-amyloid và kháng thể kháng BACE dùng làm tác nhân trị liệu đối với bệnh Alzheimer; kháng thể kháng EGFR , kháng thể kháng PD-1, kháng thể kháng PD-L1, và kháng thể kháng HER2 dùng làm tác nhân trị liệu đói với khối u thuộc hệ thần kinh trung ương bao gồm khối u não; và TNFαR-kháng thể kháng hTfR dùng làm tác nhân trị liệu đối với chứng thiếu máu não cục bộ và viêm não.

Protein có thể thích hợp để dùng làm "protein (A) khác" để được dung hợp với kháng thể kháng hTfR thường bao gồm các tác nhân trị liệu đối với các bệnh như bệnh thoái hóa thần kinh như bệnh Alzheimer, bệnh Parkinsona, và bệnh Huntingtone; các rối loạn tâm thần như chứng tâm thần phân liệt và chứng trầm cảm; bệnh đa xơ cứng; bệnh xơ cứng teo cơ một bên; khối u thuộc hệ thần kinh trung ương bao gồm khối u não; bệnh dự trữ lysosoms đi kèm với bệnh não; bệnh tích tụ glycogen; bệnh loạn dưỡng cơ; chứng thiếu máu não cục bộ; viêm não; bệnh prion; rối loạn hệ thần kinh trung ương do chấn thương. Ngoài ra, nhìn chung, tác nhân trị liệu đối với các bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương do virus và vi khuẩn gây ra cũng có thể được dùng làm

protein (A) khác để được dung hợp với kháng thể kháng hTfR. Hơn nữa, nhìn chung dược phẩm mà có thể được sử dụng để phục hồi sau phẫu thuật não hoặc phẫu thuật cột sống cũng có thể được dùng làm "protein (A) khác" để được dung hợp với kháng thể kháng hTfR.

Ngoài các protein kiểu tự nhiên (kiểu hoang) nêu trên, protein (A) khác để liên kết với kháng thể kháng hTfR cũng có thể là một trong số các chất tương tự của chúng trong đó một hoặc nhiều axit amin của các protein kiểu tự nhiên (kiểu hoang) này được cải biến, chẳng hạn, được thay thế bằng các axit amin khác hoặc được khuyết đoạn, miễn là chúng có toàn bộ hoặc một phần chức năng của protein gốc ban đầu tương ứng của chúng. Khi thay thế một hoặc nhiều axit amin bằng các axit amin khác, số lượng axit amin được thay thế tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin, số lượng axit amin được khuyết đoạn tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3. Việc kết hợp giữa thế và làm khuyết đoạn axit amin như vậy cũng có thể được thực hiện để tạo ra các chất tương tự mong muốn. Hơn nữa, các trình tự axit amin được tạo ra bằng cách bổ sung một hoặc nhiều axit amin vao bên trong, hoặc ở phía đầu tận cùng N hoặc ở phía đầu tận cùng C của, trình tự axit amin của protein kiểu tự nhiên (kiểu hoang) hoặc các chất tương tự của chúng, cũng được bao hàm trong các protein được nêu ở trên miễn là chúng có một phần hoặc toàn bộ chức năng của protein gốc ban đầu tương ứng của chúng. Số lượng axit amin được bổ sung vào ở đây tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3. Cũng có thể điều chế các chất tương tự mong muốn với các protein ban đầu bằng cách kết hợp bổ sung, thế, và làm khuyết đoạn các axit amin.

Ngoài ra, trong trường hợp ở đó đột biến được đưa vào protein (A) khác bằng cách bổ sung một hoặc nhiều axit amin ở các đầu tận cùng C hoặc đầu tận cùng N của nó, nếu các axit amin được bổ sung nằm giữa protein và kháng thể kháng hTfR khi chúng được dung hợp, các axit amin được bổ sung này cấu thành một phần của đoạn liên kết.

I2S (hI2S) người kiểu tự nhiên là enzym tiêu thể bao gồm 525 axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:246. Ví dụ cụ thể về protein dung hợp theo sáng chế giữa kháng thể kháng hTfR và một protein A khác là loại protein trong đó chuỗi nặng kháng thể kháng hTfR được dung hợp, ở đầu tận cùng C của nó và qua trình tự axit amin Gly-Ser làm trình tự liên kết, với I2S người kiểu tự nhiên. Ví dụ về loại protein dung hợp như vậy bao gồm:

(1) protein dung hợp trong đó chuỗi nhẹ của nó chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:164, và chuỗi nặng của nó được liên kết bởi liên kết peptit, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua trình tự liên kết Gly-Ser, với I2S người để tạo thành trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:247,

(2) protein dung hợp trong đó chuỗi nhẹ của nó chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:180, và chuỗi nặng của nó được liên kết bởi liên kết peptit, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua trình tự liên kết Gly-Ser, với I2S người để tạo thành trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:249, và

(3) protein dung hợp mà chuỗi nhẹ của nó chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:196, và chuỗi nặng của nó được liên kết bởi liên kết peptit, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua trình tự liên kết Gly-Ser, với I2S người để tạo thành trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:251.

Trong sáng chế này, mặc dù thuật ngữ "I2S người" hoặc "hI2S" dùng để chỉ cụ thể hI2S có trình tự axit amin giống với hI2S kiểu tự nhiên, nó cũng bao gồm các hI2S có trình tự axit amin được tạo ra bằng cách đưa các đột biến, như sự thế, sự khuyết đoạn, sự bổ sung và đột biến tương tự, vào trình tự axit amin của hI2S kiểu tự nhiên, miễn là chúng có hoạt tính I2S. Khi thay thế một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của hI2S bằng các axit amin khác, số lượng axit amin được thay thế tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là từ 1 đến 2. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của hI2S, số lượng axit amin được khuyết đoạn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể đưa

vào đột biến kết hợp bao gồm sự thế và sự khuyết đoạn axit amin như vậy. Khi bổ sung một hoặc nhiều axit amin vào hI2S, chúng có thể được bổ sung, vào bên trong, hoặc phía đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của, trình tự axit amin của hI2S, và số lượng axit amin được bổ sung tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể đưa vào đột biến kết hợp bao gồm sự bổ sung, sự thế và sự khuyết đoạn axit amin như vậy. Trình tự axit amin của hI2S đột biến có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95% với trình tự axit amin của hI2S ban đầu.

Ở đây, hI2S có hoạt tính I2S có nghĩa là hI2S được dung hợp với kháng thể kháng hTfR có hoạt tính không nhỏ hơn 3% hoạt tính mà hI2S kiểu tự nhiên thực chất có. Tuy nhiên, hoạt tính này tốt hơn là không nhỏ hơn 10%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 20%, cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 50%, thậm chí tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 80% hoạt tính mà hI2S kiểu tự nhiên thực chất có. Áp dụng tương tự khi hI2S dung hợp với kháng thể kháng hTfR được đột biến.

Protein dung hợp giữa kháng thể kháng hTfR và I2S người có thể được tạo ra, ví dụ, bằng cách biến nạp các tế bào chủ, như tế bào của động vật có vú, với vectơ biểu hiện mang đoạn ADN hợp nhất chứa trình tự nucleotit như được nêu trong SEQ ID NO:250 mã hóa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:249 và vectơ biểu hiện mang đoạn ADN hợp nhất chứa trình tự nucleotit như được nêu trong SEQ ID NO:181 mã hóa chuỗi nhẹ kháng thể kháng hTfR mang trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:180, và sau đó nuôi cấy các tế bào chủ này. Vì vậy, protein dung hợp được tạo ra có thể được sử dụng làm tác nhân trị liệu đối với bệnh Hunter, cụ thể, tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm với bệnh Hunter.

Ngoài ra, trong trường hợp ở đó kháng thể kháng hTfR hoặc I2S người được đột biến bằng cách bổ sung một hoặc nhiều axit amin vào chúng ở đầu tận cùng C hoặc đầu tận cùng N của chúng, nếu các axit amin được bổ sung nằm giữa kháng thể kháng

hTfR và I2S người, các axit amin được bổ sung này tạo thành một phần của đoạn liên kết.

Mặc dù ví dụ về các protein dung hợp giữa kháng thể kháng hTfR và I2S người được mô tả trên đây, không có giới hạn cụ thể đối với trình tự axit amin của CDR của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR trong các phương án được ưu tiên của protein dung hợp giữa kháng thể kháng hTfR và I2S người miễn là kháng thể này có ái lực đặc hiệu đối với hTfR. Tuy nhiên, kháng thể kháng hTfR theo sáng chế có hằng số phân ly (K_D) với hTfR, như được xác định bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 7, tốt hơn là không lớn hơn 1×10^{-8} M, tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-9} M, cũng tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-10}. Ví dụ, kháng thể mà có hằng số phân ly bằng 1×10^{-13} M to 1×10^{-9} M hoặc 1×10^{-13} M to 1×10^{-10} M là được ưu tiên. Áp dụng tương tự khi kháng thể là kháng thể chuỗi đơn. Ngoài ra, trong trường hợp ở đó kháng thể kháng hTfR theo sáng chế cũng có ái lực đối với TfR khỉ, hằng số phân ly của kháng thể kháng hTfR này với TfR khỉ, như được xác định bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 7, tốt hơn là không lớn hơn 5×10^{-8} M, tốt hơn nữa là không lớn hơn 2×10^{-8} M, cũng tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-8} M. Ví dụ, kháng thể có hằng số phân ly bằng 1×10^{-13} M đến 2×10^{-8} M được ưu tiên. Áp dụng tương tự khi kháng thể là kháng thể chuỗi đơn.

Cũng có thể liên kết chuỗi peptit tương đối ngắn với kháng thể kháng hTfR, theo cách tương tự như khi liên kết protein (A) khác với kháng thể kháng hTfR. Không có giới hạn cụ thể đối với chuỗi peptit được liên kết với kháng thể kháng hTfR, miễn là chuỗi peptit này có hoạt tính sinh lý mong muốn. Ví dụ, các chuỗi peptit bao gồm trình tự axit amin của vùng gồm các protein mà có hoạt tính sinh lý. Mặc dù không có giới hạn cụ thể về chiều dài của chuỗi peptit, tốt hơn là chúng bao gồm từ 2 đến 200 axit amin, ví dụ gồm từ 5 đến 50 axit amin.

Khi liên kết hợp chất có phân tử lượng thấp với kháng thể kháng hTfR, không có giới hạn cụ thể đối với hợp chất có phân tử lượng thấp này, nhưng chúng là những hợp chất có phân tử lượng thấp mà mặc dù cần được đi vào phía trong não và thực hiện

chức năng ở đó, nhưng do không có khả năng đi qua hàng rào máu não nên không được mong đợi để thể hiện chức năng trong não nếu chỉ được dùng một cách đơn giản theo đường tĩnh mạch. Ví dụ về những hợp chất có phân tử lượng thấp này bao gồm thuốc chống ung thư như cyclophosphamide, ifosfamide, melphalan, busulfan, thioTEPA, nimustine, ranimustine, dacarbazine, procarbazine, temozolomide, carmustine, streptozocin, bendamustine, cisplatin, carboplatin, oxaliplatin, nedaplatin, 5-flouraxil, sulfadiazine, sulfamethoxazole, methotrexate, trimethoprim, pyrimethamine, fluorouracil, flucytosine, azathioprine, pentostatin, hydroxyurea, fludarabine, cytarabine, gemcitabine, irinotecan, doxorubicin, etoposide, levofloxacin, ciprofloxacin, vinblastine, vincristine, paclitaxel, docetaxel, Mitomycin C, doxorubicin, epirubicin. Các ví dụ khác về hợp chất có phân tử lượng thấp được liên kết với kháng thể kháng hTfR bao gồm siARN, ADN đối nghĩa, và các peptit ngắn.

Khi liên kết kháng thể kháng hTfR với hợp chất có phân tử lượng thấp, hợp chất có phân tử lượng thấp có thể được liên kết chỉ với chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng, hoặc nó có thể được liên kết với cả chuỗi nhẹ và chuỗi nặng, tương ứng. Ngoài ra, miễn là nó có ái lực đối với hTfR, kháng thể kháng hTfR có thể bao gồm trình tự axit amin bao gồm toàn bộ phần vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và/hoặc trình tự axit amin bao gồm toàn bộ phần vùng biến đổi của chuỗi nặng.

Các hợp chất có thể dùng làm hợp chất có phân tử lượng thấp để dung hợp với kháng thể kháng hTfR thường có thể là các tác nhân trị liệu đối với các bệnh như bệnh thoái hóa thần kinh như bệnh Alzheimer, bệnh Parkinsona, bệnh Huntingtone; các rối loạn tâm thần như chứng tâm thần phân liệt, chứng trầm cảm; bệnh đa xơ cứng; bệnh xơ cứng teo cơ một bên; khối u thuộc hệ thần kinh trung ương bao gồm khối u não; bệnh dự trữ lysosoms đi kèm với bệnh não; bệnh tích tụ glycogen; bệnh loạn dưỡng cơ; chứng thiếu máu não cục bộ; viêm não; bệnh prion; rối loạn hệ thần kinh trung ương do chấn thương. Ngoài ra, nhìn chung, các tác nhân trị liệu đối với các bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương do virus và vi khuẩn gây ra cũng có thể được dùng làm hợp chất có phân tử lượng thấp được dung hợp với kháng thể kháng hTfR. Hơn nữa,

nhìn chung, dược phẩm mà có thể được dùng để phục hồi sau phẫu thuật não hoặc phẫu thuật cột sống cũng có thể được dùng làm hợp chất có phân tử lượng thấp được dung hợp.

Nếu kháng thể kháng hTfR có nguồn gốc từ động vật không phải người, việc sử dụng nó cho người có thể gây ra nguy hiểm đáng kể do tạo ra tương tác kháng nguyên-kháng thể, do đó gây ra các tác dụng phụ bất lợi. Bằng cách chuyển hóa chúng thành kháng thể được làm giống như của người, tính kháng nguyên của kháng thể từ động vật không phải người có thể được giảm và vì vậy có thể ngăn chặn được việc gây ra các tác dụng phụ do tương tác kháng nguyên-kháng thể khi được dùng cho người. Ngoài ra, người ta đã báo cáo rằng theo các thí nghiệm có sử dụng khỉ, kháng thể được làm giống như của người ổn định trong máu hơn so với kháng thể từ chuột nhắt, và vì vậy người ta mong đợi rằng tác dụng trị liệu của chúng kéo dài hơn. Việc gây ra các tác dụng phụ do tương tác kháng nguyên-kháng thể có thể còn được ngăn chặn bởi việc sử dụng kháng thể người làm kháng thể kháng hTfR.

Giải thích cụ thể sẽ được đưa ra dưới đây liên quan đến trường hợp mà ở đó kháng thể kháng hTfR là kháng thể được làm giống như của người hoặc kháng thể người. Trong chuỗi nhẹ của kháng thể người, có các chuỗi λ và κ. Chuỗi nhẹ cấu thành nên kháng thể người có thể là chuỗi λ và κ. Và trong chuỗi nặng của kháng thể người, có các chuỗi γ, μ, α, σ, và ε, tương ứng với IgG, IgM, IgA, IgD và IgE. Mặc dù chuỗi nặng cấu thành nên kháng thể kháng hTfR có thể là chuỗi bất kỳ trong số các chuỗi γ, μ, α, σ, và ε, tốt hơn nếu nó là chuỗi γ. Ngoài ra, trong chuỗi γ của chuỗi nặng của kháng thể người, có các chuỗi γ1, γ2, γ3 và γ4, tương ứng với IgG1, IgG2, IgG3 và IgG4. Khi chuỗi nặng cấu thành nên kháng thể kháng hTfR là chuỗi γ, mặc dù chuỗi γ này có thể là bất kỳ trong số các chuỗi γ1, γ2, γ3 và γ4, tốt hơn nếu nó là chuỗi γ1 hoặc γ4. Trong trường hợp kháng thể kháng hTfR là kháng thể được làm giống như của người hoặc kháng thể người và IgG, chuỗi nhẹ của kháng thể người có thể là chuỗi λ hoặc chuỗi κ, và mặc dù chuỗi nặng của kháng thể người có thể là các chuỗi γ1, γ2, γ3 và γ4, tốt hơn nếu nó là chuỗi γ1 hoặc γ4. Ví dụ, một phương án được ưu tiên của

kháng thể kháng hTfR bao gòm kháng thể mà chuỗi nhẹ của nó là chuỗi λ và chuỗi nặng của nó là chuỗi γ1.

Trong trường hợp kháng thể kháng hTfR là kháng thể được làm giống như của người hoặc kháng thể người, kháng thể kháng hTfR và một protein A khác có thể được gắn kết với nhau bằng cách liên kết kháng thể kháng hTfR này, ở đầu tận cùng N (hoặc đầu tận cùng C) của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ, qua một trình tự liên kết hoặc trực tiếp, với đầu tận cùng C (hoặc đầu tận cùng N), tương ứng, của protein (A) khác, bằng các liên kết peptit. Khi protein (A) khác liên kết với chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR ở phía đầu tận cùng N (hoặc phía đầu tận cùng C) của nó, đầu tận cùng C (hoặc đầu tận cùng N), tương ứng, của protein (A) khác được liên kết với đầu tận cùng N (hoặc đầu tận cùng C) của chuỗi γ, μ, α, σ hoặc ε của kháng thể kháng hTfR, qua một trình tự liên kết hoặc trực tiếp, bởi các liên kết peptit. Khi protein (A) khác liên kết với chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR ở phía đầu tận cùng N (hoặc phía đầu tận cùng C) của nó, đầu tận cùng C (hoặc đầu tận cùng N), tương ứng, của protein (A) khác được liên kết với đầu tận cùng N (hoặc đầu tận cùng C) của chuỗi λ và chuỗi κ của kháng thể kháng hTfR, qua một trình tự liên kết hoặc trực tiếp, bởi các liên kết peptit. Tuy nhiên, trong trường hợp mà kháng thể kháng hTfR bao gồm vùng Fab, hoặc vùng Fab và toàn bộ hoặc một phần vùng bản lề (Fab, $F(ab')_2$, và F(ab')), protein (A) khác có thể được liên kết ở đầu tận cùng C (hoặc đầu tận cùng N) của nó và qua một trình tự liên kết hoặc trực tiếp, với đầu tận cùng N (hoặc đầu tận cùng C), tương ứng, của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ mà tạo thành Fab, $F(ab')_2$ và F(ab'), bởi các liên kết peptit.

Trong protein dung hợp được tạo ra bằng cách liên kết protein (A) khác với chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR mà nó là kháng thể được làm giống như của người, hoặc kháng thể người, ở phía đầu tận cùng C của nó, kháng thể kháng thụ thể transferrin người bao gồm trình tự axit amin chứa toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và trình tự axit amin chứa toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nặng. Chuỗi nhẹ kháng thể kháng hTfR và protein (A) khác ở đây có thể được liên kết trực tiếp hoặc qua một đoạn liên kết.

Trong protein dung hợp được tạo ra bằng cách liên kết protein (A) khác với chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR mà là kháng thể được làm giống như của người, hoặc kháng thể người, ở phía đầu tận cùng C của nó, kháng thể kháng thụ thể transferrin người bao gồm trình tự axit amin chứa toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và trình tự axit amin chứa toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nặng. Kháng thể kháng hTfR chuỗi nặng và protein (A) khác ở đây có thể được liên kết trực tiếp hoặc qua một đoạn liên kết.

Trong protein dung hợp được tạo ra bằng cách liên kết protein (A) khác với chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR mà là kháng thể được làm giống như của người, hoặc kháng thể người, ở đầu tận cùng N của nó, kháng thể kháng thụ thể transferrin người bao gồm trình tự axit amin chứa toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và trình tự axit amin chứa toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nặng. Chuỗi nhẹ kháng thể kháng hTfR và protein (A) khác ở đây có thể được liên kết trực tiếp hoặc qua một đoạn liên kết.

Trong protein dung hợp được tạo ra bằng cách liên kết protein (A) khác với chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR mà là kháng thể được làm giống như của người, hoặc kháng thể người, ở đầu tận cùng N của nó, kháng thể kháng thụ thể transferrin người bao gồm trình tự axit amin chứa toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và trình tự axit amin chứa toàn bộ hoặc một phần vùng biến đổi của chuỗi nặng. Kháng thể kháng hTfR chuỗi nặng và protein (A) khác ở đây có thể được liên kết trực tiếp hoặc qua một đoạn liên kết.

Khi đặt một trình tự liên kết giữa kháng thể kháng hTfR và một protein A khác, trình tự liên kết này tốt hơn là chuỗi peptit bao gồm từ 1 đến 50 axit amin, mặc dù số lượng axit amin cấu thành nên trình tự liên kết này có thể được điều chỉnh nếu cần để phù hợp với protein (A) khác được liên kết với kháng thể kháng hTfR, như từ 1 đến 17, từ 1 đến 10, từ 10 đến 40, từ 20 đến 34, từ 23 đến 31, từ 25 đến 29, và v.v.. Mặc dù không có giới hạn cụ thể đối với trình tự axit amin cụ thể của trình tự liên kết này miễn là kháng thể kháng hTfR và protein (A) khác được liên kết bởi trình tự liên

kết này vẫn có chức năng tương ứng của chúng (ái lực với hTfR, và hoạt động hoặc thực hiện chức năng trong điều kiện sinh lý), tốt hơn là nó bao gồm glyxin hoặc serin, ví dụ, trình tự bao gồm một axit amin đơn lẻ là glyxin hoặc serin, trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3), trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:4), trình tự axit amin Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:5), hoặc trình tự bao gồm từ 1 đến 10 hoặc từ 2 đến 5 trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin này được liên kết nối tiếp. Ví dụ, tốt hơn là sử dụng trình tự liên kết bao gồm 27 axit amin mà nó bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser được theo sau bởi năm bản sao trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3) được liên kết nối tiếp.

Ngoài ra, khi được chỉ ra trong bản mô tả này rằng một protein (A) khác được dung hợp với kháng thể kháng hTfR vẫn có hoạt tính hoặc chức năng của nó trong điều kiện sinh lý, hoặc đơn giản là, nó "vẫn có hoạt tính", có nghĩa là so với hoạt tính nội tại của kiểu tự nhiên của protein (A) khác này, vẫn giữ được không nhỏ hơn 3% hoạt tính hoặc chức năng. Tuy nhiên, hoạt tính hoặc chức năng như vậy tốt hơn là không nhỏ hơn 10%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 20%, cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 50%, và thậm chí tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 80%, so với hoạt tính nội tại của kiểu tự nhiên của protein (A) khác này. Áp dụng tương tự khi protein (A) khác này được dụng hợp với kháng thể kháng hTfR là protein đột biến.

Một ví dụ khác về các phương án cụ thể của protein dung hợp giữa kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và một protein A khác theo sáng chế là protein được sản xuất bằng cách dung hợp chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR, ở phía đầu tận cùng C của nó, với protein (A) khác, qua một trình tự liên kết bao gồm 27 axit amin mà bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser được theo sau bởi năm bản sao của trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3) được liên kết nối tiếp.

Trong trường hợp kháng thể kháng hTfR là Fab, ví dụ về các phương án cụ thể của protein dung hợp giữa kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR theo sáng chế và một protein A khác là protein dung hợp được tạo ra bằng cách dung hợp

protein (A) khác, ở phía đầu tận cùng C của nó qua một trình tự liên kết, với vùng bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR và vùng C_H1 đi kèm của nó, trong đó trình tự liên kết này bao gồm 27 axit amin mà nó chứa trình tự axit amin Gly-Ser được theo sau bởi năm bản sao của trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3) được liên kết nối tiếp. Mặc dù bản mô tả này cũng cho phép phần của vùng bản lề cũng nằm bên cạnh vùng C_H1, vùng bản lề này phải không chứa gốc xystein mà sẽ tạo thành liên kết disulfua giữa các chuỗi nặng.

Ái lực đặc hiệu của kháng thể kháng hTfR với hTfR chủ yếu tập trung ở các trình tự axit amin của CDR của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR. Không có giới hạn cụ thể đối với trình tự axit amin của các CDR miễn là kháng thể kháng hTfR có ái lực đặc hiệu đối với hTfR. Tuy nhiên, kháng thể kháng hTfR theo sáng chế là kháng thể mà hằng số phân ly (K_D) của nó với hTfR như được xác định bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 7 tốt hơn là không lớn hơn 1×10^{-8} M, tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-9} M, cũng tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-10} M, và thậm chí tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-11} M. Ví dụ, kháng thể có hằng số phân ly bằng 1×10^{-13} M đến 1×10^{-9} M, hoặc 1×10^{-13} M đến 1×10^{-10} M là được ưu tiên. Áp dụng tương tự khi kháng thể là kháng thể chuỗi đơn. Ngoài ra, khi kháng thể kháng hTfR theo sáng chế cũng có ái lực đối với TfR khỉ, hằng số phân ly của kháng thể kháng hTfR với TfR khỉ, như được xác định bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 7, tốt hơn là không lớn hơn 5×10^{-8} M, tốt hơn nữa là không lớn hơn 2×10^{-8} M, và cũng tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-8} M. Ví dụ, kháng thể có hằng số phân ly bằng 1×10^{-13} M đến 2×10^{-8} M là được ưu tiên. Áp dụng tương tự nếu kháng thể là kháng thể chuỗi đơn.

Ví dụ về các phương án ưu tiên của kháng thể có ái lực đối với hTfR bao gồm các kháng thể mà các CDR của chuỗi nhẹ của nó có trình tự axit amin theo một trong số các điểm (1) đến (14) dưới đây:

(1) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:6 hoặc SEQ ID NO:7 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:8 hoặc SEQ ID NO:9

hoặc trình tự axit amin Trp-Thr-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:10 làm CDR3;

(2) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:11 hoặc SEQ ID NO:12 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:13 hoặc SEQ ID NO:14 hoặc trình tự axit amin Tyr-Ala-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:15 làm CDR3;

(3) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:16 hoặc SEQ ID NO:17 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:18 hoặc SEQ ID NO:19 hoặc trình tự axit amin Lys-Val-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:20 làm CDR3;

(4) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:21 hoặc SEQ ID NO:22 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:23 hoặc SEQ ID NO:24 hoặc trình tự axit amin Asp-Thr-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:25 làm CDR3;

(5) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:26 hoặc SEQ ID NO:27 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:28 hoặc SEQ ID NO:29 hoặc trình tự axit amin Asp-Thr-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:30 làm CDR3;

(6) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:31 hoặc SEQ ID NO:32 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:33 hoặc SEQ ID NO:34 hoặc trình tự axit amin Ala-Ala-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:35 làm CDR3;

(7) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:36 hoặc SEQ ID NO:37 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:38 hoặc SEQ ID NO:39 hoặc trình tự axit amin Gln-Th-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:40 làm CDR3;

(8) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:41 hoặc SEQ ID NO:42 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:43 hoặc SEQ ID NO:44

hoặc trình tự axit amin Gly-Thr-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:45 làm CDR3;

(9) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:46 hoặc SEQ ID NO:47 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:48 hoặc SEQ ID NO:49 hoặc trình tự axit amin Phe-Thr-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:50 làm CDR3;

(10) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:51 hoặc SEQ ID NO:52 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:53 hoặc SEQ ID NO:54 hoặc trình tự axit amin Ala-Ala-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:55 làm CDR3;

(11) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:56 hoặc SEQ ID NO:57 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:58 hoặc SEQ ID NO:59 hoặc trình tự axit amin Tyr-Ala-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:60 làm CDR3;

(12) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:61 hoặc SEQ ID NO:62 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:63 hoặc SEQ ID NO:64 hoặc trình tự axit amin Trp-Ser-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:65 làm CDR3;

(13) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:66 hoặc SEQ ID NO:67 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:68 hoặc SEQ ID NO:69 hoặc trình tự axit amin Tyr-Ala-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:70 làm CDR3; và

(14) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:71 hoặc SEQ ID NO:72 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:73 hoặc SEQ ID NO:74 hoặc trình tự axit amin Asp-Thr-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:75 làm CDR3.

Ví dụ về các phương án cụ thể hơn của kháng thể có ái lực đối với hTfR bao gồm các kháng thể mà các CDR chuỗi nhẹ của nó có trình tự axit amin theo một trong

số các điểm từ (1) đến (14) dưới đây:

(1) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:6 làm CDR1; SEQ ID NO:8 làm CDR2; và SEQ ID NO:10 làm CDR3;

(2) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:11 làm CDR1; SEQ ID NO:13 làm CDR2; và SEQ ID NO:15 làm CDR3;

(3) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:16 làm CDR1; SEQ ID NO:18 làm CDR2; và SEQ ID NO:20 làm CDR3;

(4) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:21 làm CDR1; SEQ ID NO:23 làm CDR2; và SEQ ID NO:25 làm CDR3;

(5) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:26 làm CDR1; SEQ ID NO:28 làm CDR2; và SEQ ID NO:30 làm CDR3;

(6) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:31 làm CDR1; SEQ ID NO:33 làm CDR2; và SEQ ID NO:35 làm CDR3;

(7) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:36 làm CDR1; SEQ ID NO:38 làm CDR2; và SEQ ID NO:40 làm CDR3;

(8) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:41 làm CDR1; SEQ ID NO:43 làm CDR2; và SEQ ID NO:45 làm CDR3;

(9) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:46 làm CDR1; SEQ ID NO:48 làm CDR2; và SEQ ID NO:50 làm CDR3;

(10) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:51 làm CDR1; SEQ ID NO:53 làm CDR2; và SEQ ID NO:55 làm CDR3;

(11) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:56 làm CDR1; SEQ ID NO:58 làm CDR2; và SEQ ID NO:60 làm CDR3;

(12) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:61 làm CDR1; SEQ ID NO:63 làm CDR2; và SEQ ID NO:65 làm CDR3;

(13) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:66 làm CDR1; SEQ ID NO:68 làm CDR2; và SEQ ID NO:70 làm CDR3; và

(14) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:71 làm CDR1; SEQ

ID NO:73 làm CDR2; và SEQ ID NO:75 làm CDR3;

Ví dụ về các phương án ưu tiên của kháng thể có ái lực đối với hTfR bao gồm các kháng thể mà các CDR của chuỗi nặng của nó có trình tự axit amin theo một trong số các điểm từ (1) đến (14) dưới đây:

(1) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:76 hoặc SEQ ID NO:77 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:78 hoặc SEQ ID NO:79 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:80 hoặc SEQ ID NO:81 làm CDR3;

(2) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:82 hoặc SEQ ID NO:83 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:84 hoặc SEQ ID NO:85 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:86 hoặc SEQ ID NO:87 làm CDR3;

(3) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:88 hoặc SEQ ID NO:89 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:90 hoặc SEQ ID NO:91 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:92 hoặc SEQ ID NO:93 làm CDR3;

(4) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:94 hoặc SEQ ID NO:95 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:96 hoặc SEQ ID NO:97 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:98 hoặc SEQ ID NO:99 làm CDR3;

(5) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:100 hoặc SEQ ID NO:101 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:102 hoặc SEQ ID NO:103 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:104 hoặc SEQ ID NO:105 làm CDR3;

(6) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:106 hoặc SEQ ID NO:107 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:108 hoặc SEQ ID NO:278 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:109 hoặc SEQ ID NO:110 làm CDR3;

(7) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:111 hoặc SEQ ID NO:112 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:113 hoặc SEQ ID NO:114 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:115 hoặc SEQ ID NO:116 làm CDR3;

(8) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:117 hoặc SEQ ID NO:118 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:119 hoặc SEQ ID NO:279 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:120 hoặc SEQ ID NO:121 làm CDR3;

(9) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:122 hoặc SEQ ID NO:123 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:124 hoặc SEQ ID NO:125 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:126 hoặc SEQ ID NO:127 làm CDR3;

(10) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:128 hoặc SEQ ID NO:129 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:130 hoặc SEQ ID NO:131 làm CDR2; và SEQ ID NO:132 hoặc SEQ ID NO:133 làm CDR3;

(11) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:134 hoặc SEQ ID NO:135 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:136 hoặc SEQ ID NO:137 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:138 hoặc SEQ ID NO:139 làm CDR3;

(12) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:140 hoặc SEQ ID NO:141 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:142 hoặc SEQ ID NO:143 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:144 hoặc SEQ ID NO:145 làm CDR3;

(13) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:146 hoặc SEQ ID NO:147 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:148 hoặc SEQ ID NO:149 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:150 hoặc SEQ ID NO:151 làm CDR3; và

(14) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:152 hoặc SEQ ID

NO:153 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:154 hoặc SEQ ID NO:155 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:156 hoặc SEQ ID NO:157 làm CDR3.

Ví dụ về các phương án cụ thể hơn nữa của kháng thể có ái lực đối với hTfR bao gồm các kháng thể mà các CDR của chuỗi nặng của nó có trình tự axit amin theo một trong số các điểm từ (1) đến (14) dưới đây:

(1) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:76 làm CDR1; SEQ ID NO:78 làm CDR2; và SEQ ID NO:80 làm CDR3;

(2) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:82 làm CDR1; SEQ ID NO:84 làm CDR2; và SEQ ID NO:86 làm CDR3;

(3) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:88 làm CDR1; SEQ ID NO:90 làm CDR2; và SEQ ID NO:92 làm CDR3;

(4) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:94 làm CDR1; SEQ ID NO:96 làm CDR2; và SEQ ID NO:98 làm CDR3;

(5) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:100 làm CDR1; SEQ ID NO:102 làm CDR2; và SEQ ID NO:104 làm CDR3;

(6) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:106 làm CDR1; SEQ ID NO:108 làm CDR2; và SEQ ID NO:109 làm CDR3;

(7) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:111 làm CDR1; SEQ ID NO:113 làm CDR2; và SEQ ID NO:115 làm CDR3;

(8) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:117 làm CDR1; SEQ ID NO:119 làm CDR2; và SEQ ID NO:120 làm CDR3;

(9) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:122 làm CDR1; SEQ ID NO:124 làm CDR2; và SEQ ID NO:126 làm CDR3;

(10) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:128 làm CDR1; SEQ ID NO:130 làm CDR2; và SEQ ID NO:132 làm CDR3;

(11) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:134 làm CDR1; SEQ ID NO:136 làm CDR2; và SEQ ID NO:138 làm CDR3;

(12) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:140 làm CDR1; SEQ ID NO:142 làm CDR2; và SEQ ID NO:144 làm CDR3;

(13) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:146 làm CDR1; SEQ ID NO:148 làm CDR2; và SEQ ID NO:150 làm CDR3; và

(14) trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:152 làm CDR1; SEQ ID NO:154 làm CDR2; và SEQ ID NO:156 làm CDR3.

Ví dụ về các tổ hợp được ưu tiên của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể có ái lực đối với hTfR bao gồm các tổ hợp có các trình tự axit amin làm các CDR theo các điểm từ (1) đến (14) dưới đây:

(1) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:6 hoặc SEQ ID NO:7 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:8 hoặc SEQ ID NO:9 hoặc trình tự axit amin Trp-Thr-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:10 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:76 hoặc SEQ ID NO:77 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:78 hoặc SEQ ID NO:79 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:80 hoặc SEQ ID NO:81 làm CDR3;

(2) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:11 hoặc SEQ ID NO:12 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:13 hoặc SEQ ID NO:14 hoặc trình tự axit amin Tyr Ala Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:15 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:82 hoặc SEQ ID NO:83 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:84 hoặc SEQ ID NO:85 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:86 hoặc SEQ ID NO:87 làm CDR3;

(3) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:16 hoặc SEQ ID NO:17 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:18 hoặc SEQ ID NO:19 hoặc trình tự axit amin Lys-Val-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:20 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:88 hoặc SEQ ID NO:89 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:90 hoặc SEQ ID NO:91 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:92 hoặc SEQ ID NO:93 làm CDR3;

(4) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:21 hoặc SEQ ID NO:22 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:23 hoặc SEQ ID NO:24 hoặc trình tự axit amin Asp-Thr-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:25 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:94 hoặc SEQ ID NO:95 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:96 hoặc SEQ ID NO:97 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:98 hoặc SEQ ID NO:99 làm CDR3;

(5) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:26 hoặc SEQ ID NO:27 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:28 hoặc SEQ ID NO:29 hoặc trình tự axit amin Asp-Thr-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:30 làm CDR3;

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:100 hoặc SEQ ID NO:101 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:102 hoặc SEQ ID NO:103 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:104 hoặc SEQ ID NO:105 làm CDR3;

(6) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:31 hoặc SEQ

ID NO:32 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:33 hoặc SEQ ID NO:34 hoặc trình tự axit amin Ala-Ala-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:35 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:106 hoặc SEQ ID NO:107 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:108 hoặc SEQ ID NO:278 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:109 hoặc SEQ ID NO:110 làm CDR3;

(7) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:36 hoặc SEQ ID NO:37 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:38 hoặc SEQ ID NO:39 hoặc trình tự axit amin Gln-Thr-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:40 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:111 hoặc SEQ ID NO:112 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:113 hoặc SEQ ID NO:114 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:115 hoặc SEQ ID NO:116 làm CDR3;

(8) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:41 hoặc SEQ ID NO:42 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:43 hoặc SEQ ID NO:44 hoặc trình tự axit amin Gly-Thr-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:45 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:117 hoặc SEQ ID NO:118 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:119 hoặc SEQ ID NO:279 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:120 hoặc SEQ ID NO:121 làm CDR3;

(9) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:46 hoặc SEQ ID NO:47 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:48 hoặc SEQ

ID NO:49 hoặc trình tự axit amin Phe-Thr-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:50 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:122 hoặc SEQ ID NO:123 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:124 hoặc SEQ ID NO:125 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:126 hoặc SEQ ID NO:127 làm CDR3;

(10) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:51 hoặc SEQ ID NO:52 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:53 hoặc SEQ ID NO:54 hoặc trình tự axit amin Ala-Ala-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:55 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:128 hoặc SEQ ID NO:129 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:130 hoặc SEQ ID NO:131 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:132 hoặc SEQ ID NO:133 làm CDR3;

(11) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:56 hoặc SEQ ID NO:57 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:58 hoặc SEQ ID NO:59 hoặc trình tự axit amin Tyr-Ala-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:60 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:134 hoặc SEQ ID NO:135 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:136 hoặc SEQ ID NO:137 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:138 hoặc SEQ ID NO:139 làm CDR3;

(12) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:61 hoặc SEQ ID NO:62 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:63 hoặc SEQ ID NO:64 hoặc trình tự axit amin Trp-Ser-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như

được nêu trong SEQ ID NO:65 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:140 hoặc SEQ ID NO:141 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:142 hoặc SEQ ID NO:143 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:144 hoặc SEQ ID NO:145 làm CDR3;

(13) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:66 hoặc SEQ ID NO:67 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:68 hoặc SEQ ID NO:69 hoặc trình tự axit amin Tyr-Ala-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:70 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:146 hoặc SEQ ID NO:147 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:148 hoặc SEQ ID NO:149 làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:150 hoặc SEQ ID NO:151 làm CDR3;

(14) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:71 hoặc SEQ ID NO:72 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:73 hoặc SEQ ID NO:74 hoặc trình tự axit amin Asp-Thr-Ser làm CDR2; và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:75 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:152 hoặc SEQ ID NO:153 làm CDR1; trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:154 hoặc SEQ ID NO:155 làm CDR2; và he trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:156 hoặc SEQ ID NO:157 làm CDR3.

Ví dụ về các phương án cụ thể của tổ hợp gồm chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể có ái lực đối với hTfR bao gồm các tổ hợp có trình tự axit amin làm CDR theo một trong số các điểm từ (1) đến (14) dưới đây:

(1) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:6 làm CDR1;

SEQ ID NO:8 làm CDR2; và SEQ ID NO:10 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:76 làm CDR1; SEQ ID NO:78 làm CDR2; và SEQ ID NO:80 làm CDR3;

(2) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:11 làm CDR1; SEQ ID NO:13 làm CDR2; và SEQ ID NO:15 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:82 làm CDR1; SEQ ID NO:84 làm CDR2; và SEQ ID NO:86 làm CDR3;

(3) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:16 làm CDR1; SEQ ID NO:18 làm CDR2; và SEQ ID NO:20 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:88 làm CDR1; SEQ ID NO:90 làm CDR2; và SEQ ID NO:92 làm CDR3;

(4) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:21 làm CDR1; SEQ ID NO:23 làm CDR2; và SEQ ID NO:25 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:94 làm CDR1; SEQ ID NO:96 làm CDR2; và SEQ ID NO:98 làm CDR3;

(5) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:26 làm CDR1; SEQ ID NO:28 làm CDR2; và SEQ ID NO:30 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:100 làm CDR1; SEQ ID NO:102 làm CDR2; và SEQ ID NO:104 làm CDR3;

(6) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:31 làm CDR1; SEQ ID NO:33 làm CDR2; và SEQ ID NO:35 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:106 làm CDR1; SEQ ID NO:108 làm CDR2; và SEQ ID NO:109 làm CDR3;

(7) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:36 làm CDR1; SEQ ID NO:38 làm CDR2; và SEQ ID NO:40 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:111 làm CDR1; SEQ ID NO:113 làm CDR2; và SEQ ID NO:115 làm CDR3;

(8) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:41 làm CDR1; SEQ ID NO:43 làm CDR2; và SEQ ID NO:45 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:117 làm CDR1; SEQ ID NO:119 làm CDR2; và SEQ ID NO:120 làm CDR3;

(9) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:46 làm CDR1; SEQ ID NO:48 làm CDR2; và SEQ ID NO:50 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:122 làm CDR1; SEQ ID NO:124 làm CDR2; và SEQ ID NO:126 làm CDR3;

(10) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:51 làm CDR1; SEQ ID NO:53 làm CDR2; và SEQ ID NO:55 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:128 làm CDR1; SEQ ID NO:130 làm CDR2; và SEQ ID NO:132 làm CDR3;

(11) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:56 làm CDR1; SEQ ID NO:58 làm CDR2; và SEQ ID NO:60 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:134 làm CDR1; SEQ ID NO:136 làm CDR2; và SEQ ID NO:138 làm CDR3;

(12) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:61 làm CDR1; SEQ ID NO:63 làm CDR2; và SEQ ID NO:65 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:140 làm CDR1; SEQ ID NO:142 làm CDR2; và SEQ ID NO:144 làm CDR3;

(13) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:66 làm CDR1; SEQ ID NO:68 làm CDR2; và SEQ ID NO:70 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:146 làm CDR1; SEQ ID NO:148 làm CDR2; và SEQ ID NO:150 làm CDR3; và

(14) tổ hợp gồm

chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:71 làm CDR1; SEQ ID NO:73 làm CDR2; và SEQ ID NO:75 làm CDR3; và

chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:152 làm CDR1; SEQ ID NO:154 làm CDR2; và SEQ ID NO:156 làm CDR3.

Để làm các phương án được ưu tiên của kháng thể được làm giống như của người có ái lực đối với hTfR, các kháng thể được làm giống như của người được sản xuất bằng cách sử dụng trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng TfR người như được nêu trong SEQ ID NO:218 đến SEQ ID NO:245 làm CDR. Kháng thể được làm giống như của người được tạo ra bằng cách thay thế các vị trí thích hợp của kháng thể người bằng trình tự axit amin của các CDR của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng TfR người.

Ví dụ, chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế các trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nhẹ của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 6, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 24 đến vị trí thứ 34 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:218 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 6, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 50 đến vị trí thứ 56 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:218 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên

tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 89 đến vị trí thứ 97 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:218 làm CDR3, và

chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nặng của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 26 đến vị trí thứ 35 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:219 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 50 đến vị trí thứ 66 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:219 làm CDR2; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 7, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 97 đến vị trí thứ 105 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:219 làm CDR3.

Bằng cách kết hợp chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người thu được theo cách này, có thể điều chế được kháng thể được làm giống như của người.

Hơn nữa, ví dụ, chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nhẹ của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 6, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 24 đến vị trí thứ 34 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:220 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 6, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 50 đến vị trí thứ 56 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:220 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 89 đến vị trí thứ 97 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:220 làm CDR3; và

chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nặng của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 axit amin liên tiếp ở

các vị trí từ vị trí thứ 26 đến vị trí thứ 35 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:221 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 50 đến vị trí thứ 66 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:221 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 14, axit amin liên tiếp ở vị trí từ vị trí thứ 97 đến vị trí thứ 112 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:221 làm CDR3.

Bằng cách kết hợp chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người thu được theo cách này, có thể điều chế được kháng thể được làm giống như của người.

Ngoài ra, ví dụ, chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nhẹ của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 11, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 24 đến vị trí thứ 39 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:222 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, không ít hơn 6, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 55 đến vị trí thứ 61 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:222 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 94 đến vị trí thứ 102 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:222 làm CDR3; và

chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nặng của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 26 đến vị trí thứ 35 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:223 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 50 đến vị trí thứ 66 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:223 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 9 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị

trí thứ 97 đến vị trí thứ 107 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:223 làm CDR3.

Bằng cách kết hợp chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người thu được theo cách này, có thể điều chế được kháng thể được làm giống như của người.

Ngoài ra, ví dụ, chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nhẹ của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 5, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 24 đến vị trí thứ 33 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:224 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 6, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 49 đến vị trí thứ 55 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:224 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 88 đến vị trí thứ 96 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:224 làm CDR3; và

chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nặng của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 26 đến vị trí thứ 35 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:225 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 51 đến vị trí thứ 66 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:225 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 13, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 97 đến vị trí thứ 111 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:225 làm CDR3.

Bằng cách kết hợp chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người thu được theo cách này, có thể điều chế được kháng thể được làm giống như của người.

Hơn nữa, ví dụ, chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nhẹ của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 5, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 24 đến vị trí thứ 33 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:226 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 6, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 49 đến vị trí thứ 55 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:226 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 7, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 88 đến vị trí thứ 95 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:226 làm CDR3; và

chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nặng của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 26 đến vị trí thứ 35 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:227 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 51 đến vị trí thứ 66 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:227 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 9, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 97 đến vị trí thứ 107 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:227 làm CDR3.

Bằng cách kết hợp chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người thu được theo cách này, có thể điều chế được kháng thể được làm giống như của người.

Ngoài ra, ví dụ, chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nhẹ của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 6, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 24 đến vị trí thứ 34 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:228 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao

gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 6, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 50 đến vị trí thứ 56 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:228 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 89 đến vị trí thứ 97 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:228 làm CDR3; và

chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nặng của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 26 đến vị trí thứ 35 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:229 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 7, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 50 đến vị trí thứ 65 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:229 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 4, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 96 đến vị trí thứ 101 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:229 làm CDR3.

Bằng cách kết hợp chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người thu được theo cách này, có thể điều chế được kháng thể được làm giống như của người.

Ngoài ra, ví dụ, chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nhẹ của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 5, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 24 đến vị trí thứ 33 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:230 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 6, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 49 đến vị trí thứ 55 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:230 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 88 đến vị trí thứ 96 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:230 làm CDR3; và

chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nặng của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 26 đến vị trí thứ 35 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:231 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 51 đến vị trí thứ 66 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:231 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 11, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 97 đến vị trí thứ 109 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:231 làm CDR3.

Bằng cách kết hợp chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người thu được theo cách này, có thể điều chế được kháng thể được làm giống như của người.

Ngoài ra, ví dụ, chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nhẹ của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 5, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 24 đến vị trí thứ 33 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:232 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 6, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 49 đến vị trí thứ 55 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:232 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 88 đến vị trí thứ 96 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:232 làm CDR3; và

chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nặng của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 26 đến vị trí thứ 35 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:233 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc

không ít hơn 7, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 50 đến vị trí thứ 65 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:233 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 4, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 96 đến vị trí thứ 101 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:233 làm CDR3.

Bằng cách kết hợp chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người thu được theo cách này, có thể điều chế được kháng thể được làm giống như của người.

Ngoài ra, ví dụ, chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nhẹ của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 5, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 24 đến vị trí thứ 33 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:234 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 6, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 49 đến vị trí thứ 55 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:234 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 88 đến vị trí thứ 96 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:234 làm CDR3, và

chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nặng của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 26 đến vị trí thứ 35 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:235 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 51 đến vị trí thứ 66 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:235 làm CDR2, và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 97 đến vị trí thứ 106 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:235 làm CDR3.

Bằng cách kết hợp chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người thu được theo cách này, có thể điều chế được kháng thể được làm giống như của người.

Hơn nữa, ví dụ, chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nhẹ của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 6, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 24 đến vị trí thứ 34 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:236 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 6 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 50 đến vị trí thứ 56 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:236 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 89 đến vị trí thứ 97 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:236 làm CDR3; và

chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nặng của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 26 đến vị trí thứ 35 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:237 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 51 đến vị trí thứ 66 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:237 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 11, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 97 đến vị trí thứ 109 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:237 làm CDR3.

Bằng cách kết hợp chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người thu được theo cách này, có thể điều chế được kháng thể được làm giống như của người.

Ngoài ra, ví dụ, chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi

nhẹ của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 6, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 24 đến vị trí thứ 34 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:238 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 6, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 50 đến vị trí thứ 56 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:238 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 8, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 89 đến vị trí thứ 97 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:238 làm CDR3; và

chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nặng của kháng thể người with trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 26 đến vị trí thứ 35 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:239 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 hoặc không ít hơn 8 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 51 đến vị trí thứ 66 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:239 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 hoặc không ít hơn 9 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 97 đến vị trí thứ 107 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:239 làm CDR3.

Bằng cách kết hợp chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người thu được theo cách này, có thể điều chế được kháng thể được làm giống như của người.

Hơn nữa, ví dụ, chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nhẹ của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 hoặc không ít hơn 6 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 24 đến vị trí thứ 34 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:240 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 hoặc không ít hơn 6 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 50 đến vị trí thứ 56 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:240 làm

CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 hoặc không ít hơn 8 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 89 đến vị trí thứ 97 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:240 làm CDR3, và

chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nặng của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 26 đến vị trí thứ 35 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:241 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 hoặc không ít hơn 8 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 51 đến vị trí thứ 66 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:241 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 hoặc không ít hơn 10 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 97 đến vị trí thứ 108 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:241 làm CDR3.

Bằng cách kết hợp chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người thu được theo cách này, có thể điều chế được kháng thể được làm giống như của người.

Hơn nữa, ví dụ, chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nhẹ của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 hoặc không ít hơn 6, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 24 đến vị trí thứ 34 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:242 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 hoặc không ít hơn 6 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 50 đến vị trí thứ 56 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:242 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 hoặc không ít hơn 8 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 89 đến vị trí thứ 97 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:242 làm CDR3; và

chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nặng của

kháng thể người with trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 26 đến vị trí thứ 35 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:243 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 hoặc không ít hơn 8 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 51 đến vị trí thứ 66 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:243 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 hoặc không ít hơn 9 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 97 đến vị trí thứ 107 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:243 làm CDR3.

Bằng cách kết hợp chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người thu được theo cách này, có thể điều chế được kháng thể được làm giống như của người.

Hơn nữa, ví dụ, chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nhẹ của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 hoặc không ít hơn 5 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 24 đến vị trí thứ 33 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:244 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 hoặc không ít hơn 6 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 49 đến vị trí thứ 55 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:244 làm CDR2; và bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 hoặc không ít hơn 9 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 88 đến vị trí thứ 96 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:244 làm CDR3; và

chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người có thể được tạo ra bằng cách thay thế trình tự axit amin của các CDR tương ứng của chuỗi nặng của kháng thể người bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 26 đến vị trí thứ 35 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:245 làm CDR1; bằng trình tự axit amin bao gồm không ít hơn 3 hoặc không ít hơn 8 axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 51 đến vị trí thứ 66 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:245 làm CDR2; và bằng trình tự axit

amin bao gồm không ít hơn 3, hoặc không ít hơn 9, axit amin liên tiếp ở các vị trí từ vị trí thứ 97 đến vị trí thứ 107 của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:245 làm CDR3.

Bằng cách kết hợp chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người thu được theo cách này, có thể điều chế được kháng thể được làm giống như của người.

Ví dụ về các phương án được ưu tiên của kháng thể được làm giống như của người có ái lực đối với hTfR bao gồm các kháng thể có trình tự axit amin theo một trong số các điểm từ (1) đến (3) dưới đây:

(1) Kháng thể kháng hTfR,

trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:158, SEQ ID NO:159, SEQ ID NO:160, SEQ ID NO:161, SEQ ID NO:162, và SEQ ID NO:163, và

trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:166, SEQ ID NO:167, SEQ ID NO:168, SEQ ID NO:169, SEQ ID NO:170, và SEQ ID NO:171.

(2) kháng thể kháng hTfR,

trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin bất kỳ trong số SEQ ID NO:174, SEQ ID NO:175, SEQ ID NO:176, SEQ ID NO:177, SEQ ID NO:178, và SEQ ID NO:179, và

trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin bất kỳ trong số SEQ ID NO:182, SEQ ID NO:183, SEQ ID NO:184, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:186, và SEQ ID NO:187.

(3) kháng thể kháng hTfR,

trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của nó bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:190, SEQ ID NO:191, SEQ ID NO:192, SEQ ID NO:193, SEQ ID NO:194, và SEQ ID NO:195,

và

trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của nó bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:204, SEQ ID NO:205, SEQ ID NO:206, SEQ ID NO:207, SEQ ID NO:208 và SEQ ID NO:209.

Các trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ như được nêu trong SEQ ID NO:158, SEQ ID NO:159, SEQ ID NO:160, SEQ ID NO:161, SEQ ID NO:162 và SEQ ID NO:163 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:6 hoặc 7 trong CDR1; SEQ ID NO:8 hoặc 9 trong CDR2; và SEQ ID NO:10 trong CDR3. Tuy nhiên, thuật ngữ CDR như được sử dụng ở trên đối với các trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ như được nêu trong SEQ ID NO:158 đến 162 là không chỉ giới hạn ở những trình tự cụ thể này mà còn bao gồm vùng chứa các trình tự axit amin của một trong số các CDR hoặc bao gồm trình tự axit amin chứa không ít hơn 3 axit amin liên tiếp của một trong số các CDR nêu trên.

Các trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng như được nêu trong SEQ ID NO:166, SEQ ID NO:167, SEQ ID NO:168, SEQ ID NO:169, SEQ ID NO:170, và SEQ ID NO:171 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:76 hoặc 77 trong CDR1; SEQ ID NO:78 hoặc 79 trong CDR2; và SEQ ID NO:80 hoặc 81 trong CDR3. Tuy nhiên, thuật ngữ CDR như được sử dụng ở trên đối với các trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng như được nêu trong SEQ ID NO:166 đến 171 là không chỉ giới hạn ở những trình tự cụ thể này mà còn bao gồm vùng chứa các trình tự axit amin của một trong số các CDR hoặc bao gồm trình tự axit amin chứa không ít hơn 3 axit amin liên tiếp của một trong số các CDR nêu trên.

Các trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ như được nêu trong SEQ ID NO:174, SEQ ID NO:175, SEQ ID NO:176, SEQ ID NO:177, SEQ ID NO:178, và SEQ ID NO:179 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:11 hoặc 12 trong CDR1; SEQ ID NO:13 hoặc 14 trong CDR2; và SEQ ID NO:15 trong CDR3. Tuy nhiên, thuật ngữ CDR như được sử dụng ở trên đối với các trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ như được nêu trong SEQ ID NO:174 đến

179 là không chỉ giới hạn ở những trình tự cụ thể này mà còn bao gồm vùng chứa các trình tự axit amin của một trong số các CDR hoặc bao gồm trình tự axit amin chứa không ít hơn 3 axit amin liên tiếp của một trong số các CDR nêu trên.

Các trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng như được nêu trong SEQ ID NO:182, SEQ ID NO:183, SEQ ID NO:184, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:186, và SEQ ID NO:187 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:82 hoặc 83 trong CDR1; SEQ ID NO:84 hoặc 85 trong CDR2; và SEQ ID NO:86 hoặc 87 trong CDR3. Tuy nhiên, thuật ngữ CDR như được sử dụng ở trên đối với các trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng như được nêu trong SEQ ID NO:182 đến 187 là không chỉ giới hạn ở những trình tự cụ thể này mà còn bao gồm vùng chứa các trình tự axit amin của một trong số các CDR hoặc bao gồm trình tự axit amin chứa không ít hơn 3 axit amin liên tiếp của một trong số các CDR nêu trên.

Các trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ như được nêu trong SEQ ID NO:190, SEQ ID NO:191, SEQ ID NO:192, SEQ ID NO:193, SEQ ID NO:194, và SEQ ID NO:195 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:16 hoặc 17 trong CDR1, SEQ ID NO:18 hoặc 19 trong CDR2, và SEQ ID NO:20 trong CDR3. Tuy nhiên, thuật ngữ CDR như được sử dụng ở trên đối với các trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ như được nêu trong SEQ ID NO:190 đến 195 là không chỉ giới hạn ở những trình tự cụ thể này mà còn bao gồm vùng chứa các trình tự axit amin của một trong số các CDR hoặc bao gồm trình tự axit amin chứa không ít hơn 3 axit amin liên tiếp của một trong số các CDR nêu trên.

Các trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng như được nêu trong SEQ ID NO:204, SEQ ID NO:205, SEQ ID NO:206, SEQ ID NO:207, SEQ ID NO:208 và SEQ ID NO:209 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:88 hoặc 89 trong CDR1; SEQ ID NO:90 hoặc 91 trong CDR2, và SEQ ID NO:92 hoặc 93 trong CDR3. Tuy nhiên, thuật ngữ CDR như được sử dụng ở trên đối với các trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng như được nêu trong SEQ ID NO:204 đến 209 là không chỉ giới hạn ở những trình tự cụ thể này mà còn bao gồm

vùng chứa các trình tự axit amin của một trong số các CDR hoặc bao gồm trình tự axit amin chứa không ít hơn 3 axit amin liên tiếp của một trong số các CDR nêu trên.

Ví dụ về các phương án cụ thể hơn của kháng thể được làm giống như của người có ái lực đối với hTfR bao gồm:

kháng thể mà bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:163 trong vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:171 trong vùng biến đổi của chuỗi nặng,

kháng thể mà bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:179 trong vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:187 trong vùng biến đổi của chuỗi nặng,

kháng thể mà bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:191 trong vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205 trong vùng biến đổi của chuỗi nặng,

kháng thể mà bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:193 trong vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205 trong vùng biến đổi của chuỗi nặng,

kháng thể mà bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:194 trong vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205 trong vùng biến đổi của chuỗi nặng, và

kháng thể mà bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:195 trong vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205 trong vùng biến đổi của chuỗi nặng.

Ví dụ về các phương án cụ thể hơn của kháng thể được làm giống như của người có ái lực đối với hTfR bao gồm:

kháng thể mà bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:164 trong chuỗi nhẹ và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:172 trong chuỗi nặng,

kháng thể mà bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:180

trong chuỗi nhẹ và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:188 trong chuỗi nặng,

kháng thể mà bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:196 trong chuỗi nhẹ và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210 trong chuỗi nặng,

kháng thể mà bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:198 trong chuỗi nhẹ và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210 trong chuỗi nặng,

kháng thể mà bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:200 trong chuỗi nhẹ và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210 trong chuỗi nặng,

kháng thể mà bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:202 trong chuỗi nhẹ và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210 trong chuỗi nặng,

kháng thể mà bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:196 trong chuỗi nhẹ và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:212 trong chuỗi nặng,

kháng thể mà bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:198 trong chuỗi nhẹ và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:212 trong chuỗi nặng,

kháng thể mà bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:200 trong chuỗi nhẹ và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:212 trong chuỗi nặng, và

kháng thể mà bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:202 trong chuỗi nhẹ và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:212 trong chuỗi nặng.

Các phương án được ưu tiên của kháng thể có ái lực đối với hTfR đã được nêu làm ví dụ ở trên. Chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của các kháng thể kháng hTfR có thể được

đột biến nếu cần, bằng cách thế, khuyết đoạn, bổ sung và các phương pháp tương tự, trong các trình tự axit amin thuộc vùng biến đổi của chúng để điều chỉnh ái lực của kháng thể kháng hTfR đối với hTfR đến một mức thích hợp.

Khi thay thế một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bằng các axit amin khác, số lượng axit amin được thay thế tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin thuộc vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, số lượng axit amin cần được làm khuyết đoạn tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng cho phép đưa vào đột biến tổ hợp gồm sự thế và khuyết đoạn các axit amin.

Khi bổ sung một hoặc nhiều axit amin vào vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, chúng có thể được bổ sung vào bên trong, hoặc phía đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của, trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, và với số lượng tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng cho phép đưa vào đột biến tổ hợp gồm sự bổ sung, sự thế và khuyết đoạn các axit amin. Trình tự axit amin đột biến của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95%, với trình tự axit amin của vùng biến đổi ban đầu của chuỗi nhẹ.

Cụ thể, khi thay thế một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của các CDR tương ứng trong chuỗi nhẹ bằng các axit amin khác, số lượng axit amin được thay thế tốt hơn là từ 1 đến 5, tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, cũng tốt hơn nữa là 1 hoặc 2, và thậm chí tốt hơn nữa là 1. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của các CDR tương ứng, số lượng axit amin được làm khuyết đoạn tốt hơn là từ 1 đến 5, tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, cũng tốt hơn nữa là 1 hoặc 2, và thậm chí tốt hơn nữa là 1. Cũng cho phép đưa vào đột biến tổ hợp gồm sự thế và khuyết đoạn các axit amin.

Khi bổ sung một hoặc nhiều axit amin vào trình tự axit amin của CDR tương ứng trong chuỗi nhẹ, chúng được bổ sung vào bên trong, hoặc phía đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của, trình tự axit amin, và với số lượng tốt hơn là từ 1 đến 5, tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, cũng tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng cho phép đưa vào đột biến tổ hợp gồm sự bổ sung, sự thế và khuyết đoạn các axit amin. Trình tự axit amin của mỗi trong số các CDR đột biến như vậy có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, và cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95%, với trình tự axit amin của các CDR tương ứng ban đầu.

Khi thay thế một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng bằng các axit amin khác, số lượng axit amin được thay thế tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin thuộc vùng biến đổi của chuỗi nặng, số lượng axit amin cần được làm khuyết đoạn tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng cho phép đưa vào đột biến tổ hợp gồm sự thế và khuyết đoạn các axit amin.

Khi bổ sung một hoặc nhiều axit amin vào vùng biến đổi của chuỗi nặng, chúng có thể được bổ sung vào bên trong, hoặc phía đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của, trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng, và với số lượng tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là từ 1 đến 2. Cũng cho phép đưa vào đột biến tổ hợp gồm sự bổ sung, sự thế và khuyết đoạn các axit amin. Trình tự axit amin đột biến của vùng biến đổi của chuỗi nặng này có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95%, với trình tự axit amin của vùng biến đổi ban đầu của chuỗi nặng.

Cụ thể, khi thay thế một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của các CDR tương ứng trong chuỗi nặng bằng các axit amin khác, số lượng axit amin được thay thế tốt hơn là từ 1 đến 5, tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, cũng tốt hơn nữa là 1 hoặc 2,

và thậm chí tốt hơn nữa là 1. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của các CDR tương ứng, số lượng axit amin được làm khuyết đoạn tốt hơn là từ 1 đến 5, tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, cũng tốt hơn nữa là 1 hoặc 2, và thậm chí tốt hơn nữa là 1. Cũng cho phép đưa vào đột biến tổ hợp gồm sự thế và khuyết đoạn các axit amin.

Khi bổ sung một hoặc nhiều axit amin vào trình tự axit amin của các CDR tương ứng trong chuỗi nặng, chúng được bổ sung vào bên trong, hoặc phía đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của, trình tự axit amin, và với số lượng tốt hơn là từ 1 đến 5, tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, cũng tốt hơn nữa là 1 hoặc 2, và thậm chí tốt hơn nữa là 1. Cũng cho phép đưa vào đột biến tổ hợp gồm sự bổ sung, sự thế và khuyết đoạn các axit amin. Trình tự axit amin của mỗi trong số các CDR đột biến như vậy có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, và cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95%, với trình tự axit amin của các CDR tương ứng ban đầu.

Trong các phương án nêu trên, sự thay thế của một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của cùng biến đổi của kháng thể kháng hTfR nêu trên bằng các axit amin khác được đưa ra làm ví dụ bởi sự trao đổi giữa các axit amin có tính axit, nghĩa là, axit aspartic và axit glutamic; sự trao đổi giữa các axit amin kiểu amit, nghĩa là, asparagin và glutamin; sự thay đổi giữa các axit amin có tính bazơ, nghĩa là, lysin và arginin, sự thay đổi giữa các axit amin mạch nhánh, nghĩa là, valin, leuxin và isoleuxin; sự thay đổi giữa các axit amin béo, nghĩa là, glyxin và alanin, sự thay đổi giữa hydroxyamino axit, nghĩa là, serin và threonin, và sự thay đổi giữa các axit amin thơm, nghĩa là, phenylalanin và tyrosin.

Ngoài ra, trong trường hợp khi đưa một đột biến vào kháng thể kháng hTfR bằng cách bổ sung một hoặc nhiều axit amin ở đầu tận cùng C hoặc đầu tận cùng N của nó, nếu axit amin được bổ sung nằm ở vị trí giữa kháng thể kháng hTfR và một protein A khác khi chúng được dung hợp, axit amin được bổ sung này sẽ tạo thành một phần của đoạn liên kết.

Trong các phương án được ưu tiên nêu trên của kháng thể, bao gồm kháng thể được làm giống như của người, có ái lực đối với hTfR, không có giới hạn cụ thể đối với trình tự axit amin của CDR của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR, miễn là kháng thể này có ái lực đặc hiệu đối với hTfR. Tuy nhiên, kháng thể kháng hTfR theo sáng chế có hằng số phân ly (K_D) với hTfR, như được xác định bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 7, mà tốt hơn là không lớn hơn 1×10^{-8} M, tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-9} M, cũng tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-9} M, và thậm chí tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-9} M. Ví dụ, kháng thể có hằng số phân ly bằng 1×10^{-13} M đến 1×10^{-9} M hoặc 1×10^{-13} M đến 1×10^{-10} M là được ưu tiên. Áp dụng tương tự khi kháng thể là kháng thể chuỗi đơn. Ngoài ra, trong trường hợp khi kháng thể kháng hTfR theo sáng chế cũng có ái lực với TfR khỉ, hằng số phân ly của kháng thể kháng hTfR với TfR khỉ, như được xác định bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 7, tốt hơn là không lớn hơn 5×10^{-8} M, tốt hơn nữa là không lớn hơn 2×10^{-8} M, cũng tốt hơn nữa là không lớn hơn 1×10^{-8} M. Ví dụ, kháng thể có hằng số phân ly bằng 1×10^{-13} M đến 2×10^{-8} M là được ưu tiên. Áp dụng tương tự khi kháng thể là kháng thể chuỗi đơn.

Các phương án cụ thể của protein dung hợp nêu trên giữa kháng thể được làm giống như của người, có ái lực với hTfR, và một protein (A) khác được mô tả trên đây bao gồm: các kháng thể trong đó protein (A) khác là iduronat 2-sulfataza người (hI2S), erythropoietin người (hEPO), arylsulfataza A người (hARSA), PPT-1 người (hPPT-1), TPP-1 người (hTPP-1), α-L-iduronidaza người (hIDUA), thụ thể TNFα người (hTNFαR), và heparan N-sulfataza người (hSGSH).

Các ví dụ cụ thể về protein dung hợp mà ở đó protein (A) khác là hI2S bao gồm:

(1) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với hI2S, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của phần thứ nhất như được nêu trong SEQ ID NO:247, và trình tự axit amin của phần thứ hai như được nêu

trong SEQ ID NO:164,

(2) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với hI2S, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của phần thứ nhất như được nêu trong SEQ ID NO:249, và trình tự axit amin của phần thứ hai như được nêu trong SEQ ID NO:180,

(3) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với hI2S, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của phần thứ nhất như được nêu trong SEQ ID NO:251, và trình tự axit amin của phần thứ hai như được nêu trong SEQ ID NO:196.

Trong ví dụ (1) nêu trên, trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR, được bao hàm trong SEQ ID NO:247, là trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:172. Cụ thể là, protein dung hợp theo (1) nêu trên, bao gồm trình tự axit amin của chuỗi nhẹ như được nêu trong SEQ ID NO:164 và trình tự axit amin của chuỗi nặng như được nêu trong SEQ ID NO:172 làm kháng thể được làm giống như của người.

Trong ví dụ (2) nêu trên, trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR, được bao hàm trong SEQ ID NO:249, là trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:188. Cụ thể là, protein dung hợp theo (2) nêu trên, bao gồm trình tự axit amin của chuỗi nhẹ như được nêu trong SEQ ID NO:180 và trình tự axit amin của chuỗi nặng như được nêu trong SEQ ID NO:188 làm kháng thể được làm giống như của người.

Trong ví dụ (3) nêu trên, trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR, được bao hàm trong SEQ ID NO:251, là trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210. Cụ thể là, protein dung hợp theo (3) nêu trên, bao gồm trình tự axit amin của chuỗi nhẹ như được nêu trong SEQ ID NO:196 và trình tự axit amin của chuỗi nặng như được nêu trong SEQ ID NO:210 làm kháng thể được làm giống như của người.

Các ví dụ cụ thể của protein dung hợp trong đó protein (A) khác là erythropoietin người (hEPO) bao gồm:

(1) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hEPO, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:172, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:164,

(2) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hEPO, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:188, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:180, và

(3) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hEPO, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:210, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:196.

Trong ví dụ bất kỳ trong số các ví dụ từ (1) đến (3) nêu trên, chuỗi nặng hEPO và hTfR có thể được liên kết bằng liên kết peptit, hoặc trực tiếp hoặc qua một trình tự liên kết. Cụ thể là, trong ví dụ bất kỳ trong số các ví dụ từ (1) đến (3) nêu trên, nghĩa của cụm từ "qua một liên kết peptit" và nghĩa của cụm từ "trực tiếp hoặc qua một trình tự liên kết" là như nhau. Trình tự liên kết được dùng ở đây bao gồm từ 1 đến 50 gốc axit amin. Mặc dù không có giới hạn cụ thể đối với trình tự axit amin của đoạn liên kết, tốt hơn là trình tự này được tạo ra từ glyxin và serin: ví dụ, axit amin đơn lẻ glyxin hoặc serin, trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3), trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:4), trình tự axit amin Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:5), hoặc trình tự gồm từ 1 đến 50, hoặc từ 2 đến 17, từ 2 đến 10, từ 10 đến 40, từ 20 đến 34, từ 23 đến 31, từ 25 đến 29, hoặc 27 axit amin mà bao gồm từ 1 đến 10 hoặc từ 2 đến 5 trình tự bất kỳ trong số các trình tự

axit amin này được liên kết nối tiếp. Ví dụ, tốt hơn là trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser có thể được dùng làm trình tự liên kết. Ngoài ra, tốt hơn là sử dụng trình tự liên kết bao gồm 27 axit amin mà bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser được theo sau bởi năm bản sao của trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3) được liên kết nối tiếp.

Các phương án cụ thể của kháng thể được làm giống như của người cộng thêm hEPO bao gồm kháng thể mà bao gồm một phần gồm hEPO được liên kết, qua trình tự liên kết Gly-Ser, với phía đầu tận cùng C của chuỗi nặng hTfR, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của phần thứ nhất là được nêu trong SEQ ID NO:257, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:196.

Ngoài ra, trong sáng chế này, mặc dù thuật ngữ "EPO người" hoặc "hEPO" dùng để chỉ, cụ thể là hEPO có trình tự axit amin giống như hEPO kiểu tự nhiên như được nêu trong SEQ ID NO:256, nó cũng bao gồm các hEPO có trình tự axit amin được tạo ra bằng cách đưa đột biến như sự thế, sự khuyết đoạn, sự bổ sung và các đột biến tương tự vào trình tự axit amin của hEPO kiểu tự nhiên, miễn là chúng có hoạt tính EPO. Khi thay thế một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của hEPO bằng các axit amin khác, số lượng axit amin được thay thế tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của hEPO, số lượng axit amin được làm khuyết đoạn tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể đưa vào đột biến kết hợp bao gồm sự thế và sự khuyết đoạn axit amin như vậy. Khi bổ sung một hoặc nhiều axit amin vào hEPO, chúng có thể được bổ sung, bên trong, hoặc phía đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của, trình tự axit amin của hEPO, và số lượng axit amin được bổ sung tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể đưa vào đột biến kết hợp bao gồm sự bổ sung, sự thế và sự khuyết đoạn axit amin như vậy. Trình tự axit amin

của mỗi trong số các hEPO đột biến như vậy có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95%, với trình tự axit amin của hEPO ban đầu. Darbepoetin là một ví dụ thu được bằng cách đột biến hEPO kiểu tự nhiên.

Các ví dụ cụ thể về protein dung hợp trong đó protein (A) khác là arylsulfataza A người (hARSA) bao gồm;

(1) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hARSA, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:172, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:164,

(2) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hARSA, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:188, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:180, và

(3) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó qua một liên kết peptit, với hARSA, và phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất như được nêu trong SEQ ID NO:210, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:196.

Trong ví dụ bất kỳ trong số các ví dụ từ (1) đến (3) nêu trên, chuỗi nặng hARSA và hTfR có thể được liên kết bằng liên kết peptit, hoặc trực tiếp hoặc qua một trình tự liên kết. Cụ thể là, trong ví dụ bất kỳ trong số các ví dụ từ (1) đến (3) nêu trên, nghĩa của cụm từ "qua một liên kết peptit" và nghĩa của cụm từ "trực tiếp hoặc qua một trình tự liên kết" là như nhau. Trình tự liên kết được dùng ở đây bao gồm từ 1 đến 50 gốc axit amin. Mặc dù không có giới hạn cụ thể đối với trình tự axit amin của đoạn liên kết, tốt hơn là trình tự này được tạo ra từ glyxin và serin: ví dụ, axit amin đơn lẻ

glyxin hoặc serin, trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3), trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:4), trình tự axit amin Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:5), hoặc trình tự gồm từ 1 đến 50, hoặc từ 2 đến 17, từ 2 đến 10, từ 10 đến 40, từ 20 đến 34, từ 23 đến 31, từ 25 đến 29, hoặc 27 axit amin mà bao gồm từ 1 đến 10 hoặc từ 2 đến 5 trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin này được liên kết nối tiếp. Ví dụ, tốt hơn là trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser có thể được dùng làm trình tự liên kết. Ngoài ra, tốt hơn là sử dụng trình tự liên kết bao gồm 27 axit amin mà bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser được theo sau bởi năm bản sao của trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3) được liên kết nối tiếp.

Các phương án cụ thể của kháng thể được làm giống như của người cộng thêm hARSA bao gồm kháng thể mà bao gồm một phần gồm hARSA được liên kết, qua trình tự liên kết Gly-Ser, với phía đầu tận cùng C của chuỗi nặng hTfR, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của phần thứ nhất là được nêu trong SEQ ID NO:260, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:196.

Ngoài ra, trong sáng chế này, mặc dù thuật ngữ "ARSA người" hoặc "hARSA" dùng để chỉ, cụ thể là hARSA có trình tự axit amin giống như hARSA kiểu tự nhiên như được nêu trong SEQ ID NO:259, nó cũng bao gồm các hEPO có trình tự axit amin được tạo ra bằng cách đưa đột biến như sự thế, sự khuyết đoạn, sự bổ sung và các đột biến tương tự vào trình tự axit amin của hARSA kiểu tự nhiên, miễn là chúng có hoạt tính ARSA. Khi thay thế một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của hARSA bằng các axit amin khác, số lượng axit amin được thay thế tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của hARSA, số lượng axit amin được làm khuyết đoạn tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể đưa

vào đột biến kết hợp bao gồm sự thế và sự khuyết đoạn axit amin như vậy. Khi bổ sung một hoặc nhiều axit amin vào hARSA, chúng có thể được bổ sung, bên trong, hoặc phía đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của, trình tự axit amin của hARSA, và số lượng axit amin được bổ sung tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể đưa vào đột biến kết hợp bao gồm sự bổ sung, sự thế và sự khuyết đoạn axit amin như vậy. Trình tự axit amin của mỗi trong số các hARSA đột biến như vậy có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95%, với trình tự axit amin của hARSA ban đầu.

ðCác ví dụ cụ thể về protein dung hợp mà ở đó protein (A) khác là PPT-1 người (hPPT-1) bao gồm:

(1) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hPPT-1, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:172, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:164,

(2) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hPPT-1, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:188, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:180, và

(3) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hPPT-1, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:210, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:196.

Trong ví dụ bất kỳ trong số các ví dụ từ (1) đến (3) nêu trên, chuỗi nặng hPPT-1 và hTfR có thể được liên kết bằng liên kết peptit, hoặc trực tiếp hoặc qua một

trình tự liên kết. Cụ thể là, trong ví dụ bất kỳ trong số các ví dụ từ (1) đến (3) nêu trên, nghĩa của cụm từ "qua một liên kết peptit" và nghĩa của cụm từ "trực tiếp hoặc qua một trình tự liên kết" là như nhau. Trình tự liên kết được dùng ở đây bao gồm từ 1 đến 50 gốc axit amin. Mặc dù không có giới hạn cụ thể đối với trình tự axit amin của đoạn liên kết, tốt hơn là trình tự này được tạo ra từ glyxin và serin: ví dụ, axit amin đơn lẻ glyxin hoặc serin, trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3), trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:4), trình tự axit amin Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:5), hoặc trình tự gồm từ 1 đến 50, hoặc từ 2 đến 17, từ 2 đến 10, từ 10 đến 40, từ 20 đến 34, từ 23 đến 31, từ 25 đến 29, hoặc 27 axit amin mà bao gồm từ 1 đến 10 hoặc từ 2 đến 5 trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin này được liên kết nối tiếp. Ví dụ, tốt hơn là trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser có thể được dùng làm trình tự liên kết. Ngoài ra, tốt hơn là sử dụng trình tự liên kết bao gồm 27 axit amin mà bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser được theo sau bởi năm bản sao của trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3) được liên kết nối tiếp.

Các phương án cụ thể hơn của kháng thể được làm giống như của người cộng thêm hPPT-1 bao gồm kháng thể gồm một phần bao gồm hPPT-1 được liên kết, qua trình tự liên kết Gly-Ser, với phía đầu tận cùng C của chuỗi nặng hTfR, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:263, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:196.

150 155 thuật ngữ "PPT-1 người" hoặc "hPPT-1" dùng để chỉ, cụ thể là hPPT-1 có trình tự axit amin giống như hPPT-1 kiểu tự nhiên như được nêu trong SEQ ID NO:262, nó cũng bao gồm các hEPO có trình tự axit amin được tạo ra bằng cách đưa đột biến như sự thế, sự khuyết đoạn, sự bổ sung và các đột biến tương tự vào trình tự axit amin của hPPT-1 kiểu tự nhiên, miễn là chúng có hoạt tính PPT-1. Khi thay thế một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của hPPT-1

bằng các axit amin khác, số lượng axit amin được thay thế tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của hPPT-1, số lượng axit amin được làm khuyết đoạn tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể đưa vào đột biến kết hợp bao gồm sự thế và sự khuyết đoạn axit amin như vậy. Khi bổ sung một hoặc nhiều axit amin vào hPPT-1, chúng có thể được bổ sung, bên trong, hoặc phía đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của, trình tự axit amin của hPPT-1, và số lượng axit amin được bổ sung tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể đưa vào đột biến kết hợp bao gồm sự bổ sung, sự thế và sự khuyết đoạn axit amin như vậy. Trình tự axit amin của mỗi trong số các hPPT-1 đột biến như vậy có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95%, với trình tự axit amin của hPPT-1 ban đầu.

Các ví dụ cụ thể về protein dung hợp mà ở đó protein (A) khác là PPT-1 người (hPPT-1) bao gồm:

(1) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hTPP-1, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:172, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:164,

(2) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hTPP-1, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:188, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:180, và

(3) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hTPP-1, và một phần khác

bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:210, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:196.

Trong ví dụ bất kỳ trong số các ví dụ từ (1) đến (3) nêu trên, chuỗi nặng hTPP-1 và hTfR có thể được liên kết bằng liên kết peptit, hoặc trực tiếp hoặc qua một trình tự liên kết. Cụ thể là, trong ví dụ bất kỳ trong số các ví dụ từ (1) đến (3) nêu trên, nghĩa của cụm từ "qua một liên kết peptit" và nghĩa của cụm từ "trực tiếp hoặc qua một trình tự liên kết" là như nhau. Trình tự liên kết được dùng ở đây bao gồm từ 1 đến 50 gốc axit amin. Mặc dù không có giới hạn cụ thể đối với trình tự axit amin của đoạn liên kết, tốt hơn là trình tự này được tạo ra từ glyxin và serin: ví dụ, axit amin đơn lẻ glyxin hoặc serin, trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3), trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:4), trình tự axit amin Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:5), hoặc trình tự gồm từ 1 đến 50, hoặc từ 2 đến 17, từ 2 đến 10, từ 10 đến 40, từ 20 đến 34, từ 23 đến 31, từ 25 đến 29, hoặc 27 axit amin mà bao gồm từ 1 đến 10 hoặc từ 2 đến 5 trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin này được liên kết nối tiếp. Ví dụ, tốt hơn là trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser có thể được dùng làm trình tự liên kết. Ngoài ra, tốt hơn là sử dụng trình tự liên kết bao gồm 27 axit amin mà bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser được theo sau bởi năm bản sao của trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3) được liên kết nối tiếp.

Các phương án cụ thể hơn của kháng thể được làm giống như của người cộng thêm hTPP-1 bao gồm kháng thể gồm một phần bao gồm hTPP-1 được liên kết, qua trình tự liên kết Gly-Ser, với phía đầu tận cùng C của chuỗi nặng hTfR, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:266, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:196.

Ngoài ra, trong sáng chế này, mặc dù thuật ngữ "TPP-1 người" hoặc "hTPP-1"

dùng để chỉ, cụ thể là hTPP-1 có trình tự axit amin giống như hTPP-1 kiểu tự nhiên như được nêu trong SEQ ID NO:265, nó cũng bao gồm các hTPP-1 có trình tự axit amin được tạo ra bằng cách đưa đột biến như sự thế, sự khuyết đoạn, sự bổ sung và các đột biến tương tự vào trình tự axit amin của hTPP-1 kiểu tự nhiên, miễn là chúng có hoạt tính TPP-1. Khi thay thế một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của hTPP-1 bằng các axit amin khác, số lượng axit amin được thay thế tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của hTPP-1, số lượng axit amin được làm khuyết đoạn tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể đưa vào đột biến kết hợp bao gồm sự thế và sự khuyết đoạn axit amin như vậy. Khi bổ sung một hoặc nhiều axit amin vào hTPP-1, chúng có thể được bổ sung, bên trong, hoặc phía đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của, trình tự axit amin của hTPP-1, và số lượng axit amin được bổ sung tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể đưa vào đột biến kết hợp bao gồm sự bổ sung, sự thế và sự khuyết đoạn axit amin như vậy. Trình tự axit amin của mỗi trong số các hTPP-1 đột biến như vậy có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95%, với trình tự axit amin của hTPP-1 ban đầu.

Các ví dụ cụ thể của protein dung hợp trong đó protein (A) khác là α-L-iduronidaza người (hIDUA) bao gồm:

(1) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hIDUA, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:172, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:164,

(2) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hIDUA, và một phần khác

bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:188, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:180, và

(3) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hIDUA, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:210, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:196.

Trong ví dụ bất kỳ trong số các ví dụ từ (1) đến (3) nêu trên, chuỗi nặng hIDUA và hTfR có thể được liên kết bằng liên kết peptit, hoặc trực tiếp hoặc qua một trình tự liên kết. Cụ thể là, trong ví dụ bất kỳ trong số các ví dụ từ (1) đến (3) nêu trên, nghĩa của cụm từ "qua một liên kết peptit" và nghĩa của cụm từ "trực tiếp hoặc qua một trình tự liên kết" là như nhau. Trình tự liên kết được dùng ở đây bao gồm từ 1 đến 50 gốc axit amin. Mặc dù không có giới hạn cụ thể đối với trình tự axit amin của đoạn liên kết, tốt hơn là trình tự này được tạo ra từ glyxin và serin: ví dụ, axit amin đơn lẻ glyxin hoặc serin, trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3), trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:4), trình tự axit amin Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:5), hoặc trình tự gồm từ 1 đến 50, hoặc từ 2 đến 17, từ 2 đến 10, từ 10 đến 40, từ 20 đến 34, từ 23 đến 31, từ 25 đến 29, hoặc 27 axit amin mà bao gồm từ 1 đến 10 hoặc từ 2 đến 5 trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin này được liên kết nối tiếp. Ví dụ, tốt hơn là trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser có thể được dùng làm trình tự liên kết. Ngoài ra, tốt hơn là sử dụng trình tự liên kết bao gồm 27 axit amin mà bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser được theo sau bởi năm bản sao của trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3) được liên kết nối tiếp.

Các phương án cụ thể hơn của kháng thể được làm giống như của người cộng thêm hIDUA bao gồm kháng thể mà bao gồm một phần gồm hIDUA được liên kết,

qua trình tự liên kết Gly-Ser, với phía đầu tận cùng C của chuỗi nặng hTfR, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:269, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:196.

Trong sáng chế này, though thuật ngữ "IDUA người" hoặc "hIDUA" dùng để chỉ, cụ thể, hIDUA có trình tự axit amin giống như hIDUA kiểu tự nhiên như được nêu trong SEQ ID NO:268, nó cũng bao gồm các hIDUA có trình tự axit amin được tạo ra bằng cách đưa đột biến như sự thế, sự khuyết đoạn, sự bổ sung và đột biến tương tự vào trình tự axit amin của hIDUA kiểu tự nhiên, miễn là chúng có hoạt tính hIDUA. Khi thay thế một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của hIDUA bằng các axit amin khác, số lượng axit amin được thay thế tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của hIDUA, số lượng axit amin được làm khuyết đoạn tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể đưa vào đột biến kết hợp bao gồm sự thế và sự khuyết đoạn axit amin như vậy. Khi bổ sung một hoặc nhiều axit amin vào hIDUA, chúng có thể được bổ sung, bên trong, hoặc phía đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của, trình tự axit amin của hIDUA, và số lượng axit amin được bổ sung tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể đưa vào đột biến kết hợp bao gồm sự bổ sung, sự thế và sự khuyết đoạn axit amin như vậy. Trình tự axit amin của hIDUA đột biến có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95% với trình tự axit amin của hIDUA ban đầu.

Các ví dụ cụ thể về protein dung hợp ở đó protein (A) khác là thụ thể TNF-α người (hTNFαR) bao gồm:

(1) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hTNFαR, và một phần

khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:172, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:164,

(2) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hTNFαR, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:188, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:180, và

(3) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hTNFαR, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:210, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:196.

Trong ví dụ bất kỳ trong số các ví dụ từ (1) đến (3) nêu trên, chuỗi nặng hTNFαR và hTfR có thể được liên kết bằng liên kết peptit, hoặc trực tiếp hoặc qua một trình tự liên kết. Cụ thể là, trong ví dụ bất kỳ trong số các ví dụ từ (1) đến (3) nêu trên, nghĩa của cụm từ "qua một liên kết peptit" và nghĩa của cụm từ "trực tiếp hoặc qua một trình tự liên kết" là như nhau. Trình tự liên kết được dùng ở đây bao gồm từ 1 đến 50 gốc axit amin. Mặc dù không có giới hạn cụ thể đối với trình tự axit amin của đoạn liên kết, tốt hơn là trình tự này được tạo ra từ glyxin và serin: ví dụ, axit amin đơn lẻ glyxin hoặc serin, trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3), trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:4), trình tự axit amin Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:5), hoặc trình tự gồm từ 1 đến 50, hoặc từ 2 đến 17, từ 2 đến 10, từ 10 đến 40, từ 20 đến 34, từ 23 đến 31, từ 25 đến 29, hoặc 27 axit amin mà bao gồm từ 1 đến 10 hoặc từ 2 đến 5 trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin này được liên kết nối tiếp. Ví dụ, tốt hơn là trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser có thể được dùng làm trình tự liên kết. Ngoài ra, tốt hơn là sử

dụng trình tự liên kết bao gồm 27 axit amin mà bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser được theo sau bởi năm bản sao của trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3) được liên kết nối tiếp.

Các phương án cụ thể hơn của kháng thể được làm giống như của người cộng thêm hTNFαR bao gồm kháng thể gồm một phần bao gồm hTNFαR được liên kết, qua trình tự liên kết Gly-Ser, với phía đầu tận cùng C của chuỗi nặng hTfR, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:272, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:196.

Ngoài ra, trong sáng chế này, mặc dù thuật ngữ "TNFαR người" hoặc " hTNFαR" dùng để chỉ, cụ thể hTNFαR có trình tự axit amin giống với hTNFαR kiểu tự nhiên như được nêu trong SEQ ID NO:271, nó cũng bao gồm các hTNFR mà trình tự axit amin của nó được tạo ra bằng cách đưa đột biến như sự thế, sự khuyết đoạn, sự bổ sung và đột biến tương tự vào trình tự axit amin của hTNFαR kiểu tự nhiên, miễn là chúng có hoạt tính hoặc chức năng như TNFαR. Khi thay thế một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của hTNFαR bằng các axit amin khác, số lượng axit amin được thay thế tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của hTNFαR, số lượng axit amin được làm khuyết đoạn tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể đưa vào đột biến kết hợp bao gồm sự thế và sự khuyết đoạn axit amin như vậy. Khi bổ sung một hoặc nhiều axit amin vào hTNFαR, chúng có thể được bổ sung, bên trong, hoặc phía đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của, trình tự axit amin của hTNFαR, và số lượng axit amin được bổ sung tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể đưa vào đột biến kết hợp bao gồm sự bổ sung, sự thế và sự khuyết đoạn axit amin như vậy. Trình tự axit amin của mỗi trong số các hTNFαR đột biến như vậy có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là

không nhỏ hơn 90%, và cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95%, với trình tự axit amin của hTNFαR ban đầu.

Các ví dụ cụ thể về protein dung hợp trong đó protein (A) khác là heparan N-sulfataza người (hSGSH) bao gồm:

(1) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hSGSH, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:172, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:164,

(2) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hSGSH, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:188, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:180, và

(3) protein dung hợp bao gồm: phần bao gồm chuỗi nặng hTfR được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một liên kết peptit, với hSGSH, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của chuỗi nặng hTfR của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:210, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:196.

Trong ví dụ bất kỳ trong số các ví dụ từ (1) đến (3) nêu trên, chuỗi nặng hSGSH và hTfR có thể được liên kết bằng liên kết peptit, hoặc trực tiếp hoặc qua một trình tự liên kết. Cụ thể là, trong ví dụ bất kỳ trong số các ví dụ từ (1) đến (3) nêu trên, nghĩa của cụm từ "qua một liên kết peptit" và nghĩa của cụm từ "trực tiếp hoặc qua một trình tự liên kết" là như nhau. Trình tự liên kết được dùng ở đây bao gồm từ 1 đến 50 gốc axit amin. Mặc dù không có giới hạn cụ thể đối với trình tự axit amin của đoạn liên kết, tốt hơn là trình tự này được tạo ra từ glyxin và serin: ví dụ, axit amin đơn lẻ glyxin hoặc serin, trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3), trình tự axit amin

Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:4), trình tự axit amin Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:5), hoặc trình tự gồm từ 1 đến 50, hoặc từ 2 đến 17, từ 2 đến 10, từ 10 đến 40, từ 20 đến 34, từ 23 đến 31, từ 25 đến 29, hoặc 27 axit amin mà bao gồm từ 1 đến 10 hoặc từ 2 đến 5 trình tự bất kỳ trong số các trình tự axit amin này được liên kết nối tiếp. Ví dụ, tốt hơn là trình tự axit amin bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser có thể được dùng làm trình tự liên kết. Ngoài ra, tốt hơn là sử dụng trình tự liên kết bao gồm 27 axit amin mà bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser được theo sau bởi năm bản sao của trình tự axit amin Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:3) được liên kết nối tiếp.

Các phương án cụ thể hơn của kháng thể được làm giống như của người cộng thêm hSGSH bao gồm kháng thể mà bao gồm một phần gồm hSGSH được liên kết, qua trình tự liên kết Gly-Ser, với phía đầu tận cùng C của chuỗi nặng hTfR, và một phần khác bao gồm chuỗi nhẹ hTfR, trong đó trình tự axit amin của phần thứ nhất là như được nêu trong SEQ ID NO:275, và trình tự axit amin của phần thứ hai là như được nêu trong SEQ ID NO:196.

Ngoài ra, trong sáng chế này, mặc dù thuật ngữ "SGSH người" hoặc "hSGSH" dùng để chỉ, cụ thể là hSGSH có trình tự axit amin giống như hSGSH kiểu tự nhiên như được nêu trong SEQ ID NO:274, nó cũng bao gồm các hSGSH có trình tự axit amin được tạo ra bằng cách đưa đột biến như sự thế, sự khuyết đoạn, sự bổ sung và các đột biến tương tự vào trình tự axit amin của hSGSH kiểu tự nhiên, miễn là chúng có hoạt tính SGSH. Khi thay thế một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của hSGSH bằng các axit amin khác, số lượng axit amin được thay thế tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Khi làm khuyết đoạn một hoặc nhiều axit amin của trình tự axit amin của hSGSH, số lượng axit amin được làm khuyết đoạn tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, và thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể đưa vào đột biến kết hợp bao gồm sự thế và sự khuyết đoạn axit amin như vậy. Khi bổ sung một hoặc nhiều axit amin vào hSGSH, chúng có thể được bổ sung, bên

trong, hoặc phía đầu tận cùng N hoặc đầu tận cùng C của, trình tự axit amin của hSGSH, và số lượng axit amin được bổ sung tốt hơn là từ 1 đến 10, tốt hơn nữa là từ 1 đến 5, cũng tốt hơn nữa là từ 1 đến 3, thậm chí tốt hơn nữa là 1 hoặc 2. Cũng có thể đưa vào đột biến kết hợp bao gồm sự bổ sung, sự thế và sự khuyết đoạn axit amin như vậy. Trình tự axit amin của mỗi trong số các hSGSH đột biến như vậy có mức tương đồng tốt hơn là không nhỏ hơn 80%, tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 90%, cũng tốt hơn nữa là không nhỏ hơn 95%, với trình tự axit amin của hSGSH ban đầu.

Trong trường hợp khi protein (A) khác được dung hợp với kháng thể kháng hTfR là iduronat 2-sulfataza người (hI2S), erythropoietin người (hEPO), arylsulfataza A người (hARSA), PPT-1 người (hPPT-1), TPP-1 người (hTPP-1), α-L-iduronidaza người (hIDUA), thụ thể TNF-α người (hTNFαR), hoặc heparan N-sulfataza người (hSGSH), cách thể hiện protein (A) khác được dung hợp với kháng thể kháng hTfR vẫn có hoạt tính hoặc chức năng mà protein (A) khác này thể hiện trong điều kiện sinh lý, (hoặc một cách đơn giản, nó vẫn có hoạt tính hoặc chức năng), có nghĩa là vẫn có không ít hơn 3% hoạt tính hoặc chức năng so với hoạt tính hoặc chức năng mà protein kiểu tự nhiên tương ứng thực chất có. Tuy nhiên, hoạt tính hoặc chức năng của chúng tốt hơn là không ít hơn 10%, tốt hơn nữa là không ít hơn 20%, cũng tốt hơn nữa là không ít hơn 50%, và thậm chí tốt hơn nữa là không ít hơn 80%, so với hoạt tính hoặc chức năng mà protein (A) khác kiểu tự nhiên tương ứng thực chất có. Áp dụng tương tự khi protein (A) khác được dung hợp với kháng thể kháng hTfR ở dạng đột biến.

Kháng thể kháng hTfR theo sáng chế có thể được sử dụng để sản xuất dược phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa để điều trị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương bằng cách gắn nó với phân tử protein có hoạt tính dược lý hoặc hợp chất có phân tử lượng thấp có hoạt tính dược lý. Và kháng thể kháng hTfR được liên hợp với phân tử protein có hoạt tính dược lý hoặc hợp chất có phân tử lượng thấp có hoạt tính dược lý, có thể được sử dụng trong phương pháp điều trị cho bệnh nhân có tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương, trong đó lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu của protein có hoạt tính dược lý hoặc hợp chất có phân tử lượng thấp có hoạt tính dược lý

được dùng ngoài đường tiêu hóa cho bệnh nhân bị bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương (bao gồm tiêm trong tĩnh mạch như truyền trong tĩnh mạch). Kháng thể kháng hTfR được liên hợp với phân tử protein có hoạt tính dược lý hoặc hợp chất có phân tử lượng thấp có hoạt tính dược lý, sau khi được dùng ngoài đường tiêu hóa, có thể không chỉ đi vào bên trong não mã còn đạt đến các cơ quan khác mà ở đó hTfR được biểu hiện.

Cụ thể, do kháng thể kháng hTfR theo sáng chế có thể, ở dạng thể liên hợp với iduronat 2-sulfataza người (hI2S), cho phép hI2S đi qua hàng rào máu não và thực hiện chức năng trong não, kháng thể này có thể được sử dụng để sản xuất dược phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa để điều trị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm hội chứng Hunter. Hơn nữa, kháng thể kháng hTfR được liên hợp với hI2S có thể được sử dụng trong phương pháp điều trị bệnh nhân mắc tình trạng bệnh rối loạn hệ thần kinh trung ương đi kèm hội chứng Hunter, trong đó lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu của kháng thể được dùng ngoài đường tiêu hóa cho bệnh nhân mắc hội chứng Hunter (bao gồm tiêm trong tĩnh mạch như truyền trong tĩnh mạch). Kháng thể kháng hTfR được liên hợp với hI2S, sau khi được dùng ngoài đường tiêu hóa, có thể không chỉ đi vào trong não mà còn đạt tới các cơ quan khác mà ở đó hTfR được biểu hiện.

Ngoài ra, do kháng thể kháng hTfR theo sáng chế có thể, ở dạng tiếp hợp với erythropoietin người (hEPO), cho phép hEPO đi qua hàng rào máu não và thực hiện chức năng trong não, kháng thể này có thể được sử dụng để sản xuất dược phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa để điều trị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm chứng thiếu máu não cục bộ. Hơn nữa, kháng thể kháng hTfR được liên hợp với hEPO có thể được sử dụng trong phương pháp điều trị cho bệnh nhân bị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm với chứng thiếu máu não cục bộ, trong đó lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu của kháng thể liên hợp được dùng ngoài đường tiêu hóa cho bệnh nhân mắc chứng thiếu máu não cục bộ (bao gồm tiêm trong tĩnh mạch như truyền trong tĩnh mạch). Kháng thể kháng hTfR được liên hợp với hEPO, sau khi được dùng ngoài đường tiêu hóa, có thể không chỉ đi vào trong não mà còn đạt tới các cơ quan khác mà ở đó hTfR được biểu hiện. Áp dụng tương tự khi erythropoietin

người được thay bằng darbepoetin người.

Ngoài ra, do kháng thể kháng hTfR theo sáng chế có thể, ở dạng tiếp hợp với arylsulfatase A người (hARSA), cho phép hARSA đi qua hàng rào máu não và thực hiện chức năng trong não, kháng thể này có thể được sử dụng để sản xuất dược phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa để điều trị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm bệnh thoái hóa chất trắng biến sắc (loạn dưỡng chất trắng biến sắc). Hơn nữa, kháng thể kháng hTfR được liên hợp với hARSA có thể được sử dụng trong phương pháp điều trị bệnh nhân bị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm thoái hóa chất trắng biến sắc (loạn dưỡng chất trắng biến sắc), trong đó lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu của kháng thể liên hợp được dùng ngoài đường tiêu hóa cho bệnh nhân mắc bệnh này (bao gồm tiêm trong tĩnh mạch như truyền trong tĩnh mạch). Kháng thể kháng hTfR được liên hợp với hARSA, sau khi được dùng ngoài đường tiêu hóa, có thể không chỉ đi vào trong não mà còn đạt tới các cơ quan khác mà ở đó hTfR được biểu hiện.

Ngoài ra, do kháng thể kháng hTfR theo sáng chế có thể, ở dạng tiếp hợp với PPT-1 người (hPPT-1), cho phép hPPT-1 đi qua hàng rào máu não và thực hiện chức năng trong não, kháng thể này có thể được sử dụng để sản xuất dược phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa để điều trị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm bệnh lipofuscinosis dạng sáp của tế bào thần kinh hoặc bệnh Santavuori-Haltia. Hơn nữa, kháng thể kháng hTfR được liên hợp với hPPT-1 có thể được sử dụng trong phương pháp điều trị cho bệnh nhân bị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm bệnh lipofuscinosis dạng sáp của tế bào thần kinh hoặc bệnh Santavuori-Haltia, trong đó lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu của kháng thể liên hợp được dùng ngoài đường tiêu hóa cho bệnh nhân bị bệnh bất kỳ trong số những bệnh này (bao gồm tiêm trong tĩnh mạch như truyền trong tĩnh mạch). Kháng thể kháng hTfR được liên hợp với hPPT-1, sau khi được dùng ngoài đường tiêu hóa, có thể không chỉ đi vào trong não mà còn đạt tới các cơ quan khác mà ở đó hTfR được biểu hiện.

Ngoài ra, do kháng thể kháng hTfR theo sáng chế có thể, ở dạng tiếp hợp với

TPP-1 người (hTPP-1), cho phép hTPP-1 đi qua hàng rào máu não và thực hiện chức năng trong não, kháng thể này có thể được sử dụng để sản xuất dược phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa để điều trị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm bệnh lipofuscinosis dạng sáp của tế bào thần kinh hoặc bệnh Jansky-Bielschowsky. Hơn nữa, kháng thể kháng hTfR được liên hợp với hPPT-1 có thể được sử dụng trong phương pháp điều trị cho bệnh nhân bị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm bệnh lipofuscinosis dạng sáp của tế bào thần kinh hoặc bệnh Jansky-Bielschowsky, trong đó lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu của kháng thể liên hợp được dùng ngoài đường tiêu hóa cho bệnh nhân bị bệnh bất kỳ trong số những bệnh này (bao gồm tiêm trong tĩnh mạch như truyền trong tĩnh mạch). Kháng thể kháng hTfR được liên hợp với hTPP-1, sau khi được dùng ngoài đường tiêu hóa, có thể không chỉ đi vào trong não mà còn đạt tới các cơ quan khác mà ở đó hTfR được biểu hiện.

Ngoài ra, do kháng thể kháng hTfR theo sáng chế có thể, ở dạng thể liên hợp với α-L-iduronidaza người (hIDUA), cho phép hIDUA đi qua hàng rào máu não và thực hiện chức năng trong não, kháng thể này có thể được sử dụng để sản xuất dược phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa để điều trị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm hội chứng Hurler hoặc hội chứng Hurler-Scheie. Hơn nữa, kháng thể kháng hTfR được liên hợp với hIDUA có thể được sử dụng trong phương pháp điều trị cho bệnh nhân bị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm hội chứng Hurler hoặc hội chứng Hurler-Scheie, trong đó lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu của kháng thể liên hợp được dùng ngoài đường tiêu hóa cho bệnh nhân bị bệnh bất kỳ trong số những bệnh này (bao gồm tiêm trong tĩnh mạch như truyền trong tĩnh mạch). Kháng thể kháng hTfR được liên hợp với hIDUA, sau khi được dùng ngoài đường tiêu hóa, có thể không chỉ đi vào trong não mà còn đạt tới các cơ quan khác mà ở đó hTfR được biểu hiện.

he light chain, or linked to the heavy chain of the antibody on the C-terminal thụ thể TNF-α người (hTNFαR), cho phép hTNFαR đi qua hàng rào máu não và thực

hiện chức năng trong não, kháng thể có thể được sử dụng để sản xuất dược phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa để điều trị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm chứng thiếu máu não cục bộ hoặc viêm não. Hơn nữa, kháng thể kháng hTfR được liên hợp với hTNFαR có thể được sử dụng trong phương pháp điều trị cho bệnh nhân bị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm chứng thiếu máu não cục bộ hoặc viêm não, trong đó lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu kháng thể liên hợp được dùng ngoài đường tiêu hóa cho bệnh nhân bị bệnh bất kỳ trong số những bệnh này (bao gồm tiêm trong tĩnh mạch như truyền trong tĩnh mạch). Kháng thể kháng hTfR được liên hợp với hTNFαR, sau khi được dùng ngoài đường tiêu hóa, có thể không chỉ đi vào trong não mà còn đạt tới các cơ quan khác mà ở đó hTfR được biểu hiện.

Ngoài ra, do kháng thể kháng hTfR theo sáng chế có thể, ở dạng thể liên hợp với heparan N-sulfataza người (hSGSH), cho phép hSGSH đi qua hàng rào máu não và thực hiện chức năng trong não, kháng thể có thể được sử dụng để sản xuất dược phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa để điều trị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm hội chứng Sanfilippo. Hơn nữa, kháng thể kháng hTfR được liên hợp với hSGSH có thể được sử dụng trong phương pháp điều trị cho bệnh nhân bị tình trạng bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương đi kèm hội chứng Sanfilippo, trong đó lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu của kháng thể liên hợp được dùng ngoài đường tiêu hóa cho bệnh nhân bị bệnh bất kỳ trong số những bệnh này (bao gồm tiêm trong tĩnh mạch như truyền trong tĩnh mạch). Kháng thể kháng hTfR được liên hợp với hSGSH, sau khi được dùng ngoài đường tiêu hóa, có thể không chỉ đi vào trong não mà còn đạt tới các cơ quan khác mà ở đó hTfR được biểu hiện.

Protein, hợp chất có phân tử lượng thấp và các hợp chất tương tự mà được liên hợp với kháng thể kháng hTfR theo sáng chế có thể được sử dụng làm dược phẩm mà thể hiện chức năng của chúng trong hệ thần kinh trung ương (CNS) sau khi được dùng ngoài đường tiêu hóa. Những dược phẩm như vậy thường có thể được dùng cho bệnh nhân bằng cách tiêm trong tĩnh mạch như tiêm trong tĩnh mạch, tiêm dưới da, tiêm

trong cơ và các đường dùng tương tự, mặc dù không có giới hạn cụ thể đối với đường dùng.

Các protein, hợp chất có phân tử lượng thấp và các hợp chất tương tự mà được liên hợp với kháng thể kháng hTfR theo sáng chế có thể được cung cấp cho các cơ sở y tế ở dạng dược phẩm chẳng hạn như ở dạng sản phẩm đông khô hoặc chế phẩm chứa nước. Trong trường hợp chế phẩm chứa nước, nó có thể được cung cấp ở dạng chế phẩm trong đó một trong số các dược phẩm được hòa tan trong dung dịch chứa chất làm ổn định, chất đệm, và chất tạo đẳng trương pha sẵn, và được đóng vào các lọ hoặc xiranh. Loại chế phẩm được nạp trong xiranh thường được gọi là chế phẩm loại xiranh đã nạp sẵn. Dạng chế phẩm loại xiranh đã nạp sẵn tạo điều kiện cho bệnh nhân tự sử dụng dược phẩm.

Khi chế phẩm chứa nước được cung cấp, nồng độ của protein, hợp chất có phân tử lượng thấp hoặc hợp chất tương tự được liên hợp với kháng thể kháng hTfR trong chế phẩm chứa nước này là, chẳng hạn, từ 1 đến 4 mg/mL, mặc dù nó được điều chỉnh nếu cần để phù hợp với liều dùng. Không có giới hạn cụ thể đối với chất làm ổn định được chứa trong chế phẩm chứa nước, miễn là chúng có thể dùng trong dược phẩm, tốt hơn là có thể sử dụng các chất hoạt động bề mặt không ion. Ví dụ về các chất hoạt động bề mặt không ion bao gồm polysorbat và poloxame, có thể được sử dụng riêng rẽ hoặc kết hợp. Trong số các polysorbate, tốt hơn là sử dụng polysorbate 20 và polysorbate 80. Để làm poloxamer, poloxamer 188 (polyoxyetylen (160) polyoxypropylen (30) glycol) được đặc biệt ưu tiên. Hơn nữa, nồng độ của chất hoạt động bề mặt không ion được chứa trong chế phẩm chứa nước tốt hơn là 0,01-1 mg/mL, tốt hơn nữa là, từ 0,01 đến 0,5 mg/mL, và cũng tốt hơn nữa là từ 0,1 đến 0,5 mg/mL. Để làm chất làm ổn định, các axit amin như histidin, arginin, methionin, và glyxin cũng có thể được sử dụng. Khi được dùng làm chất làm ổn định, nồng độ của axit amin trong chế phẩm chứa nước tốt hơn là bằng từ 0,1 đến 40 mg/mL, tốt hơn nữa là từ 0,2 đến 5 mg/mL, và cũng tốt hơn nữa là từ 0,5 đến 4 mg/mL. Mặc dù không có giới hạn cụ thể đối với chất đệm được chứa trong chế phẩm chứa nước, miễn là nó có thể dùng

trong dược phẩm, đệm phosphat là được ưu tiên, và tốt hơn nữa là đệm natri phosphat. Khi được sử dụng làm chất đệm, nồng độ của natri phosphat tốt hơn là từ 0,01 đến 0,04 M. Độ pH của chế phẩm chứa nước được điều chỉnh bằng chất đệm tốt hơn là từ 5,5 đến 7,2. Mặc dù không có giới hạn cụ thể đối với chất tạo đẳng trương được chứa trong chế phẩm chứa nước miễn là nó có thể dùng trong dược phẩm, tốt hơn là natri clorua hoặc manitol có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp để làm chất tạo đẳng trương.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Mặc dù sáng chế được mô tả cụ thể hơn dưới đây với các ví dụ kèm theo, không dự tính rằng sáng chế bị giới hạn ở những ví dụ này.

Ví dụ 1 Xây dựng vectơ biểu hiện hTfR

Sử dụng cADN Quick Clone lá lách người (Clontech Inc.) làm khuôn và sử dụng đoạn mồi hTfR5' (SEQ ID NO:214) và đoạn mồi hTfR3' (SEQ ID NO:215), PCR được thực hiện để khuếch đại đoạn gen mã hóa thụ thể transferrin người (hTfR). Đoạn đã khuếch đại mã hóa hTfR được phân cắt bằng MluI và NotI, và sau đó được cài xem giữa các vị trí MluI và NotI của vectơ pCI-neo (Promega Corp.). Vectơ được tạo ra theo cách này có tên gọi pCI-neo(hTfR). Sau đó vectơ này được phân cắt bằng MluI và NotI để cắt bỏ đoạn gen mã hóa hTfR, và đoạn này sau đó được cài xen giữa các vị trí MluI và NotI của pE-mIRES-GS-puro, là vectơ biểu hiện được bộc lộ trong Công bố đơn quốc tế số WO 2012/063799, để xây dựng vectơ biểu hiện hTfR, pE-mIRES-GS-puro(hTfR).

Ví dụ 2 Điều chế hTfR tái tổ hợp

Đưa vectơ pE-mIRES-GS-puro(hTfR) vào các tế bào CHO-K1 bằng điện chuyển, và sau đó các tế bào được đưa đi nuôi cấy chọn lọc trong môi trường CD OptiCHO™ (Invitrogen Inc.) chứa methionin sulfoximin (MSX) và puromycin để tạo ra tế bào tái tổ hợp biểu hiện hTfR. Tế bào tái tổ hợp biểu hiện hTfR được nuôi cấy, và hTfR tái tổ hợp được điều chế.

Ví dụ 3 Gây miễn dịch chuột nhắt bằng hTfR tái tổ hợp

Chuột nhắt được gây miễn dịch với hTfR tái tổ hợp được điều chế trong Ví dụ 2 làm kháng nguyên. Thực hiện gây miễn dịch bằng cách tiêm trong tĩnh mạch hoặc tiêm trong màng bụng chuột nhắt bằng kháng nguyên.

Ví dụ 4 Điều chế các tế bào lai

Khoảng 1 tuần sau khi tiêm lần cuối cùng, lá lách của chuột nhắt được cắt và đồng hóa để phân lập các tế bào lá lách. Các tế bào lá lách thu được được dung hợp với các tế bào của dòng tế bào u tủy chuột nhắt (P3.X63.Ag8.653) bằng phương pháp polyetylen glycol. Sau khi dung hợp tế bào, các tế bào được tạo huyền phù trong môi trường RPMI 1640 chứa (1X) chất bổ trợ HAT (Life Technologies Inc.) và 10% huyết thanh bào thai bò Ultra low IgG (Life Technologies Inc.), và huyền phù chứa tế bào được phân vào 20 đĩa 96 lỗ, mỗi đĩa ở 200 µL/lỗ. Sau khi tế bào được nuôi cấy trong 10 ngày trong tủ ủ chứa khí cacbon dioxit (37°C, 5% CO_2), mỗi lỗ được kiểm tra dưới kính hiển vi, và các lỗ mà chứa một khuẩn lạc duy nhất được lựa chọn.

Khi các tế bào ở mỗi lỗ đạt tới mức gần hợp dòng, dịch nổi nuôi cấy được thu nhận ở dạng dịch nổi nuôi cấy chứa tế bào lai, và được đưa đi sàng lọc tiếp theo.

Ví dụ 5 Sàng lọc dòng tế bào sản sinh kháng thể với ái lực cao

Dung dịch hTfR tái tổ hợp (Sino Biologics Inc.) được pha loãng bằng dung dịch đệm natri phosphat 50 mM (độ pH từ 9,5 đến 9,6) đến 5 µg/mL để điều chế dung dịch pha rắn. Sau khi 50 µL dung dịch pha rắn được bổ sung vào mỗi lỗ của đĩa 96 lỗ đáy bằng Nunc MaxiSorp™ (cơ chất: polystyren, do Nunc Inc. sản xuất), đĩa được để yên trong một giờ ở nhiệt độ trong phòng để cho phép hTfR tái tổ hợp bám dính vào đĩa và được giữ cố định. Dung dịch pha rắn được loại bỏ, mỗi lỗ được rửa ba lần bằng 250 µL dung dịch rửa (PBS chứa 0,05% Tween20), 200 µL dung dịch phong bế (PBS chứa 1% BSA) sau đó được bổ sung vào mỗi lỗ, và đĩa được để yên trong một giờ ở nhiệt độ trong phòng.

Dung dịch phong bế được loại bỏ, và mỗi lỗ được rửa ba lần bằng 250 µL dung dịch rửa (PBS chứa 0,05% Tween20). Bổ sung 50 µL dịch nổi nuôi cấy chứa tế bào lai vào mỗi lỗ, và đĩa được để yên trong một giờ ở nhiệt độ trong phòng để kháng

thể chuột kháng hTfR được chứa trong dịch nổi nuôi cấy gắn kết với hTfR tái tổ hợp. Đồng thời, bổ sung 50 µL dịch nổi nuôi cấy chứa tế bào lai mà nó không sản sinh kháng thể chuột nhắt kháng hTfR vào một số lỗ, làm mẫu đối chứng. Ngoài ra, 50 µL môi trường để nuôi cấy tế bào lai được bổ sung vào các lỗ, để làm các lỗ bắt chước, ngoài các lỗ mà dịch nổi nuôi cấy được bổ sung vào đó. Tiến hành xác định theo phương thức n=2. Tiếp theo, dung dịch được loại bỏ, và mỗi lỗ được rửa ba lần bằng 250 µL dung dịch rửa (PBS chứa 0,05% Tween20).

Bổ sung 100 µL dung dịch kháng thể dê kháng globulin miễn dịch chuột nhắt được đánh dấu HRP (Promega Inc.) vào mỗi lỗ trong số các lỗ nêu trên, và đĩa được để yên trong một phút ở nhiệt độ trong phòng. Tiếp theo dung dịch được loại bỏ, và mỗi lỗ được rửa ba lần bằng 250 µL dung dịch rửa (PBS chứa 0,05% Tween20). Bổ sung 50 µL dung dịch cơ chất tạo màu, cơ chất ổn định TMB dùng cho Peroxidaza từ cây cải ngựa (Promega Inc.) vào mỗi lỗ, và các lỗ được để yên trong từ 10 đến 20 phút ở nhiệt độ trong phòng. Tiếp theo, sau khi bổ sung 100 µL dung dịch ngừng phản ứng (axit sulfuric 2N), xác định độ hấp thụ của mỗi lỗ trên thiết bị đọc đĩa ở 450 nm. Lấy giá trị trung bình của hai lỗ đối với mỗi lỗ chứa dịch nổi nuôi cấy và lỗ đối chứng, tương ứng, và lấy mỗi giá trị trung bình này trừ đi giá trị trung bình tương ứng đối với hai lỗ bắt chước được đặt tương ứng với mỗi lỗ chứa dịch nổi nuôi cấy và lỗ đối chứng, thu được các giá trị đo.

Mười bốn loại tế bào lai tương ứng với các dịch nổi nuôi cấy được bổ sung vào các lỗ thể hiện các giá trị đo cao hơn được chọn làm các dòng tế bào (dòng tế bào sản sinh kháng thể với ái lực cao) mà sản sinh kháng thể thể hiện ái lực cao đối với hTfR (kháng thể kháng hTfR với ái lực cao). Mười bốn loại dòng tế bào này được gọi là các dòng Clone 1 đến Clone 14. Ngoài ra, kháng thể kháng hTfR được sản sinh bởi dòng Clone 1 đến Clone 14 được gọi là kháng thể kháng hTfR số 1 đến 14, tương ứng.

Ví dụ 6 Phân tích trình tự axit amin vùng biến đổi của kháng thể kháng hTfR với ái lực cao

cADN được điều chế từ mỗi dòng Clone 1 đến Clone 14 được lựa chọn trong

Ví dụ 5, bằng cách sử dụng nó làm khuôn, các gen mã hóa chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được khuếch đại. Bằng cách dịch mã trình tự nucleotit của các gen đã được khuếch đại, trình tự axit amin tương ứng của các vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng được xác định đối với các kháng thể kháng hTfR số 1 đến 14 được sản sinh bởi các dòng tế bào này.

Nhận thấy là kháng thể kháng hTfR số 1 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:218 làm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:219 làm vùng biến đổi của chuỗi nặng. Nhận thấy là vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:6 hoặc 7 làm CDR1; SEQ ID NO:8 hoặc 9 làm CDR2, và SEQ ID NO:10 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:76 hoặc 77 làm CDR1, SEQ ID NO:78 hoặc 79 làm CDR2, và SEQ ID NO:80 hoặc 81 làm CDR3. Tuy nhiên, cũng nhận thấy rằng các CDR không chỉ giới hạn ở những CDR mà bao gồm các trình tự axit amin này, mà chúng cũng có thể là các vùng gồm các trình tự axit amin bao gồm trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên, hoặc trình tự axit amin bao gồm phần chứa không ít hơn ba axit amin liên tiếp của các trình tự nêu trên.

Nhận thấy là kháng thể kháng hTfR số 2 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:220 làm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:221 làm vùng biến đổi của chuỗi nặng. Nhận thấy là vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:11 hoặc 12 làm CDR1; SEQ ID NO:13 hoặc 14 làm CDR2, và SEQ ID NO:15 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:82 hoặc 83 làm CDR1, SEQ ID NO:84 hoặc 85 làm CDR2, và SEQ ID NO:86 hoặc 87 làm CDR3. Tuy nhiên, cũng nhận thấy rằng các CDR không chỉ giới hạn ở những CDR mà bao gồm các trình tự axit amin này, mà chúng cũng có thể là các vùng gồm các trình tự axit amin bao gồm trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên, hoặc trình tự axit amin bao gồm phần chứa không ít hơn ba axit amin liên tiếp

của các trình tự nêu trên.

Nhận thấy là kháng thể kháng hTfR số 3 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:222 làm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:223 làm vùng biến đổi của chuỗi nặng. Nhận thấy là vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:16 hoặc 17 làm CDR1; SEQ ID NO:18 hoặc 19 làm CDR2, và SEQ ID NO:20 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:88 hoặc 89 làm CDR1, SEQ ID NO:90 hoặc 91 làm CDR2, và SEQ ID NO:92 hoặc 93 làm CDR3. Tuy nhiên, cũng nhận thấy rằng các CDR không chỉ giới hạn ở những CDR mà bao gồm các trình tự axit amin này, mà chúng cũng có thể là các vùng gồm các trình tự axit amin bao gồm trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên, hoặc trình tự axit amin bao gồm phần chứa không ít hơn ba axit amin liên tiếp của các trình tự nêu trên.

Nhận thấy là kháng thể kháng hTfR số 4 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:224 làm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:225 làm vùng biến đổi của chuỗi nặng. Nhận thấy là vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:21 hoặc 22 làm CDR1; SEQ ID NO:23 hoặc 24 làm CDR2, và SEQ ID NO:25 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:94 hoặc 95 làm CDR1, SEQ ID NO:96 hoặc 97 làm CDR2, và SEQ ID NO:98 hoặc 99 làm CDR3. Tuy nhiên, cũng nhận thấy rằng các CDR không chỉ giới hạn ở những CDR mà bao gồm các trình tự axit amin này, mà chúng cũng có thể là các vùng gồm các trình tự axit amin bao gồm trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên, hoặc trình tự axit amin bao gồm phần chứa không ít hơn ba axit amin liên tiếp của các trình tự nêu trên.

Nhận thấy là kháng thể kháng hTfR số 5 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:226 làm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:227 làm vùng biến đổi của chuỗi nặng. Nhận thấy là vùng

biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:26 hoặc 27 làm CDR1; SEQ ID NO:28 hoặc 29 làm CDR2, và SEQ ID NO:30 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:100 hoặc 101 làm CDR1, SEQ ID NO:102 hoặc 103 làm CDR2, và SEQ ID NO:104 hoặc 105 làm CDR3. Tuy nhiên, cũng nhận thấy rằng các CDR không chỉ giới hạn ở những CDR mà bao gồm các trình tự axit amin này, mà chúng cũng có thể là các vùng gồm các trình tự axit amin bao gồm trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên, hoặc trình tự axit amin bao gồm phần chứa không ít hơn ba axit amin liên tiếp của các trình tự nêu trên.

Nhận thấy là kháng thể kháng hTfR số 6 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:228 làm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:229 làm vùng biến đổi của chuỗi nặng. Nhận thấy là vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:31 hoặc 32 làm CDR1; SEQ ID NO:33 hoặc 34 làm CDR2, và SEQ ID NO:35 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:106 hoặc 107 làm CDR1, SEQ ID NO:108 hoặc 278 làm CDR2, và SEQ ID NO:109 hoặc 110 làm CDR3. Tuy nhiên, cũng nhận thấy rằng các CDR không chỉ giới hạn ở những CDR mà bao gồm các trình tự axit amin này, mà chúng cũng có thể là các vùng gồm các trình tự axit amin bao gồm trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên, hoặc trình tự axit amin bao gồm phần chứa không ít hơn ba axit amin liên tiếp của các trình tự nêu trên.

Nhận thấy là kháng thể kháng hTfR số 7 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:230 làm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:231 làm vùng biến đổi của chuỗi nặng. Nhận thấy là vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:36 hoặc 37 làm CDR1; SEQ ID NO:38 hoặc 39 làm CDR2, và SEQ ID NO:40 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:111 hoặc 112 làm CDR1, SEQ ID NO:113 hoặc 114 làm CDR2, và

SEQ ID NO:115 hoặc 116 làm CDR3. Tuy nhiên, cũng nhận thấy rằng các CDR không chỉ giới hạn ở những CDR mà bao gồm các trình tự axit amin này, mà chúng cũng có thể là các vùng gồm các trình tự axit amin bao gồm trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên, hoặc trình tự axit amin bao gồm phần chứa không ít hơn ba axit amin liên tiếp của các trình tự nêu trên.

Nhận thấy là kháng thể kháng hTfR số 8 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:232 làm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:233 làm vùng biến đổi của chuỗi nặng. Nhận thấy là vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:41 hoặc 42 làm CDR1; SEQ ID NO:43 hoặc 44 làm CDR2, và SEQ ID NO:45 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:117 hoặc 118 làm CDR1, SEQ ID NO:119 hoặc 279 làm CDR2, và SEQ ID NO:120 hoặc 121 làm CDR3. Tuy nhiên, cũng nhận thấy rằng các CDR không chỉ giới hạn ở những CDR mà bao gồm các trình tự axit amin này, mà chúng cũng có thể là các vùng gồm các trình tự axit amin bao gồm trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên, hoặc trình tự axit amin bao gồm phần chứa không ít hơn ba axit amin liên tiếp của các trình tự nêu trên.

Nhận thấy là kháng thể kháng hTfR số 9 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:234 làm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:235 làm vùng biến đổi của chuỗi nặng. Nhận thấy là vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:46 hoặc 47 làm CDR1; SEQ ID NO:48 hoặc 49 làm CDR2, và SEQ ID NO:50 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:122 hoặc 123 làm CDR1, SEQ ID NO:124 hoặc 125 làm CDR2, và SEQ ID NO:126 hoặc 127 làm CDR3. Tuy nhiên, cũng nhận thấy rằng các CDR không chỉ giới hạn ở những CDR mà bao gồm các trình tự axit amin này, mà chúng cũng có thể là các vùng gồm các trình tự axit amin bao gồm trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên, hoặc trình tự axit amin bao gồm phần chứa không ít hơn ba axit amin

liên tiếp của các trình tự nêu trên.

Nhận thấy là kháng thể kháng hTfR số 10 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:236 làm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:237 làm vùng biến đổi của chuỗi nặng. Nhận thấy là vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:51 hoặc 52 làm CDR1; SEQ ID NO:53 hoặc 54 làm CDR2, và SEQ ID NO:55 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:128 hoặc 129 làm CDR1, SEQ ID NO:130 hoặc 131 làm CDR2, và SEQ ID NO:132 hoặc 133 làm CDR3. Tuy nhiên, cũng nhận thấy rằng các CDR không chỉ giới hạn ở những CDR mà bao gồm các trình tự axit amin này, mà chúng cũng có thể là các vùng gồm các trình tự axit amin bao gồm trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên, hoặc trình tự axit amin bao gồm phần chứa không ít hơn ba axit amin liên tiếp của các trình tự nêu trên.

Nhận thấy là kháng thể kháng hTfR số 11 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:238 làm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:239 làm vùng biến đổi của chuỗi nặng. Nhận thấy là vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:56 hoặc 57 làm CDR1; SEQ ID NO:58 hoặc 59 làm CDR2, và SEQ ID NO:60 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:134 hoặc 135 làm CDR1, SEQ ID NO:136 hoặc 137 làm CDR2, và SEQ ID NO:138 hoặc 139 làm CDR3. Tuy nhiên, cũng nhận thấy rằng các CDR không chỉ giới hạn ở những CDR mà bao gồm các trình tự axit amin này, mà chúng cũng có thể là các vùng gồm các trình tự axit amin bao gồm trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên, hoặc trình tự axit amin bao gồm phần chứa không ít hơn ba axit amin liên tiếp của các trình tự nêu trên.

Nhận thấy là kháng thể kháng hTfR số 12 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:240 làm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:241 làm vùng biến đổi của chuỗi nặng. Nhận

thấy là vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:61 hoặc 62 làm CDR1; SEQ ID NO:63 hoặc 64 làm CDR2, và SEQ ID NO:65 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:140 hoặc 141 làm CDR1, SEQ ID NO:142 hoặc 143 làm CDR2, và SEQ ID NO:144 hoặc 145 làm CDR3. Tuy nhiên, cũng nhận thấy rằng các CDR không chỉ giới hạn ở những CDR mà bao gồm các trình tự axit amin này, mà chúng cũng có thể là các vùng gồm các trình tự axit amin bao gồm trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên, hoặc trình tự axit amin bao gồm phần chứa không ít hơn ba axit amin liên tiếp của các trình tự nêu trên.

Nhận thấy là kháng thể kháng hTfR số 13 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:242 làm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:243 làm vùng biến đổi của chuỗi nặng. Nhận thấy là vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:66 hoặc 67 làm CDR1; SEQ ID NO:68 hoặc 69 làm CDR2, và SEQ ID NO:70 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:146 hoặc 147 làm CDR1, SEQ ID NO:148 hoặc 149 làm CDR2, và SEQ ID NO:150 hoặc 151 làm CDR3. Tuy nhiên, cũng nhận thấy rằng các CDR không chỉ giới hạn ở những CDR mà bao gồm các trình tự axit amin này, mà chúng cũng có thể là các vùng gồm các trình tự axit amin bao gồm trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên, hoặc trình tự axit amin bao gồm phần chứa không ít hơn ba axit amin liên tiếp của các trình tự nêu trên.

Nhận thấy là kháng thể kháng hTfR số 14 bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:244 làm vùng biến đổi của chuỗi nhẹ, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:245 làm vùng biến đổi của chuỗi nặng. Nhận thấy là vùng biến đổi của chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:71 hoặc 72 làm CDR1; SEQ ID NO:73 hoặc 74 làm CDR2, và SEQ ID NO:75 làm CDR3; và vùng biến đổi của chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:152 hoặc 153 làm CDR1, SEQ ID NO:154 hoặc 155 làm

CDR2, và SEQ ID NO:156 hoặc 157 làm CDR3. Tuy nhiên, cũng nhận thấy rằng các CDR không chỉ giới hạn ở những CDR mà bao gồm các trình tự axit amin này, mà chúng cũng có thể là các vùng gồm các trình tự axit amin bao gồm trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên, hoặc trình tự axit amin bao gồm phần chứa không ít hơn ba axit amin liên tiếp của các trình tự nêu trên.

Bảng 1 thể hiện tập hợp các SEQ ID NO của các trình tự axit amin tương ứng được bao hàm trong vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 1 đến 14.

Bảng 1: Số trình tự của các trình tự axit amin tương ứng được bao hàm trong các vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR từ số 1 đến số 14

Kháng thể số	vùng biến đổi của chuỗi nhẹ	vùng biến đổi của chuỗi nặng
1	218	219
2	220	221
3	222	223
4	224	225
5	226	227
6	228	229
7	230	231
8	232	233
9	234	235
10	236	237
11	238	239
12	240	241
13	242	243
14	244	245

Bảng 2 thể hiện tập hợp các SEQ ID NO của các trình tự axit amin tương ứng được chứa trong CDR1 đến CDR3 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và CDR1 đến CDR3 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 1 đến 14. Tuy nhiên, bảng 2 thể hiện các trình tự axit amin chỉ nêu làm ví dụ minh họa và không giới

hạn trình tự axit amin của mỗi CDR ở những trình tự axit amin trong bảng 2, nhưng người ta cho rằng các CDR này không chỉ giới hạn ở những CDR mà bao gồm những trình tự axit amin này, mà chúng cũng có thể là các vùng gồm các trình tự axit amin bao gồm trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên, hoặc các trình tự axit amin bao gồm phần chứa không ít hơn ba axit amin liên tiếp của các trình tự nêu trên.

Bảng 2: Số trình tự của các trình tự axit amin tương ứng được bao hàm trong CDR1 đến CDR3 của các vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của các kháng thể kháng hTfR từ số 1 đến số 14

Kháng thể số	vùng biến đổi của chuỗi nhẹ			vùng biến đổi của chuỗi nặng		
	CDR1	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
1	6, 7	8, 9	10	76, 77	78, 79	80, 81
2	11, 12	13, 14	15	82, 83	84, 85	86, 87
3	16, 17	18, 19	20	88, 89	90, 91	92, 93
4	21, 22	23, 24	25	94, 95	96, 97	98, 99
5	26, 27	28, 29	30	100, 101	102, 103	104, 105
6	31, 32	33, 34	35	106, 107	108, 278	109, 110
7	36, 37	38, 29	40	111, 112	113, 114	115, 116
8	41, 42	43, 44	45	117, 118	119, 279	120, 121
9	46, 47	48, 49	50	122, 123	124, 125	126, 127
10	51, 52	53, 54	55	128, 129	130, 131	132, 133
11	56, 57	58, 59	60	134, 135	136, 137	138, 139
12	61, 62	63, 64	65	140, 141	142, 143	144, 145
13	66, 67	68, 69	70	146, 147	148, 149	150, 151
14	71, 72	73, 74	75	152, 153	154, 155	156, 157

Ví dụ 7 Xác định ái lực của kháng thể kháng hTfR đối với TfR người và khỉ

Ái lực của kháng thể kháng hTfR đối với các TfR người và khỉ được xác định trên hệ thống Octet RED96 (ForteBio Inc., phân bộ của Pall Corporation), đây là hệ thống phân tích tương tác giữa các phân tử sinh học bằng cách sử dụng dụng cụ đo giao thoa lớp sinh học (bio-layer interferometry - BLI). Nguyên tắc cơ bản của phương pháp đo giao thoa lớp sinh học được giải thích vắn tắt dưới đây. Khi một lớp phân tử sinh học được cố định trên bề mặt của đầu cảm biến được chiếu xạ với ánh sáng có

chiều dài bước sóng nhất định, ánh sáng này được phản xạ từ hai bề mặt này, một bề mặt của phân tử sinh học và bề mặt còn lại là của lớp tham chiếu bên trong, tạo ra sóng ánh sáng giao thoa. Phân tử trong mẫu được đo gắn kết với phân tử sinh học trên bề mặt của đầu cảm biến và vì vậy gia tăng độ dày của các lớp ở trên đầu cảm biến, dẫn đến sự dịch chuyển giữa các sóng giao thoa. Bằng cách xác định sự biến thiên của độ dịch chuyển giữa các sóng giao thoa, xác định được số lượng phân tử gắn kết với lớp gồm các phân tử được cố định với bề mặt đầu cảm biến và có thể tiến hành phân tích động lực học của nó theo thời gian thực. Việc xác định thường được thực hiện theo hướng dẫn vận hành gắn liền với Octet RED96. Để làm TfR người, TfR người tái tổ hợp (r human TfR: Sino Biological Inc.) được sử dụng, mà nó có trình tự axit amin của vùng ngoại bào hTfR, nghĩa là, gốc xystein ở vị trí thứ 89 từ phía đầu tận cùng N đến phenylalanin ở đầu tận cùng C, của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:1, với nhãn histidin được gắn vào đầu tận cùng N. Để làm TfR khỉ, TfR khỉ tái tổ hợp (r TfR monkey: Sino Biological Inc.) được sử dụng, mà nó có trình tự axit amin của vùng ngoại bào của TfR của khỉ cynomolgus, nghĩa là, gốc xystein ở vị trí thứ 89 từ phía đầu tận cùng N đến phenylalanin ở đầu tận cùng C, của trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:2, với nhãn histidin được gắn vào đầu tận cùng N.

Dòng Clone 1 đến dòng Clone 14 được lựa chọn trong Ví dụ 5 tương ứng được pha loãng bằng môi trường RPMI 1640 chứa (1X) chất bổ sung HAT (Life Technologies Inc.) và 10% huyết thanh bào thai bò Ultra low IgG (Life Technologies Inc.) để điều chỉnh mật độ tế bào đến xấp xỉ 2×10^5 tế bào/mL. Bổ sung 200 mL mỗi dịch huyền phù chứa tế bào vào bình nón có dung tích 1L, và thực hiện nuôi cấy trong 6 đến 7 ngày ở môi trường ẩm ở 37°C, 5% CO_2 và 95% không khí, khuấy ở tốc độ khoảng 70 vòng/phút. Dịch nổi nuôi cấy được thu bằng cách ly tâm, và được lọc qua thiết bị lọc cỡ lỗ 0,22 µm (Millipore Inc.) để điều chế dịch nổi nuôi cấy. Dịch nổi nuôi cấy thu được được nạp lên cột Protein G (thể tích cột: 1 mL, GE Healthcare Inc.) mà nó đã được làm cân bằng từ trước với dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng ba thể tích cột. Sau khi rửa cột bằng cùng dung dịch đệm

với thể tích bằng 5 lần thể tích cột, kháng thể đã hấp phụ được rửa giải bằng dung dịch đệm glyxin 50 mM (pH 2,8) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng 4 lần thể tích cột, và các phân đoạn rửa giải được thu gom. Các phân đoạn đã rửa giải được điều chỉnh đến độ pH 7,0 bằng cách bổ sung dung dịch đệm Tris 1 M (pH 8,0). Các phân đoạn này được dùng làm sản phẩm tinh chế của kháng thể kháng hTfR số 1 đến 14 trong các thí nghiệm được mô tả dưới đây.

Mỗi kháng thể (kháng thể kháng hTfR số 1 đến 14) đã được tinh chế nêu trên được đưa đi pha loãng 2 lần bằng HBS-P+ (10 mM HEPES chứa 150 mM NaCl, 50 µM EDTA và 0,05% chất hoạt động bề mặt P20) để điều chế dung dịch kháng thể có 7 nồng độ khác nhau, từ 0,78125 đến 50 nM (0,117 đến 7,5 µg/mL). Các dung dịch kháng thể này được sử dụng làm dung dịch mẫu. Các TfR người và khỉ tái tổ hợp tương ứng được pha loãng bằng HBS-P+ để điều chế dung dịch 25 µg/mL, được dùng làm dung dịch TfR người tái tổ hợp-ECD (Histag) và dung dịch TfR khỉ tái tổ hợp-ECD (Histag), tương ứng.

Mỗi dung dịch mẫu được điều chế ở trên bằng bước pha loãng 2 lần được bổ sung, 200 µL/lỗ, vào đĩa 96 lỗ, màu đen (Greiner Bio-One Inc.). Mỗi dung dịch TfR người tái tổ hợp-ECD (Histag) và dung dịch TfR khỉ tái tổ hợp-ECD (Histag) được điều chế ở trên được bổ sung, 200 µL/lỗ, vào các lỗ đã định trước. Bổ sung vào các lỗ tương ứng HBS-P+, 200 µL/lỗ để xây dựng đường chuẩn, phân ly và rửa. Để tái tạo, bổ sung 10 mM Glyxin-HCl, pH 1,7, 200 µL/lỗ vào các lỗ. Bổ sung dung dịch $NiCl_2$ 0,5 mM, 200 µL/lỗ vào các lỗ để hoạt hóa. Đĩa và đầu cảm biến sinh học (Biosensor/Ni-NTA: ForteBio Inc., phân bộ của Pall Corporation) được đặt ở các vị trí quy định của Octet RED96.

Octet RED96 được chạy trong các điều kiện được chỉ ra trong bảng 3 dưới đây để thu nhận dữ liệu, sau đó dựa trên dữ liệu này, bằng cách phân tích có sử dụng phần mềm gắn kèm Octet RED96, và lắp vào đường cong phản ứng gắn kết với mô hình gắn kết 1:1 hoặc 2:1, xác định được hằng số tốc độ kết hợp (k_{on}) và hằng số tốc độ phân ly (k_{off}) của kháng thể kháng hTfR với TfR người tái tổ hợp và TfR khỉ tái tổ hợp

và tính toán được hằng số phân ly (Kd). Thực hiện đo ở 25 đến 30°C.

Bảng 3: Điều kiện vận hành của Octet RED96

	Bước	Thời gian tiếp xúc (giây)	Tốc độ (vòng/phút)	Ngưỡng
1	Đường nền 1	60	1000	-
2	Nạp	600	1000	1,5-2,0
3	Đường nền 2	60	1000	
4	Kết hợp	180	1000	
5	Phân ly	540	1000	
6	Tái tạo	5	1000	
7	Rửa	5	1000	
Các bước 6-7 được lặp lại từ 6 đến 7 lần				
8	Hoạt hóa	60	1000	-
Các bước 1-8 được lặp lại cho đến khi tất cả các mẫu được xác định				

Bảng 4 thể hiện kết quả xác định hằng số tốc độ kết hợp (k_{on}), hằng số tốc độ phân ly (k_{off}) của kháng thể kháng hTfR từ số 1 đến số 14 (tương ứng với các kháng thể từ số 1 đến số 14, tương ứng, trong bảng này), và hằng số phân ly (k_D) đối với TfR người.

Bảng 4: Ái lực của kháng thể kháng hTfR đối với TfR người

Kháng thể số	kon ($M^{-1}s^{-1}$)	koff (s^{-1})	K_D (M)
1	$5,00 \times 10^5$	$2,55 \times 10^{-6}$	$5,09 \times 10^{-12}$
2	$1,11 \times 10^6$	$1,23 \times 10^{-5}$	$1,12 \times 10^{-11}$
3	$6,53 \times 10^5$	$< 1,0 \times 10^{-7}$	$< 1,0 \times 10^{-12}$
4	$1,91 \times 10^6$	$2,29 \times 10^{-4}$	$1,20 \times 10^{-10}$
5	$6,71 \times 10^5$	$2,44 \times 10^{-5}$	$3,64 \times 10^{-11}$
6	$7,54 \times 10^5$	$7,23 \times 10^{-4}$	$9,58 \times 10^{-10}$
7	$3,69 \times 10^5$	$3,03 \times 10^{-5}$	$8,22 \times 10^{-11}$
8	$6,96 \times 10^5$	$< 1,0 \times 10^{-7}$	$< 1,0 \times 10^{-12}$
9	$7,82 \times 10^5$	$9,46 \times 10^{-5}$	$1,21 \times 10^{-10}$
10	$6,79 \times 10^5$	$7,66 \times 10^{-4}$	$1,13 \times 10^{-9}$
11	$2,72 \times 10^5$	$2,28 \times 10^{-5}$	$8,37 \times 10^{-11}$
12	$7,54 \times 10^5$	$7,23 \times 10^{-4}$	$4,32 \times 10^{-10}$
13	$8,35 \times 10^5$	$< 1,0 \times 10^{-7}$	$< 1,0 \times 10^{-12}$
14	$9,61 \times 10^5$	$< 1,0 \times 10^{-7}$	$< 1,0 \times 10^{-12}$

Bảng 5 thể hiện kết quả xác định hằng số tốc độ kết hợp (k_{on}), hằng số tốc độ phân ly (k_{off}) của kháng thể kháng hTfR từ số 1 đến số 14 (tương ứng với các kháng thể từ số 1 đến số 14, tương ứng, trong bảng này), và hằng số phân ly (k_D) đối với TfR khỉ.

Bảng 5: Ái lực của kháng thể kháng hTfR đối với TfR khỉ

Kháng thể số	kon ($M^{-1}s^{-1}$)	koff (s^{-1})	K_D (M)
1	2,80 × 10^5	< 1,0 × 10^{-7}	< 1,0 × 10^{-12}
2	4,18 × 10^5	1,75 × 10^{-6}	4,18 × 10^{-11}
3	3,89 × 10^5	< 1,0 × 10^{-7}	< 1,0 × 10^{-12}
4	7,54 × 10^5	1,21 × 10^{-4}	1,61 × 10^{-10}
5	5,19 × 10^5	7,58 × 10^{-4}	1,46 × 10^{-9}
6	4,95 × 10^5	2,36 × 10^{-4}	1,23 × 10^{-10}
7	2,66 × 10^5	4,54 × 10^{-6}	1,71 × 10^{-11}
8	5,52 × 10^5	5,07 × 10^{-3}	9,18 × 10^{-9}
9	6,99 × 10^5	1,47 × 10^{-4}	2,10 × 10^{-9}
10	3,87 × 10^5	1,22 × 10^{-2}	3,16 × 10^{-8}
11	1,24 × 10^5	4,21 × 10^{-4}	3,38 × 10^{-9}
12	5,05 × 10^5	1,26 × 10^{-4}	2,49 × 10^{-10}
13	5,91 × 10^5	7,29 × 10^{-5}	1,23 × 10^{-10}
14	7,00 × 10^5	3,61 × 10^{-5}	5,16 × 10^{-11}

Theo kết quả của phép đo ái lực của các kháng thể kháng hTfR đối với TfR người, hằng số phân ly với TfR người không lớn hơn 1×10^{-8} M đối với tất cả các kháng thể; và đối với 13 kháng thể ngoại trừ kháng thể số 10, hằng số phân ly với TfR người không lớn hơn 1×10^{-9} M; và đối với các kháng thể số 3, 8, 13 và 14, cụ thể, hằng số phân ly không lớn hơn 1×10^{-12} M (Bảng 4). Kết quả chứng tỏ rằng tất cả 14 kháng thể là kháng thể có ái lực cao đối với TfR người. Tiếp theo, xem xét kết quả phép đo ái lực của kháng thể kháng hTfR đối với TfR khỉ, hằng số phân ly với TfR khỉ không lớn hơn 5×10^{-8} M đối với tất cả các kháng thể, và đối với kháng thể số 1 và số 3, cụ thể, hằng số phân ly với TfR khỉ không lớn hơn 1×10^{-12} M (bảng 5). Kết quả chỉ ra rằng tất cả 14 kháng thể đều là những kháng thể có ái lực cao không chỉ đối với TfR người mà còn đối với TfR khỉ.

Ví dụ 7-2 Đánh giá sự hấp thu kháng thể kháng hTfR ở não bằng cách sử dụng

chuột nhắt

Tiếp theo, đối với 13 kháng thể, kháng thể kháng hTfR số 1 đến 9 và kháng thể số 11 đến 14, thực hiện đánh giá sự vận chuyển của chúng vào não qua BBB, bằng cách sử dụng chuột nhắt đã được gắn gen hTfR (chuột nhắt hTfR-KI) trong đó gen mã hóa vùng ngoại bào của thụ thể transferrin ở chuột nhắt đã được thay thế bằng gen mã hóa vùng ngoại bào của thụ thể transferrin người. Chuột nhắt hTfR-KI được tạo ra bằng phương pháp được mô tả tổng thể dưới đây. Ngoài ra, kháng thể đã tinh chế của ví dụ 7 được sử dụng làm kháng thể kháng hTfR.

Đoạn ADN có trình tự nucleotit như được nêu trong SEQ ID NO:253 được tổng hợp hóa học, trong đó gen kháng neomycin được chặn hai bên sườn bằng các trình tự loxP được đặt ở phía đầu 3′ của cADN mã hóa hTfR khảm mà vùng nội bào của nó bao gồm trình tự axit amin của hTfR chuột nhắt và vùng ngoại bào của nó bao gồm trình tự axit amin của trình tự hTfR người. Đoạn ADN này được cài xen bằng phương pháp thông thường vào vectơ hướng đích có trình tự nucleotit như được nêu trong SEQ ID NO:254 làm trình tự nhánh 5' và trình tự nucleotit như được nêu trong SEQ ID NO:255 làm trình tự nhánh 3', và cấu trúc này được đưa vào tế bào chuột nhắt ES bằng phương pháp điện chuyển. Các tế bào ES ở chuột nhắt mà trong đó gen này đã được đưa vào được đưa đi nuôi cấy chọn lọc trong môi trường với sự có mặt của neomycin để chọn lọc tế bào chuột nhắt ES mà trong đó vectơ hướng đích đã được kết hợp vào nhiễm sắc thể nhờ tái tổ hợp tương đồng. Tế bào ES chuột nhắt tái tổ hợp thu được được tiêm vào 8 phôi giai đoạn tế bào (phôi vật chủ) của chuột nhắt ICR, và các phôi được điều chế được cấy vào chuột nhắt giả mang thai (recipient mice) mà thu được nhờ việc giao phối với chuột nhắt đã bị thắt mạch. Chuột con (chuột nhắt khảm) thu được được kiểm tra màu lông của chúng, và chuột nhắt mà có tỷ lệ lông trắng trên toàn bộ lông của cơ thể của chúng cao hơn được lựa chọn, nghĩa là, chuột nhắt trong đó các tế bào ES góp phần vào sự phát triển các cơ quan riêng biệt ở tỷ lệ cao hơn. Mỗi trong số các chuột nhắt khảm này được giao phối với chuột nhắt ICR để tạo ra chuột nhắt F1. Chuột nhắt F1 với lông trắng được lựa chọn, ADN được chiết từ mô đuôi của

chúng được phân tích, và chuột nhắt mà gen thụ thể transferrin chuột nhắt của chúng ở trên nhiễm sắc thể của chúng được thay thế bằng hTfR khảm, được đề cập đến như là chuột nhắt hTfR-KI.

13 kháng thể kháng hTfR nêu trên được gắn nhãn huỳnh quang bằng fluorescein isothioxyanat (FITC) có sử dụng kit gắn nhãn Fluorescein Labeling Kit-NH_2 (Dojindo Laboratories) theo hướng dẫn sử dụng đi kèm. Các dung dịch PBS được điều chế, mỗi dung dịch chứa một trong số 13 kháng thể kháng hTfR đã được gắn nhãn huỳnh quang FITC. Mỗi dung dịch kháng thể PBS này được tiêm trong tĩnh mạch vào chuột nhắt hTfR-KI (đực, 10 đến 12 tuần tuổi), ở liều lượng kháng thể kháng hTfR là 3 mg/kg. Để làm mẫu đối chứng, dung dịch PBS chứa IgG1 chuột nhắt (Sigma Inc.), được gắn nhãn huỳnh quang FITC theo cách tương tự như nêu trên, được tiêm trong tĩnh mạch vào chuột nhắt hTfR-KI (đực, 10 đến 12 tuần tuổi), ở liều lượng 3 mg/kg. Khoảng tám giờ sau khi tiêm trong tĩnh mạch, toàn bộ cơ thể được dội bằng nước muối sinh lý, và thu nhận não (phần bao gồm đại não và tiểu não). Não được cắt ra được cân (trọng lượng ướt), và sau đó mô não được đồng hóa với T-PER (Thermo Fisher Scientific Inc.) chứa hỗn hợp chất ức chế proteaza (Proteaza Inhibitor Cocktail - Sigma Inc.). Dịch đồng nhất được ly tâm, phần dịch nổi được thu hồi, và lượng kháng thể được gắn nhãn huỳnh quang FITC chứa trong phần dịch nổi này được xác định theo cách sau. Trước tiên, 10 µL kháng thể kháng FITC (Bethyl Inc.) được bổ sung vào mỗi lỗ của đĩa High Bind Plate (Meso Scale Diagnostics Inc.) và được để yên trong một giờ để cố định nó vào đĩa. Tiếp theo, đĩa được phong bế bằng cách bổ sung 150 µL dung dịch đệm phong bế SuperBlock trong PBS (Thermo Fisher Scientific Inc.) vào mỗi lỗ và lắc đĩa trong một giờ. Tiếp theo, 25 µL dịch nổi của dịch đồng nhất mô não được bổ sung vào mỗi lỗ, và đĩa được lắc trong một giờ. Tiếp theo, 25 µL kháng thể SULFO-TAG (dê) kháng chuột nhắt (Meso Scale Diagnostics Inc.) được bổ sung vào mỗi lỗ, và tiếp tục lắc trong một giờ. Tiếp theo, bổ sung 150 µL dung dịch đệm đọc T (Meso Scale Diagnostics Inc.) vào mỗi lỗ, và mức phát quang từ mỗi lỗ được đọc trên thiết bị đọc Sector™ Imager 6000. Lượng kháng thể được chứa trong một gam não

(trọng lượng ướt) (nồng độ của kháng thể kháng hTfR trong mô não) được tính toán, bằng cách xây dựng đường cong tiêu chuẩn dựa trên các số đo của các mẫu chuẩn chứa kháng thể kháng hTfR được gắn nhãn huỳnh quang FITC ở nồng độ đã biết, và sau đó nội suy ra số đo của các mẫu có tham chiếu đến mẫu chuẩn này. Kết quả được thể hiện trong bảng 5-2.

Nồng độ của kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể được chỉ định là kháng thể kháng hTfR số 1 đến 9 và 11 đến 14 trong mô não cao hơn gấp 25 lần so với nồng độ của mẫu đối chứng. Nồng độ của kháng thể kháng hTfR số 5 và 6 đều cao hơn gấp 100 lần so với nồng độ của mẫu đối chứng, cụ thể là, với kháng thể kháng hTfR số 6, giá trị này đạt tới cao hơn xấp xỉ 160 lần so với mẫu đối chứng. Kết quả này chỉ ra rằng kháng thể được chỉ định là kháng thể kháng hTfR số 1 đến 9 và số 11 đến 14 vận chuyển vào não, dễ dàng đi qua BBB.

Bảng 5-2: Nồng độ của kháng thể kháng hTfR trong mô não

Kháng thể số	Mô não (µg/g trọng lượng ướt)	Giá trị tương ứng so với mẫu đối chứng
Đối chứng	0,003	1
1	0,141	47,0
2	0,126	42,0
3	0,0833	27,8
4	0,221	73,7
5	0,335	112
6	0,492	164
7	0,0855	28,5
8	0,133	44,3
9	0,112	37,3
11	0,103	34,3
12	0,215	71,7
13	0,127	42,3
14	0,213	71,0

Ví dụ 8 Phân tích dược động học của kháng thể kháng hTfR ở khỉ

Mỗi kháng thể kháng hTfR số 1 đến 3 được dùng trong tĩnh mạch một lần cho khỉ đực cynomolgus ở liều lượng 5,0 mg/kg, và 8 giờ sau khi dùng, tiến hành rửa toàn bộ cơ thể bằng nước muối sinh lý. Để làm mẫu đối chứng âm tính, khỉ không nhận kháng thể kháng hTfR được rửa toàn bộ cơ thể theo cách tương tự. Sau khi rửa, mô não bao gồm hành tủy được cắt ra. Bằng cách sử dụng mô não, nồng độ của kháng thể kháng hTfR được xác định, và việc nhuộm hóa miễn dịch mô được thực hiện. Ngoài ra, kháng thể kháng hTfR được sử dụng là các sản phẩm tinh chế được mô tả trong ví dụ 7.

Việc xác định nồng độ của kháng thể kháng hTfR trong mô não được tiến hành chủ yếu theo quy trình được mô tả dưới đây. Mô não đã thu nhận được chia thành đại não, tiểu não, đồi hải mã, và hành tủy, và chúng được đồng hóa tương ứng với dung dịch đệm RIPA (Wako Pure Chemical Industries Inc.) chứa hỗn hợp chất ức chế proteaza (Proteaza Inhibitor Cocktail - Sigma-Aldrich Inc.), và được ly tâm để thu phần dịch nổi. Affinipure Fcγ pAb dê kháng IgG chuột nhắt (Jackson ImmunoResearch Inc.) được bổ sung, 10 μL, vào mỗi lỗ của đĩa High Bind Plate (Meso Scale Diagnostics Inc.), và đĩa được để yên trong một giờ để cố định kháng thể. Tiếp theo, đĩa được phong bế bằng cách bổ sung 150 μL dung dịch đệm phong bế SuperBlock trong PBS (Thermo Fisher Scientific Inc.) vào mỗi lỗ và được lắc trong một giờ. Tiếp theo, 25 μL dịch nổi của dịch đồng nhất mô não được bổ sung vào mỗi lỗ, và đĩa được lắc trong một giờ. Tiếp theo, 25 μL Fab-Biotin dê Affinipure kháng IgG chuột nhắt (Jackson ImmunoResearch Inc.) được bổ sung vào mỗi lỗ, và tiếp tục lắc trong một giờ. Tiếp theo, 25 μL SULFO-Tag-Streptavidin (Meso Scale Diagnostics Inc.) được bổ sung vào mỗi lỗ, và tiếp tục lắc trong nửa giờ. Bổ sung 150 μL dung dịch đệm đọc T (Meso Scale Diagnostics Inc.) vào mỗi lỗ, và mức phát huỳnh quang từ mỗi lỗ được đọc trên thiết bị đọc Sector™ Imager 6000 (Meso Scale Diagnostics). Lượng kháng thể được chứa trong một gam não (trọng lượng ướt) (nồng độ của kháng thể kháng hTfR trong mô não) được tính toán, bằng cách xây dựng đường cong tiêu chuẩn dựa

trên các số đo của các mẫu chuẩn chứa kháng thể kháng hTfR ở nồng độ đã biết, và sau đó nội suy ra số đo của mỗi mẫu có tham chiếu đến mẫu chuẩn này.

Kết quả của phép đo nồng độ của kháng thể kháng hTfR trong mô não được thể hiện trong bảng 6. Mặc dù quan sát thấy bất kỳ trong số các kháng thể kháng hTfR số 1 đến số 3 tích tụ trong đại não, tiểu não, đồi hải mã và hành tủy, có mối liên hệ về lượng của chúng như sau: kháng thể kháng hTfR số 1 < kháng thể kháng hTfR số 3 < kháng thể kháng hTfR số 2, cho thấy mức tích tụ thấp nhất là với kháng thể kháng hTfR số1 và cao nhất là với kháng thể kháng hTfR số 2. So với kháng thể kháng hTfR số 1, mức tích tụ kháng thể kháng hTfR số 2 gấp khoảng 4,3 lần trong đại não, khoảng 6,6 lần trong tiểu não, khoảng 4,6 lần trong vùng đồi hải mã, và khoảng 2 lần trong hành tủy. Kết quả này chứng tỏ rằng 3 kháng thể này có đặc tính đi qua hàng rào máu não và tích tụ trong mô não, và thể hiện rằng bằng cách gắn kết các kháng thể này với dược phẩm mà cần được thực hiện chức năng trong mô não, có thể khiến cho dược phẩm này tích tụ một cách hữu hiệu trong mô não.

Bảng 6: Nồng độ của kháng thể kháng hTfR trong mô não (µg/g trọng lượng ướt)

Kháng thể số	Đại não	Tiểu não	Đồi hải mã	Hành tủy
1	0,18	0,15	0,12	0,22
2	0,78	0,99	0,56	0,43
3	0,82	0,6	0,33	0,31

Việc nhuộm hóa miễn dịch mô của kháng thể kháng hTfR trong các mô não này được thực hiện bằng các quy trình về cơ bản được mô tả dưới đây. Các mô đã thu nhận được làm lạnh đông nhanh chóng đến -80°C trong Tissue-Tek Cryo 3DM (Sakura Finetek Inc.) để điều chế các khối mô lạnh đông. Các khối đã lạnh đông được cắt thành các phần 4-µm, và được dán vào các lam kính được phủ MAS (Matsunami Glass Inc.). Các phần mô được phản ứng với 4% paraformaldehyt (Wako Pure Chemical Industries Inc.) trong 5 phút ở 4°C và được cố định vào lam kính. Tiếp theo, các phần mô được phản ứng với dung dịch metanol chứa 0,3% hydro peroxit (Wako Pure Chemical

Industries Inc.) trong 30 phút để làm bất hoạt peroxidaza nội sinh. Tiếp theo, lam kính được phong bế bằng cách phản ứng với dung dịch đệm phong bế SuperBlock trong PBS trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Tiếp theo, các phần mô được phản ứng với kháng thể chuỗi nặng và chuỗi nhẹ IgG của chuột nhắt (Bethyl Laboratories Inc.) trong một giờ ở nhiệt độ trong phòng. Các phần mô được để hiện màu với cơ chất DAB (3,3'-diaminobenzidin, Vector Laboratories Inc.), đã được nhuộm màu tương phản với dung dịch hematoxylin của Mayer (Merck Inc.), được dính chặt vào sau khi đã được khử nước và làm trong, và quan sát dưới kính hiển vi quang học.

Fig. 1 thể hiện kết quả của việc nhuộm hóa miễn dịch mô của kháng thể kháng hTfR trong vỏ não. Quan sát thấy việc nhuộm màu đặc hiệu trong mạch máu trong vỏ não của khỉ được cho dùng kháng thể kháng hTfR số 1 đến số 3 (Fig. 1b đến d, tương ứng). Cụ thể, cũng quan sát thấy việc nhuộm đặc hiệu một cách rộng khắp trong vỏ não của khỉ được cho dùng kháng thể kháng hTfR số 2 hoặc 3, vùng trung mô não, phía ngoài mạch máu (các Fig. 1c và 1d, tương ứng). Ngoài ra, không quan sát thấy sự hiện màu trong vỏ não của khỉ đối chứng không được dùng kháng thể kháng hTfR, cho thấy gần như không có sự nhuộm màu nền ở đây (Fig. 1a).

Fig. 2 thể hiện kết quả của việc nhuộm hóa miễn dịch mô của kháng thể kháng hTfR ở vùng đồi hải mã. Quan sát thấy việc nhuộm đặc hiệu mạch máu trong đại não của khỉ được cho dùng kháng thể kháng hTfR số 1 đến số 3 (Fig. 2b đến d, tương ứng). Cụ thể, trong vùng đồi hải mã của khỉ được cho dùng kháng thể kháng hTfR số 2 hoặc 3, cũng quan sát thấy việc nhuộm đặc hiệu các tế bào dạng thần kinh (Fig. 2c và 2d, tương ứng), và cũng quan sát thấy việc nhuộm đặc hiệu và rộng khắp của vùng trung mô não, bên ngoài mạch máu. Ngoài ra, không quan sát thấy sự hiện màu trong vùng đồi hải mã của khỉ đối chứng không được dùng kháng thể kháng hTfR, cho thấy gần như không có sự nhuộm màu nền ở đây (Fig. 2a).

Fig. 3 thể hiện kết quả của việc nhuộm hóa miễn dịch mô của kháng thể kháng hTfR ở vùng tiểu não. Quan sát thấy việc nhuộm đặc hiệu mạch máu trong tiểu não của khỉ được cho dùng kháng thể kháng hTfR số 1 đến số 3 (Fig. 3b đến d, tương ứng).

Cụ thể, trong vùng tiểu não của khỉ được cho dùng kháng thể kháng hTfR số 2 hoặc 3, cũng quan sát thấy việc nhuộm đặc hiệu các tế bào Purkinje (Fig. 3c và 3d, tương ứng). Ngoài ra, không quan sát thấy sự nhuộm màu trong vùng tiểu não của mẫu đối chứng không dùng kháng thể kháng hTfR, cho thấy gần như không có sự nhuộm màu nền ở đây (Fig. 3a).

Từ các kết quả nêu trên về việc nhuộm hóa miễn dịch mô trong đại não, vùng đồi hải mã, và tiểu não, người ta cho rằng mặc dù kháng thể kháng hTfR số 1 có thể gắn kết với hTfR hiện có trên nội mô của mạch máu trong não, một lượng tương đối nhỏ của chúng vận chuyển đến trung mô thuộc não so với các kháng thể kháng hTfR số 2 và 3. Mặt khác, đã phát hiện ra rằng kháng thể kháng hTfR số 2 và 3 có thể gắn kết với hTfR hiện có trên nội mô của mạch máu thuộc não, và sau khi gắn kết với hTfR, chúng đi qua hàng rào máu não và vận chuyển vào trung mô não, và tiếp theo, được hấp thụ vào trung mô não và các tế bào dạng thần kinh trong vùng đồi hải mã, và được giữ bởi các tế bào Purkinje trong tiểu não.

Ví dụ 9 Điều chế kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR

Việc làm giống như của người đối với trình tự axit amin được chứa trong vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 1 đến 3 được thể hiện trong bảng 1. Từ kháng thể kháng hTfR số 1 thu được vùng biến đổi của chuỗi nhẹ được làm giống như của người có một trong số các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:158 đến SEQ ID NO:163, và vùng biến đổi chuỗi nặng được làm giống như của người có một trong số các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:166 đến SEQ ID NO:171.

Từ kháng thể kháng hTfR số 2 thu được vùng biến đổi của chuỗi nhẹ được làm giống như của người có một trong số các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:174 đến SEQ ID NO:179, và vùng biến đổi chuỗi nặng được làm giống như của người có một trong số các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:182 đến SEQ ID NO:187.

Từ kháng thể kháng hTfR số 3 thu được vùng biến đổi của chuỗi nhẹ được

làm giống như của người có một trong số các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:190 đến SEQ ID NO:195, và vùng biến đổi chuỗi nặng được làm giống như của người có một trong số các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:204 đến SEQ ID NO:209.

Ví dụ 10 Xây dựng gen mã hóa kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR

Đối với mỗi kháng thể kháng hTfR số 1 đến 3 nêu trên, tổng hợp nhân tạo các đoạn ADN chứa gen mã hóa chuỗi nhẹ và chuỗi nặng với chiều dài đầy đủ, mang vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR tương ứng. Để tổng hợp, bổ sung trình tự MluI và trình tự mã hóa peptit dẫn, theo thứ tự từ đầu 5', ở phía đầu 5' của gen mã hóa chuỗi nhẹ với chiều dài đầy đủ, và bổ sung trình tự NotI ở phía đầu 3'. Bổ sung trình tự MluI và trình tự mã hóa peptit dẫn, theo thứ tự từ đầu 5', ở phía đầu 5' của gen mã hóa chuỗi nặng với chiều dài đầy đủ, và bổ sung trình tự NotI ở phía đầu 3'. Peptit dẫn được đưa vào ở trên đóng vai trò làm tín hiệu tiết khi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người được biểu hiện trong tế bào của động vật có vú là các tế bào chủ sao cho chuỗi nhẹ và chuỗi nặng được tiết ra từ các tế bào này.

Đối với chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 1, đoạn ADN (SEQ ID NO:165) được tổng hợp, đoạn này bao gồm gen mã hóa chuỗi nhẹ với chiều dài đầy đủ (chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1) bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:164, mà có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:163 trong vùng biến đổi.

Đối với chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 1, đoạn ADN (SEQ ID NO:173) được tổng hợp, đoạn này bao gồm gen mã hóa chuỗi nặng với chiều dài đầy đủ (chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1) bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:172, mà có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:171 trong vùng biến đổi.

Chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR được

mã hóa bởi đoạn ADN như được nêu trong SEQ ID NO:173 là IgG1.

Đối với chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 2, đoạn ADN (SEQ ID NO:181) được tổng hợp, đoạn này bao gồm gen mã hóa chuỗi nhẹ với chiều dài đầy đủ (chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2) bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:180, mà có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:179 trong vùng biến đổi.

Đối với chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 2, đoạn ADN (SEQ ID NO:189) được tổng hợp, đoạn này bao gồm gen mã hóa chuỗi nặng với chiều dài đầy đủ (chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2) bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:188, mà có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:187 trong vùng biến đổi.

Chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR được mã hóa bởi đoạn ADN như được nêu trong SEQ ID NO:189 là IgG1.

Đối với chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 3, đoạn ADN (SEQ ID NO:197) được tổng hợp, đoạn này bao gồm gen mã hóa chuỗi nhẹ với chiều dài đầy đủ (chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3) bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:196, mà có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:191 trong vùng biến đổi.

Đối với chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3, đoạn ADN (SEQ ID NO:211) được tổng hợp, đoạn này bao gồm gen mã hóa chuỗi nặng với chiều dài đầy đủ (chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3) bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210, mà có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205 trong vùng biến đổi.

Chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR được mã hóa bởi đoạn ADN như được nêu trong SEQ ID NO:211 là IgG1.

Đối với chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 3, cũng tổng hợp được

đoạn ADN (SEQ ID NO:199) mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nhẹ với chiều dài đầy đủ (chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR

số 3-2) bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:198, mà có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:193 trong vùng biến đổi;

đoạn ADN (SEQ ID NO:201) mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nhẹ với chiều dài đầy đủ (chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-3) bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:200, mà có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:194 trong vùng biến đổi;

đoạn ADN (SEQ ID NO:203) mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nhẹ với chiều dài đầy đủ (chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-4) bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:202, mà có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:195 trong vùng biến đổi;

Ngoài ra, đối với chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3, cũng tổng hợp được đoạn ADN (SEQ ID NO:213) mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nặng với chiều dài đầy đủ (chuỗi nặng IgG4 của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3) bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ NO:212, mà nó có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205 trong vùng biến đổi;

Chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR được mã hóa bởi đoạn ADN như được nêu trong SEQ ID NO:213 là IgG4.

Ví dụ 11 Xây dựng vectơ biểu hiện kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR

Vectơ pEF/myc/nuc (Invitrogen Inc.) được phân cắt bằng KpnI và NcoI để cắt ra vùng bao gồm trình tự khởi đầu EF-1α và intron thứ nhất của nó, và vùng này được cắt đầu tù bằng T4 DNA polymeraza. Vùng bao gồm trình tự tăng cường /khởi đầu CMV và intron được loại bỏ khỏi pCI-neo (Invitrogen Inc.) bằng cách phân cắt nó bằng BglII và EcoRI, và đoạn còn lại được cắt đầu tù bằng T4 DNA polymeraza. Cài xen vùng đã nêu ở trên bao gồm trình tự khởi đầu EF-1α và intron đầu tiên của nó vào đoạn thu được để tạo ra vectơ pE-neo. Vectơ pE-neo này được phân cắt bằng SfiI và BstXI để loại bỏ vùng khoảng 1 kb bao gồm gen kháng neomycin. PCR được thực hiện bằng cách sử dụng pcDNA3.1/Hygro(+)(Invitrogen) làm khuôn và sử dụng đoạn

mồi Hyg-Sfi5' (SEQ ID NO:216) và đoạn mồi Hyg-BstX3' (SEQ ID NO:217) để khuếch đại gen hygromycin. Gen hygromycin đã được khuếch đại được phân cắt bằng SfiI và BstXI và được cài xen vào vectơ pE-neo nêu trên mà từ đó gen kháng neomycin đã được loại bỏ để xây dựng vectơ pE-hygr.

Vectơ pE-hygr và pE-neo đều được phân cắt bằng MluI và NotI. Đoạn ADN (SEQ ID NO:165) mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1 và đoạn ADN (SEQ ID NO:173) mã hóa chuỗi nặng của kháng thể, đều được tổng hợp trong ví dụ 10, được phân cắt bằng MluI và NotI, và các đoạn thu được được cài xen vào vectơ pE-hygr và vectơ pE-neo, tương ứng, giữa các vị trí MluI và NotI của chúng. Các vectơ thu được được sử dụng làm vectơ biểu hiện đối với chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1, pE-hygr(LC1), và dùng làm vectơ biểu hiện đối với chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1, pE-neo(HC1), trong các thí nghiệm được mô tả dưới đây.

Theo cách tương tự, đoạn ADN (SEQ ID NO:181) mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2 và đoạn ADN (SEQ ID NO:189) mã hóa chuỗi nặng của kháng thể, đều được tổng hợp trong ví dụ 10, đều được phân cắt bằng MluI và NotI, và các đoạn thu được được cài xen vào vectơ pE-hygr và vectơ pE-neo, tương ứng, giữa các vị trí MluI và NotI của chúng. Các vectơ thu được được sử dụng làm vectơ biểu hiện đối với chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2, pE-hygr(LC2), và dùng làm vectơ biểu hiện đối với chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2, pE-neo(HC2), trong các thí nghiệm được mô tả dưới đây.

Ngoài ra, theo cách tương tự như trên đây, đoạn ADN (SEQ ID NO:197) mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 và đoạn ADN (SEQ ID NO:211) mã hóa chuỗi nặng của kháng thể, đều được tổng hợp trong ví dụ 10, đều được phân cắt bằng MluI và NotI, và các đoạn thu được được cài xen vào vectơ pE-hygr và vectơ pE-neo, tương ứng, giữa các vị trí MluI và NotI của chúng.

Các vectơ thu được được sử dụng làm vectơ biểu hiện đối với chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3, pE-hygr(LC3), và dùng làm vectơ biểu hiện đối với chuỗi nặng của kháng thể, pE-neo(HC3), trong các thí nghiệm được mô tả dưới đây.

Ngoài ra, đối với chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 3, các đoạn sau đây được tổng hợp trong ví dụ 10, cụ thể là:

đoạn ADN (SEQ ID NO:199) mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2,

đoạn ADN (SEQ ID NO:201) mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-3, và

đoạn ADN (SEQ ID NO:203) mã hóa chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-4,

được phân cắt bằng MluI và NotI, và được cài xen vào vectơ pE-hygr giữa các vị trí MluI và NotI của nó để xây dựng

pE-hygr(LC3-2), vectơ biểu hiện đối với chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2,

pE-hygr(LC3-3), vectơ biểu hiện đối với chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-3, và

pE-hygr(LC3-4), vectơ biểu hiện đối với chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-4, tương ứng.

Ngoài ra, theo cách tương tự như nêu trên, đối với chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3, đoạn ADN (SEQ ID NO:213) mã hóa chuỗi nặng IgG4 của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 được tổng hợp trong ví dụ 10 được phân cắt bằng MluI và NotI, và được cài xen vào vectơ pE-neo giữa các vị trí MluI và NotI của nó để xây dựng pE-neo(HC3-IgG4), vectơ biểu hiện đối với chuỗi nặng IgG4 của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3.

Ví dụ 12 Xây dựng tế bào biểu hiện kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR

Các tế bào CHO (CHO-K1: thu được từ Bộ sưu tập chủng giống kiểu Mỹ - American Type Culture Collection) được biến nạp với pE-hygr(LC1), vectơ để biểu hiện chuỗi nhẹ, và pE-neo(HC1), vectơ để biểu hiện chuỗi nặng, cả hai đều được xây dựng trong ví dụ 11, như sau, bằng cách sử dụng GenePulser (Bio-Rad Inc.). Sự biến nạp của các tế bào được thực hiện hoàn toàn theo cách sau đây. 5×10^5 tế bào CHO-K1 được cấy trong đĩa nuôi cấy đường kính 3,5 cm chứa môi trường CD OptiCHO™ (Life Technologies Inc.) và được nuôi cấy qua đêm ở 37°C, 5% CO_2. Môi trường này được thay bằng môi trường Opti-MEM™ I (Life Technologies Inc.), và các tế bào được tạo huyền phù ở mật độ 5×10^6 tế bào/mL. 100 µL huyền phù tế bào được lấy ra, bổ sung pE-hygr(LC1) và dung dịch ADN plasmid pE-neo(HC1) với lượng 5 µL mỗi loại vào, cả hai đều được pha loãng bằng môi trường Opti-MEM™ I đến 100 µg/mL. Các plasmid này được đưa vào các tế bào bằng phương pháp điện chuyển có sử dụng GenePulser (Bio-Rad Inc.). Tiếp theo, tế bào được nuôi cấy qua đêm trong điều kiện 37°C, 5% CO_2, và được đưa đi nuôi cấy chọn lọc trong môi trường CD OptiCHO™ được bổ sung 0,5 mg/mL hygromycin và 0,8 mg/mL G418.

Tiếp theo, các tế bào đã được lựa chọn ở trên đây nhờ việc nuôi cấy chọn lọc được cấy trên đĩa 96 lỗ sao cho không nhiều hơn một tế bào có thể được cấy trên mỗi lỗ bằng cách pha loãng giới hạn. Tiếp theo, tế bào được nuôi cấy trong khoảng 10 ngày sao cho các khuẩn lạc đơn dòng được hình thành. Dịch nổi nuôi cấy tương ứng của các lỗ trong đó hình thành khuẩn lạc đơn dòng được thu nhận, lượng kháng thể được làm giống như của người được chứa trong dịch nổi nuôi cấy được xác định bằng phương pháp ELISA, và các dòng tế bào biểu hiện kháng thể được làm giống như của người ở mức cao được lựa chọn.

Thử nghiệm ELISA nêu trên thường được thực hiện như sau. Bổ sung 100 µL dung dịch kháng thể đa dòng dê kháng IgG người được pha loãng bằng dung dịch đệm natri bicacbonat 0,05 M (độ pH 9,6) đến 4 µg/mL vào mỗi lỗ của đĩa vi chuẩn độ 96 lỗ (Nunc Inc.), và đĩa được để yên trong ít nhất một giờ ở nhiệt độ trong phòng để cho phép kháng thể được hấp phụ bởi đĩa. Tiếp theo, sau khi mỗi lỗ được rửa ba lần bằng

nước muối đệm phosphat (pH 7,4) được bổ sung 0,05% Tween20 (PBS-T), 200 µL dung dịch đệm phong bế Starting Block (PBS) (Thermo Fisher Scientific Inc.) được bổ sung vào mỗi lỗ, và đĩa được để yên trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi mỗi lỗ được rửa ba lần bằng PBS-T, dịch nổi nuôi cấy hoặc sản phẩm tiêu chuẩn đối chứng IgG người đã được pha loãng bằng PBS có bổ sung 0,5% BSA và 0,05% Tween20 (PBS-BT) đến nồng độ thích hợp, được bổ sung vào mỗi lỗ, với lượng 100 µL, và các đĩa được để yên trong ít nhất một giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi các đĩa được rửa ba lần bằng PBS-T, 100 µL dung dịch kháng thể đa dòng kháng IgG người được gắn nhãn HRP mà đã được pha loãng bằng PBS-BT được bổ sung vào mỗi lỗ, và các đĩa được để yên trong ít nhất một giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi các lỗ được rửa ba lần bằng PBS-T, 0,4 mg/mL o-phenylendiamin trong dung dịch đệm xitrat-phosphat (pH 5,0) được bổ sung vào mỗi lỗ, với lượng 100 µL, và các lỗ được để yên trong từ 8 đến 20 phút ở nhiệt độ trong phòng. Tiếp theo, axit sulfuric 1 mol/L được bổ sung vào mỗi lỗ, với lượng 100 µL để ngừng phản ứng, và xác định độ hấp thụ ở mỗi lỗ ở 490 nm bằng cách sử dụng thiết bị đọc đĩa 96 lỗ. Các tế bào tương ứng với các lỗ mà có độ hấp thụ cao hơn được để cập đến như là dòng tế bào biểu hiện kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1 ở mức cao. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 1.

Theo cách tương tự, các tế bào CHO được biến nạp với vectơ pE-hygr(LC2) biểu hiện chuỗi nhẹ và vectơ pE-neo(HC2) biểu hiện chuỗi nặng, cả hai đều được xây dựng trong ví dụ 11, và thu được dòng tế bào biểu hiện kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2 ở mức cao. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 2.

Ngoài ra, theo cách tương tự, các tế bào CHO được biến nạp với vectơ pE-hygr(LC3) biểu hiện chuỗi nhẹ và vectơ pE-neo(HC3) biểu hiện chuỗi nặng, cả hai đều được xây dựng trong ví dụ 11, và thu được dòng tế bào biểu hiện kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 ở mức cao. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 3.

Ngoài ra, theo cách tương tự, các tế bào CHO được biến nạp với vectơ pE-hygr(LC3-2) biểu hiện chuỗi nhẹ và vectơ pE-neo(HC3) biểu hiện chuỗi nặng, cả hai đều được xây dựng trong ví dụ 11, và thu được dòng tế bào biểu hiện kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 ở mức cao. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 3-2.

Ngoài ra, theo cách tương tự, các tế bào CHO được biến nạp với vectơ pE-hygr(LC3-3) biểu hiện chuỗi nhẹ và vectơ pE-neo(HC3) biểu hiện chuỗi nặng, cả hai đều được xây dựng trong ví dụ 11, và thu được dòng tế bào biểu hiện kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-3 ở mức cao. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 3-3.

Ngoài ra, theo cách tương tự, các tế bào CHO được biến nạp với vectơ pE-hygr(LC3-4) biểu hiện chuỗi nhẹ và vectơ pE-neo(HC3) biểu hiện chuỗi nặng, cả hai đều được xây dựng trong ví dụ 11, và thu được dòng tế bào biểu hiện kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-4 ở mức cao. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 3-4.

Ngoài ra, theo cách tương tự, các tế bào CHO được biến nạp với vectơ pE-hygr(LC3) biểu hiện chuỗi nhẹ và vectơ pE-neo(HC3-IgG4) biểu hiện chuỗi nặng, cả hai đều được xây dựng trong ví dụ 11, và thu được dòng tế bào biểu hiện kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 (IgG4) ở mức cao. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 3 (IgG4).

Ngoài ra, theo cách tương tự, các tế bào CHO được biến nạp với vectơ pE-hygr(LC3-2) biểu hiện chuỗi nhẹ và vectơ pE-neo(HC3-IgG4) biểu hiện chuỗi nặng, cả hai đều được xây dựng trong ví dụ 11, và thu được dòng tế bào biểu hiện kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 (IgG4) ở mức cao. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 3-2 (IgG4).

Ví dụ 13 Tinh chế kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR

Dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 1, dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 2, dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 3, dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 3-2, dòng tế

bào biểu hiện kháng thể số 3-3 và dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 3-4 thu được trong ví dụ 12 tương ứng được pha loãng bằng môi trường CD OptiCHO™ đến mật độ xấp xỉ 2×10^5 tế bào/mL. Huyền phù chứa tế bào, 200 mL, được bổ sung vào bình nón có dung tích 1L, và được nuôi cấy trong 6 đến 7 ngày trong môi trường ẩm ở 37°C, 5% CO_2, 95% không khí, kèm theo khuấy ở tốc độ khoảng 70 vòng/phút. Mỗi dịch nổi nuôi cấy được thu nhận bằng cách ly tâm, và được lọc qua thiết bị lọc cỡ lỗ 0,22 μm (Millipore Inc.) để điều chế dịch nổi nuôi cấy. Bổ sung năm thể tích dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl vào mỗi dịch nổi nuôi cấy thu được, và nạp vào cột Protein A (thể tích cột: 1 mL, Bio-Rad Inc.) đã được làm cân bằng từ trước với dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng ba thể tích cột. Tiếp theo, cột được rửa bằng cùng dung dịch đệm vơi thể tích bằng năm lần thể tích cột, và kháng thể đã hấp phụ được làm giống như của người được rửa giải bằng dung dịch đệm glyxin 50 mM (pH 2.8) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng bốn lần thể tích cột, và các phân đoạn rửa giải được thu gom. Các phân đoạn đã rửa giải được bổ sung và trung hòa bằng dung dịch đệm Tris 1 M (pH 8,0) và được dùng làm chế phẩm kháng thể đã tinh chế.

Ở trên đây, kháng thể đã tinh chế từ dịch nổi nuôi cấy của dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 1 được gọi là kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1. Kháng thể đã tinh chế từ dịch nổi nuôi cấy của dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 2 được gọi là kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2. Kháng thể đã tinh chế từ dịch nổi nuôi cấy của dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 3 được gọi là kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3. Kháng thể đã tinh chế từ dịch nổi nuôi cấy của dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 3-2 được gọi là kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2. Kháng thể đã tinh chế từ dịch nổi nuôi cấy của dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 3-3 được gọi là kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-3. Kháng thể đã tinh chế từ dịch nổi nuôi cấy của dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 3-4 được gọi là kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-4.

Ngoài ra, dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 3 (IgG4) và dòng tế bào biểu hiện kháng thể số 3-2 (IgG4) thu được trong ví dụ 12 cũng được nuôi cấy theo cách tương tự như nêu trên, và từ phần dịch nổi nuôi cấy của chúng thu được kháng thể tinh khiết được làm giống như của người kháng hTfR số 3(IgG4) và kháng thể tinh khiết được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 (IgG4), tương ứng. Hai kháng thể này được sử dụng trong phân tích dược động học bằng cách sử dụng khỉ được mô tả trong ví dụ 15.

Ví dụ 14 Xác định ái lực của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR đối với TfR người và TfR khỉ

Ái lực của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR thu được trong ví dụ 13 đối với các TfR người và khỉ được xác định bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 7. Bảng 7 thể hiện kết quả của việc xác định hằng số tốc độ kết hợp (k_{on}), hằng số tốc độ phân ly (k_{off}), và hằng số phân ly (k_D) của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR các số từ 1 đến 3-4 (tương ứng với các số 1 đến 3-4, tương ứng, trong bảng này) đối với TfR người.

Bảng 7: Ái lực của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR với TfR người

Kháng thể số	kon ($M^{-1}s^{-1}$)	koff (s^{-1})	K_D (M)
1	$3,93 \times 10^5$	$< 1,0 \times 10^{-7}$	$< 1,0 \times 10^{-12}$
2	$1,97 \times 10^5$	$< 1,0 \times 10^{-7}$	$< 1,0 \times 10^{-12}$
3	$1,19 \times 10^6$	$< 1,0 \times 10^{-7}$	$< 1,0 \times 10^{-12}$
3-2	$6,06 \times 10^5$	$1,45 \times 10^{-5}$	$2,39 \times 10^{-11}$
3-3	$6,00 \times 10^5$	$1,25 \times 10^{-5}$	$2,09 \times 10^{-11}$
3-4	$1,01 \times 10^6$	$< 1,0 \times 10^{-7}$	$< 1,0 \times 10^{-12}$

Bảng 8 thể hiện kết quả của việc xác định hằng số tốc độ kết hợp (k_{on}), hằng số tốc độ phân ly (k_{off}), và hằng số phân ly (k_D) của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR các số từ 1 đến 3-4 (tương ứng với các số 1 đến 3-4, tương ứng, trong bảng này) đối với TfR khỉ.

Bảng 8: Ái lực của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR đối với TfR khỉ

Kháng thể số	kon ($M^{-1}s^{-1}$)	koff (s^{-1})	K_D (M)
1	$2,53 \times 10^5$	$< 1,0 \times 10^{-7}$	$< 1,0 \times 10^{-12}$
2	$4,87 \times 10^5$	$3,67 \times 10^{-5}$	$7,55 \times 10^{-11}$
3	$6,03 \times 10^5$	$6,76 \times 10^{-4}$	$1,12 \times 10^{-9}$
3-2	$4,95 \times 10^5$	$8,76 \times 10^{-4}$	$1,77 \times 10^{-9}$
3-3	$4,88 \times 10^5$	$9,32 \times 10^{-4}$	$1,91 \times 10^{-9}$
3-4	$5,19 \times 10^5$	$1,35 \times 10^{-4}$	$2,60 \times 10^{-10}$

Kết quả của việc xác định ái lực của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR các số từ 1 đến 3-4 đối với TfR người đã thể hiện rằng hằng số phân ly giữa kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR các số 1, 2, 3, và 3-4 và TfR người nhỏ hơn 1×10^{-12} M (Bảng 7). Và hằng số phân ly giữa kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR các số 3-2 và 3-3 và TfR người là $2,39\times10^{-11}$ M và $2,09\times10^{-11}$ M, tương ứng. Đồng thời, hằng số phân ly giữa kháng thể kháng hTfR trước khi được làm giống như của người tương ứng với các kháng thể này và TfR người là: $5,09\times10^{-12}$ M đối với kháng thể số 1, $1,12\times10^{-11}$ M đối với kháng thể số 2, và nhỏ hơn 1×10^{-12} M đối với kháng thể số 3 (bảng 4). Các kết quả này chứng tỏ rằng ái lực cao của các kháng thể kháng hTfR trước khi được làm giống như của người đối với TfR người được duy trì sau khi làm cho kháng thể này giống như của người, và chỉ ra rằng kháng thể kháng hTfR số 4 đến 14 cũng sẽ duy trì ái lực của chúng đối với TfR người sau khi làm cho chúng giống như của người.

Tiếp theo, khi xem xét kết quả của việc xác định ái lực của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR đối với TfR khỉ, đã nhận thấy rằng hằng số phân ly của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1 nhỏ hơn 1×10^{-12} M, chỉ ra rằng ái lực trước khi được làm giống như của người được duy trì sau khi làm giống như của người, và tương tự đối với kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2, hằng số phân ly là $4,18\times10^{-11}$ M trước khi làm giống như của người

và $7,55\times10^{-11}$ M sau khi làm giống như của người, chỉ ra rằng ái lực này được duy trì (Bảng 5, Bảng 8). Mặt khác, liên quan đến kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 đến 3-4, mặc dù hằng số phân ly của kháng thể kháng hTfR số 3, kháng thể trước khi được làm giống như của người tướng ứng với chúng, đối với TfR khỉ nhỏ hơn 1×10^{-12} M, hằng số phân ly của chúng sau khi làm giống như của người là $2,60\times10^{-10}$ M đến $1,91\times10^{-9}$ M, cho thấy sự giảm ái lực đối với TfR khỉ. Đối với kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3, mặc dù quan sát thấy sự giảm ái lực đối với TfR khỉ, kết quả này chỉ ra rằng ái lực cao của kháng thể kháng hTfR trước khi được làm giống như của người đối với TfR khỉ không mất đi sau khi làm giống như của người mà được duy trì đầy đủ. Điều đó chỉ ra rằng đối với kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 4 đến 14, ái lực trước khi được làm giống như của người đối với TfR khỉ cũng có thể được duy trì sau khi làm giống như của người.

Ví dụ 15 Phân tích dược động học của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR ở khỉ

Bằng cách sử dụng khỉ, phân tích dược động học được thực hiện với bốn kháng thể: kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3, kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2, kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 (IgG4), và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 (IgG4). Ngoài ra, chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 là IgG1, trong khi ở kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 (IgG4), chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 đã được chuyển hóa thành IgG4, với vùng biến đổi của nó được giữ nguyên vẹn. Ngoài ra, chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 là IgG1, trong khi ở kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 (IgG4), chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 đã được chuyển hóa thành IgG4, với vùng biến đổi của nó được giữ nguyên vẹn. Bốn kháng thể này tương ứng được dùng trong tĩnh mạch một lần cho khỉ đực cynomolgus, ở liều lượng 5,0 mg/kg, và máu ngoại biên của chúng được lấy mẫu trước khi dùng kháng

thể, 2 phút, 30 phút, 2 giờ, 4 giờ và 8 giờ sau khi dùng kháng thể, và sau đó chúng được đưa đi rửa toàn thân. Để làm mẫu đối chứng âm tính, trastuzumab (Herceptin™, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), kháng thể được làm giống như của người kháng protein HER2, được dùng trong tĩnh mạch một lần cho một con khỉ theo cách tương tự, và máu ngoại biên của nó được lấy mẫu trước khi dùng thuốc, 2 phút, 30 phút, 2 giờ, 4 giờ và 8 giờ sau khi dùng thuốc, và sau đó nó được đưa đi rửa toàn thân. Sau khi rửa, mô não và cột sống bao gồm hành tủy và các mô khác (gan, tim, lá lách và tủy xương) được cắt ra. Bằng cách sử dụng các mô não và cột sống này và các mô khác, xác định được nồng độ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và tiến hành nhuộm hóa miễn dịch mô.

Xác định nồng độ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR trong các mô và máu ngoại biên được tiến hành một cách rộng rãi theo quy trình được mô tả dưới đây. Ngoài ra, đối với não, các mô thu gom được được tách thành vỏ não, tiểu não, vùng đồi hải mã và hành tủy, và tiếp theo xác định nồng độ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR. Mô tương ứng thu được được đồng hóa với dung dịch đệm RIPA (Wako Pure Chemical Industries Inc.) chứa hỗn hợp chất ức chế proteaza (Proteaza Inhibitor Cocktail - Sigma-Aldrich Inc.), được ly tâm, và phần dịch nổi được thu hồi. Từ máu ngoại biên nêu trên, huyết tương được tách ra. Bổ sung 10 μL Fcγ pAb Affinipure dê kháng IgG chuột nhắt (Jackson ImmunoResearch Inc.) vào mỗi lỗ của đĩa High Bind Plate (Meso Scale Diagnostics), và đĩa được để yên trong một giờ để tạo ra pha rắn. Tiếp theo, 150 μL dung dịch đệm phong bế SuperBlock trong PBS (Thermo Fisher Scientific Inc.) được bổ sung vào mỗi lỗ, và đĩa được phong bế bằng cách lắc trong một giờ. Tiếp theo, 25 μL dung dịch nổi của dịch đồng nhất hoặc huyết tương được bổ sung vào mỗi lỗ, và các lỗ được lắc trong một giờ. Tiếp theo, 25 μL Fab-Biotin dê Affinipure kháng IgG chuột nhắt (Jackson ImmunoResearch Inc.) được bổ sung vào mỗi lỗ, và tiếp tục lắc trong một giờ. Sau đó, 25 μL SULFO-Tag-Streptavidin (Meso Scale Diagnostics Inc.) được bổ sung vào mỗi lỗ, sau đó lắc trong nửa giờ. Bổ sung 150 μL dung dịch đệm đọc T (Meso Scale

Diagnostics Inc.) vào mỗi lỗ, và mức phát quang từ mỗi lỗ được đọc trên thiết bị đọc Sector™ Imager 6000. Lượng kháng thể chứa trong mỗi mô và máu ngoại biên được tính toán bằng cách xây dựng đường cong tiêu chuẩn dựa trên các số đo của các mẫu chuẩn chứa kháng thể kháng hTfR ở nồng độ đã biết, và sau đó nội suy ra số đo của mỗi mẫu có tham chiếu đến mẫu chuẩn này. Việc xác định nồng độ được lặp lại ba lần đối với mỗi mẫu.

Kết quả xác định nồng độ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR trong các mô não và cột sống được thể hiện trong bảng 9.

Bảng 9: Nồng độ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR trong mô não (µg/g trọng lượng ướt)

Kháng thể số	Vỏ não	Tiểu não	Đồi hải mã	Hành tủy	Tủy sống
3	0,67 ± 0,12	0,61 ± 0,02	0,49 ± 0,02	0,59 ± 0,10	0,46 ± 0,17
3-2	1,05 ± 0,07	0,72 ± 0,04	0,72 ± 0,07	0,69 ± 0,03	0,46 ± 0,02
3(IgG4)	0,65 ± 0,05	0,59 ± 0,03	0,56 ± 0,02	0,59 ± 0,02	0,46 ± 0,07
3-2(IgG4)	0,76 ± 0,02	0,57 ± 0,07	0,62 ± 0,05	0,73 ± 0,16	0,48 ± 0,03
Đối chứng âm tính	0,0082 ± 0,0032	0,0090 ± 0,0067	0,0053 ± 0,0009	0,011 ± 0,003	0,15 ± 0,04

Quan sát thấy tất cả các kháng thể, nghĩa là, kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3, kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2, kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 (IgG4) và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 (IgG4) tích tụ trong vỏ não, tiểu não, vùng đồi hải mã, hành tủy và tủy sống (Bảng 9). Lượng tương ứng được tích tụ là như sau:

với kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3, khoảng 82 lần trong vỏ não, khoảng 68 lần trong tiểu não, khoảng 92 lần trong vùng đồi hải mã, khoảng 54 lần trong hành tủy, và khoảng 3,1 lần trong tủy sống, so với mẫu đối chứng âm tính, trastuzumab (Herceptin™),

với kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2, khoảng 128

lần trong vỏ não, khoảng 80 lần trong tiểu não, khoảng 136 lần trong vùng đồi hải mã, khoảng 63 lần trong hành tủy, khoảng 3,1 lần trong tủy sống, so với mẫu đối chứng âm tính, trastuzumab,

với kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 (IgG4), khoảng 79 lần trong vỏ não, khoảng 66 lần trong tiểu não, khoảng 106 lần trong vùng đồi hải mã, khoảng 54 lần trong hành tủy, khoảng 3,1 lần trong tủy sống, so với mẫu đối chứng âm tính, trastuzumab, và

với kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 (IgG4), khoảng 93 lần trong vỏ não, khoảng 63 lần trong tiểu não, khoảng 117 lần trong vùng đồi hải mã, khoảng 66 lần trong hành tủy, khoảng 3,2 lần trong tủy sống, so với mẫu đối chứng âm tính, trastuzumab (Bảng 10).

Kết quả này chỉ ra rằng bốn kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR này có đặc tính cho phép chúng đi qua hàng rào máu não và tích tụ trong mô não, và chỉ ra rằng hiện có thể làm cho dược phẩm mà cần được thực hiện chức năng trong mô não tích tụ một cách hữu hiệu trong mô não này, bằng cách gắn kết dược phẩm này với một trong số các kháng thể này.

Bảng 10: Lượng kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR được tích tụ trong mô não (hệ số so với mẫu đối chứng âm tính)

Kháng thể số	Vỏ não	Tiểu não	Đồi hải mã	Hành tủy	Tủy sống
3	82	68	92	54	3,1
3-2	128	80	136	63	3,1
3(IgG4)	79	66	106	54	3,1
3-2(IgG4)	93	63	117	66	3,2
Đối chứng âm tính	1	1	1	1	1

Tiếp theo, Fig. 4 thể hiện kết quả của việc xác định nồng độ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR trong các mô của gan, tim, lách và tủy

xương. Quan sát thấy bốn kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR, cũng như là mẫu đối chứng âm tính, trastuzumab, tích tụ trong gan và lá lách, và lượng tích tụ của bốn kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và trastuzumab là bằng nhau. Ở tim, kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có xu hướng tích tụ nhiều hơn trastuzumab, mẫu đối chứng âm tính, nhưng lượng này chỉ bằng khoảng 1,5 đến 2,8 lần lượng tích tụ của mẫu đối chứng âm tính. Ở tủy xương, kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có xu hướng tích tụ nhiều hơn đáng kể so với trastuzumab, mẫu đối chứng âm tính, và lượng này là 3,5 đến 16 lần lượng tích tụ của mẫu đối chứng âm tính. Nguyên nhân của sự tích tụ kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR trong tủy xương được xem là do TfR được biểu hiện ở mức cao trong tủy xương, cơ quan tạo máu, và vì vậy kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR, tích tụ thông qua việc gắn kết với TfR, nhiều hơn so với mẫu đối chứng âm tính. Dữ liệu này chỉ ra rằng bốn kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có đặc tính cho phép chúng tích tụ đặc hiệu trong đại não, tiểu não, vùng đồi hải mã và hành tủy, mà nó cấu thành hệ thần kinh trung ương, và chỉ ra rằng hiện có thể làm cho dược phẩm mà cần được thực hiện chức năng trong mô não tích tụ một cách hữu hiệu trong mô não này, bằng cách gắn kết dược phẩm này với một trong số các kháng thể này.

Tiếp theo, bảng 11 thể hiện kết quả phép đo dược động học của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR trong máu. So với mẫu đối chứng âm tính, trastuzumab, nồng độ của bốn kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR trong máu được duy trì ở mức cao, cao hơn 60 μg/mL, thậm chí tám giờ sau khi dùng kháng thể, cho thấy chúng ổn định trong máu.

Bảng 11: Dược động học của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR trong máu (µg/mL máu)

Kháng thể số	Thời gian sau khi dùng				
	2 phút	30 phút	2 giờ	4 giờ	8 giờ
3	173	147	128	117	97,5
3-2	124	99,5	78,5	76,5	61
3(IgG4)	141	113	99	95	83
3-2(IgG4)	132	111	98,5	99	95,5
Đối chứng âm tính	124	92,5	96	75,5	60,5

Việc nhuộm hóa miễn dịch mô của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR trong mô não được thực hiện theo cách sau. Các mô đã thu nhận được làm lạnh đông nhanh chóng đến -80°C trong Tissue-Tek Cryo 3DM (Sakura Finetek Inc.) để điều chế các khối mô lạnh đông. Các khối đã lạnh đông được cắt thành các phần 4 µm, được dính vào lam kính được phủ MAS (Matsunami Glass Inc.). Các phần mô được phản ứng với 4% paraformaldehyt (Wako Pure Chemical Industries Inc.) trong 5 phút ở 4°C và được cố định vào lam kính. Tiếp theo, các phần mô được phản ứng với dung dịch metanol chứa 0,3% hydro peroxit (Wako Pure Chemical Industries Inc.) trong 30 phút để làm bất hoạt peroxidaza nội sinh. Tiếp theo, lam kính được phong bế bằng cách phản ứng với dung dịch đệm phong bế SuperBlock trong PBS trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Tiếp theo, các phần mô được phản ứng với kháng thể chuỗi nặng và chuỗi nhẹ IgG của chuột nhắt (Bethyl Laboratories) trong một giờ ở nhiệt độ trong phòng. Các phần mô được để hiện màu với cơ chất DAB (3,3'-diaminobenzidin, Vector Laboratories Inc.), đã được nhuộm màu tương phản với dung dịch hematoxylin của Mayer (Merck Inc.), được dính chặt vào sau khi được khử nước và làm trong, và quan sát dưới kính hiển vi quang học.

Fig. 5 thể hiện kết quả của việc nhuộm hóa miễn dịch mô của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR trong vỏ não. Quan sát thấy việc nhuộm đặc hiệu mạch máu và các tế bào dạng thần kinh trong vỏ não của khỉ được cho dùng kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3, kháng thể được làm giống

như của người kháng hTfR số 3-2, kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 (IgG4), và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 (IgG4) (Fig. từ 5b đến 5e, tương ứng). Cũng quan sát thấy việc nhuộm đặc hiệu một cách rộng khắp trong vỏ não của khỉ được dùng kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2, cụ thể, (Fig. 5c), vùng trung mô não, phía ngoài mạch máu. Ngoài ra, không quan sát thấy việc nhuộm màu trong vỏ não của khỉ được dùng Herceptin làm mẫu đối chứng, điều đó cho thấy việc nhuộm mô quan sát được trên các Fig. từ 5b đến 5e là đặc hiệu đối với kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR (Fig. 5a).

Fig. 6 thể hiện kết quả của việc nhuộm hóa miễn dịch mô của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR trong vùng đồi hải mã. Quan sát thấy việc nhuộm đặc hiệu mạch máu và các tế bào dạng thần kinh trong vùng đồi hải mã của khỉ được cho dùng kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3, kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2, kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3(IgG4), và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 (IgG4) (các Fig. từ 6b đến 6e, tương ứng). Ngoài ra, không quan sát thấy việc nhuộm màu trong vùng đồi hải mã của khỉ được dùng Herceptin làm mẫu đối chứng, điều đó cho thấy việc nhuộm mô quan sát được trên các Fig. từ 6b đến 6e là đặc hiệu đối với kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR (Fig. 6a).

Fig. 7 thể hiện kết quả của việc nhuộm hóa miễn dịch mô của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR trong vùng tiểu não. Quan sát thấy việc nhuộm đặc hiệu mạch máu và các tế bào Purkinje trong vùng tiểu não của khỉ được cho dùng kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3, kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2, kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3(IgG4), và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 (IgG4) (các Fig. từ 7b đến 7e, tương ứng). Ngoài ra, không quan sát thấy việc nhuộm màu trong vùng tiểu não của khỉ được dùng Herceptin làm mẫu đối chứng, điều đó cho thấy việc nhuộm mô quan sát được trên các Fig. từ 7b đến 7e là đặc hiệu đối với kháng

thể được làm giống như của người kháng hTfR (Fig. 7a).

Fig. 8 thể hiện kết quả của việc nhuộm hóa miễn dịch mô của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR trong hành tủy. Quan sát thấy việc nhuộm đặc hiệu mạch máu và các tế bào dạng thần kinh trong hành tủy của khỉ được cho dùng kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3, kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2, kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3(IgG4), và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3-2 (IgG4) (các Fig. từ 8b đến 8e, tương ứng). Ngoài ra, không quan sát thấy việc nhuộm màu trong hành tủy của khỉ được dùng Herceptin làm mẫu đối chứng, điều đó cho thấy việc nhuộm mô quan sát được trên các Fig. từ 8b đến 8e là đặc hiệu đối với kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR (Fig. 8a).

Từ kết quả của việc nhuộm hóa miễn dịch mô của đại não và tiểu não trong ví dụ 8, đã lường trước được rằng mặc dù kháng thể kháng hTfR số 1, kháng thể chuột trước khi được làm giống như của người, có thể gắn kết với hTfR hiện có trên nội mô của mạch máu trong não, lượng chuyển vào trung mô não sẽ nhỏ. Mặt khác, đã chỉ ra rằng kháng thể kháng hTfR số 2 và 3, kháng thể chuột nhắt trước khi làm giống như của người, có thể gắn kết với hTfR hiện có trên nội mô của mạch máu trong não, và sau khi gắn kết với hTfR, đi qua hàng rào máu não vào trung mô não, và được thấm vào trung mô não và tế bào dạng thần kinh trong vùng đồi hải mã, và thấm vào các tế bào Purkinje trong tiểu não.

Từ kết quả của việc nhuộm hóa miễn dịch mô trong đại não, vùng đồi hải mã, tiểu não, và hành tủy trong ví dụ 15, đã chứng tỏ rằng bốn kháng thể thử nghiệm được làm giống như của người kháng hTfR thu được bằng cách làm cho kháng thể kháng hTfR số 3 giống như của người tham gia vào thí nghiệm này có thể gắn kết với hTfR hiện có trên nội mô của mạch máu thuộc não, và sau khi gắn kết với hTfR, đi qua hàng rào máu não và vận chuyển vào trung mô não, và tiếp theo, được thấm vào các tế bào dạng thần kinh trong vỏ não; thấm vào trung mô não và các tế bào dạng thần kinh trong vùng đồi hải mã; thấm vào các tế bào Purkinje trong tiểu não; và thấm vào các tế

bào dạng thần kinh trong hành tủy.

Ví dụ 16 Điều chế tế bào biểu hiện protein dung hợp hI2S-kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR

Bằng cách phân cắt pEF/myc/nucvector (Invitrogen Inc.) bằng KpnI và NcoI, vùng bao gồm trình tự khởi đầu EF-1α và intron đầu tiên của nó được cắt ra, sau đó nó được cắt đầu tù bằng T4 DNA polymeraza. Sau khi phân cắt pCI-neo (Invitrogen Inc.) bằng BglII và EcoRI để loại bỏ vùng bao gồm trình tự tăng cường/trình tự khởi đầu và intron của CMV, vectơ này được cắt đầu tù bằng T4 DNA polymeraza, và vùng đã nêu ở trên bao gồm trình tự khởi đầu EF-1α và intron đầu tiên của nó được cài xen vào vectơ này để xây dựng vectơ pE-neo. Vectơ pE-neo được phân cắt bằng SfiI và BstXI để cắt ra một vùng khoảng 1 kbp bao gồm gen kháng neomycin. Sử dụng pcDNA3.1/Hygro(+) (Invitrogen Inc.) làm khuôn và sử dụng đoạn mồi Hyg-Sfi5' (SEQ ID NO:216) và đoạn mồi Hyg-BstX3' (SEQ ID NO:217), PCR để khuếch đại gen hygromycin. Gen hygromycin đã được khuếch đại được phân cắt bằng SfiI và BstXI và được cài xen vào vectơ pE-neo nêu trên, trong đó gen kháng neomycin của nó đã được loại bỏ, để xây dựng vectơ pE-hygr.

Đoạn ADN được tổng hợp nhân tạo có trình tự nucleotit như được nêu trong SEQ ID NO:248, bao gồm gen mã hóa protein trong đó chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:172 được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một trình tự liên kết (Gly Ser), với hI2S có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:246. Đoạn ADN này mã hóa protein trong đó chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:247 được liên kết với hI2S qua một trình tự liên kết (Gly Ser). Đoạn ADN này có, ở phía đầu 5' của nó, trình tự MluI, và trình tự mã hóa peptit dẫn đóng vai trò làm tín hiệu tiết theo thứ tự này từ đầu 5', và trình tự NotI ở phía đầu 3'. Đoạn ADN được phân cắt bằng MluI và NotI, và được cài xen vào vectơ pE-neo, giữa MluI và NotI của nó, để xây dựng pE-neo(HC-I2S-1).

Đoạn ADN được tổng hợp nhân tạo có trình tự nucleotit như được nêu trong SEQ ID NO:250, bao gồm gen mã hóa protein trong đó chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:188 được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một trình tự liên kết (Gly Ser), với hI2S có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:246. Đoạn ADN này mã hóa protein trong đó chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:249 được liên kết với hI2S qua một trình tự liên kết (Gly Ser). Đoạn ADN này có, ở phía đầu 5' của nó, trình tự MluI, và trình tự mã hóa peptit dẫn đóng vai trò làm tín hiệu tiết theo thứ tự này từ đầu 5', và trình tự NotI ở phía đầu 3'. Đoạn ADN được phân cắt bằng MluI và NotI, và được cài xen vào vectơ pE-neo, giữa MluI và NotI của nó, để xây dựng pE-neo(HC-I2S-2).

Đoạn ADN được tổng hợp nhân tạo có trình tự nucleotit như được nêu trong SEQ ID NO:252, bao gồm gen mã hóa protein trong đó chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210 được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của nó và qua một trình tự liên kết (Gly Ser), với hI2S có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:246. Đoạn ADN này mã hóa protein có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:251 trong đó chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR được liên kết với hI2S qua một trình tự liên kết (Gly Ser). Đoạn ADN này có, ở phía đầu 5' của nó, trình tự MluI, và trình tự mã hóa peptit dẫn đóng vai trò làm tín hiệu tiết theo thứ tự này từ đầu 5', và trình tự NotI ở phía đầu 3'. Đoạn ADN được phân cắt bằng MluI và NotI, và được cài xen vào vectơ pE-neo, giữa MluI và NotI của nó, để xây dựng pE-neo(HC-I2S-3).

Các tế bào CHO (CHO-K1: thu được từ Bộ sưu tập chủng giống kiểu Mỹ (American Type Culture Collection) được biến nạp theo phương pháp được mô tả trong ví dụ 12 với pE-neo(HC-I2S-1) và pE-hygr(LC1) mà đã được điều chế trong ví dụ 11, để thu được dòng tế bào biểu hiện protein dung hợp giữa hI2S và kháng thể

được làm giống như của người kháng hTfR. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào 1 biểu hiện hI2S-kháng thể kháng hTfR. Protein dung hợp giữa hI2S và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR được biểu hiện bởi dòng tế bào này được gọi là I2S-kháng thể kháng hTfR 1.

Theo cách tương tự, các tế bào CHO được biến nạp với pE-neo(HC-I2S-2) và pE-hygr(LC2) đã được điều chế trong ví dụ 11, để thu được dòng tế bào biểu hiện protein dung hợp giữa hI2S và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào 2 biểu hiện hI2S-kháng thể kháng hTfR. Protein dung hợp giữa hI2S và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR được biểu hiện bởi dòng tế bào này được gọi là I2S-kháng thể kháng hTfR 2.

Hơn nữa, theo cách tương tự, các tế bào CHO được biến nạp với pE-neo(HC-I2S-3) và pE-hygr(LC3) đã được điều chế trong ví dụ 11, để thu được dòng tế bào biểu hiện protein dung hợp giữa hI2S và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào 3 biểu hiện hI2S-kháng thể kháng hTfR. Protein dung hợp giữa hI2S và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR được biểu hiện bởi dòng tế bào này được gọi là I2S-kháng thể kháng hTfR 3.

Ví dụ 17 Sản xuất I2S-kháng thể kháng hTfR

I2S-kháng thể kháng hTfR được sản xuất bằng phương pháp sau. Dòng tế bào biểu hiện hI2S-kháng thể kháng hTfR 1, 2 và 3 thu được trong ví dụ 16 được pha loãng bằng môi trường CD OptiCHO™ đến mật độ xấp xỉ 2×10^5 tế bào/mL, tương ứng. Huyền phù chứa tế bào, 200 mL, được bổ sung vào bình nón tương ứng có dung tích 1L, và được nuôi cấy trong 6 đến 7 ngày trong môi trường ẩm ở 37°C, 5% CO_2, 95% không khí, kèm theo khuấy ở tốc độ khoảng 70 vòng/phút. Mỗi dịch nổi nuôi cấy được thu nhận bằng cách ly tâm, và được lọc qua thiết bị lọc cỡ lỗ 0,22 μm (Millipore Inc.) để điều chế dịch nổi nuôi cấy. Bổ sung năm thể tích cột dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl vào mỗi dịch nổi nuôi cấy thu được, và nạp vào cột Protein A (thể tích cột: 1 mL, Bio-Rad Inc.) đã được làm cân bằng từ trước với dung

dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng ba thể tích cột. Tếp theo, cột được rửa bằng cùng dung dịch đệm với thể tích bằng năm lần thể tích cột, và I2S-kháng thể kháng hTfR đã hấp phụ được rửa giải bằng dung dịch đệm glyxin 50 mM (pH 2,8) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng bốn lần thể tích cột. Độ pH của dịch rửa giải chứa I2S-kháng thể kháng hTfR được điều chỉnh đến pH 7,0 bằng dung dịch đệm Tris 1M (pH 8,0), và tếp theo dung dịch đệm này được thay bằng dung dịch đệm PBS bằng cách sử dụng màng Amicon Ultra 30 kDa (Millipore Inc.) để thu được sản phẩm I2S-kháng thể kháng hTfR tinh khiết.

Ái lực của I2S-kháng thể kháng-hTfR được tạo ra đối với TfR người và khỉ có thể được xác định bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 7 chẳng hạn. Việc phân tích dược động học của I2S-kháng thể kháng-hTfR sau khi dùng chúng trong tĩnh mạch có thể được thực hiện theo phương pháp được mô tả trong ví dụ 8 chẳng hạn. Tác dụng dược lý của I2S-kháng thể kháng-hTfR có thể được đánh giá bằng cách, chẳng hạn, tiêm trong tĩnh mạch I2S-kháng thể kháng-hTfR cho chuột nhắt I2S-KO/hTfR KI, mà có thể thu được nhờ việc giao phối chuột nhắt khuyết thiếu gen iduronat 2-sulfataza (chuột nhắt I2S-KO), chuột nhắt mô hình đối với hội chứng Hunter, với chuột nhắt hTfR-KI được mô tả trong ví dụ 7-2, và xác định sự giảm glycosaminoglycan được tích tụ trong não.

Ví dụ 18 Đánh giá việc vận chuyển I2S-kháng thể kháng hTfR vào não -1

Mỗi sản phẩm tinh chế I2S-kháng thể kháng-hTfR 3 được điều chế trong ví dụ 17 được tiêm trong tĩnh mạch, ở liều lượng 1 mg/kg, vào chuột nhắt hTfR-KI được tạo ra bởi phương pháp được mô tả trong ví dụ 7-2 (nhóm được dùng I2S-kháng thể kháng hTfR). Để làm mẫu đối chứng, hI2S tái tổ hợp (rhI2S) được tiêm trong tĩnh mạch, ở liều lượng 1 mg/kg, vào chuột nhắt hTfR-KI (nhóm đối chứng). Mười lăm chuột nhắt hTfR-KI được dùng trong nhóm được dùng I2S-kháng thể kháng hTfR, và ba chuột nhắt trong nhóm đối chứng (đực, 15 đến 18 tuần tuổi). Ngoài ra, rhI2S được sử dụng trong thử nghiệm nêu trên được điều chế theo phương pháp thông thường, mà được mô tả trong cong bố đơn sáng chế quốc tế (WO 2012/102998). Cũng có thể sử dụng

Elaprase(R), sản phẩm y tế sẵn có trên thị trường để làm rhI2S.

Trong nhóm được dùng I2S-kháng thể kháng hTfR, ba con chuột nhắt được đưa đi rửa toàn thân bằng nước muối sinh lý sau 15 phút, 1 giờ, 4 giờ, 8 giờ, và 24 giờ, tương ứng, dùng I2S-kháng thể kháng hTfR 3, và não (đại não và tiểu não) được lấy ra. Để làm nhóm đối chứng, việc rửa toàn thân bằng nước muối sinh lý được thực hiện một giờ sau khi dùng rhI2S, và não (đại não và tiểu não) được lấy ra. Cân trọng lượng (trọng lượng ướt) của đại não và tiểu não được cắt ra, và sau đó đại não và tiểu não được đồng hóa với T-PER (Thermo Fisher Scientific Inc.) chứa hỗn hợp chất ức chế proteaza (Proteaza Inhibitor Cocktail - Sigma Inc.), và phần dịch nổi của chúng được thu hồi sau khi ly tâm. Lượng I2S-kháng thể kháng hTfR được chứa trong phần dịch nổi của dịch đồng nhất được xác định đối với nhóm được dùng I2S-kháng thể kháng hTfR, và lượng rhI2S được chứa trong phần dịch nổi của dịch đồng nhất đối với nhóm đối chứng bởi phương pháp ECL được mô tả trong các ví dụ 20 và 21, tương ứng, và lượng I2S-kháng thể kháng hTfR (nồng độ của I2S-kháng thể kháng hTfR trong mô não) cũng như lượng rhI2S (nồng độ của rhI2S trong mô não) được chứa trong 1 g não (trọng lượng ướt) được tính toán. Kết quả được thể hiện trong bảng 12.

Nồng độ của I2S-kháng thể kháng hTfR và rhI2S trong mô não một giờ sau khi dùng là 0,368±0,019 μg/g trọng lượng ướt và 0,00134±0,00232 μg/g trọng lượng ướt, tương ứng, chỉ ra rằng nồng độ của I2S-kháng thể kháng hTfR đạt khoảng 270 lần so với nồng độ của rhI2S. Kết quả này chỉ ra rằng rhI2S, mà nhìn chung chắc chắn không đi qua hàng rào máu não, và không vận chuyển đến não, có thể được tạo ra để đi qua được hàng rào máu não và vận chuyển vào mô não, bằng cách kết hợp nó với kháng thể kháng hTfR. Hơn nữa, nồng độ của I2S-kháng thể kháng-hTfR trong mô não đạt đến 0,263±0,038 μg/g trọng lượng ướt chỉ trong 15 phút sau khi dùng, gấp khoảng 200 lần nồng độ của rhI2S trong mô não một giờ sau khi dùng. Kết quả này chỉ ra rằng bằng cách kết hợp với kháng thể kháng hTfR, có thể khiến cho hI2S vận chuyển nhanh chóng vào mô não.

Bảng 12: Nồng độ của I2S-kháng thể kháng hTfR và rhI2S trong mô não (µg/g trọng lượng ướt)

Thời gian sau khi dùng (giờ)	I2S-kháng thể kháng hTfR	rhI2S
0,25	0,263 ± 0,038	-
1	0,368 ± 0,019	0,00134 ± 0,00232
4	0,440 ± 0,033	-
8	0,382 ± 0,011	-
24	0,245 ± 0,012	-

Ví dụ 19 Đánh giá việc vận chuyển I2S-kháng thể kháng hTfR vào não -2

Sản phẩm tinh chế của I2S-kháng thể kháng hTfR 3 được điều chế trong ví dụ 17 được dùng trong tĩnh mạch một lần cho khỉ đực cynomolgus, ở liều lượng 5 mg/kg (nhóm được dùng I2S-kháng thể kháng hTfR). Theo cách tương tự, rhI2S được dùng một lần cho khỉ đực cynomolgus, ở liều lượng 5 mg/kg (nhóm rhI2S). rhI2S được dùng ở đây đã được điều chế theo phương pháp thông thường, được mô tả trong công bố đơn sáng chế quốc tế (WO 2012/102998). Cũng có thể sử dụng Elaprase(R), sản phẩm y tế sẵn có trên thị trường để làm rhI2S. Hai con khỉ được dùng trong mỗi nhóm. Tám giờ sau khi sử dụng, tiến hành rửa toàn bộ cơ thể. Sau khi rửa, mô não bao gồm tủy cổ được cắt ra. Mô não đã cắt ra được tách riêng thành vỏ não, tiểu não, vùng đồi hải mã và tủy cổ, và mỗi trong số chúng được đồng hóa với T-PER (Thermo Fisher Scientific Inc.) chứa hỗn hợp chất ức chế proteaza (Proteaza Inhibitor Cocktail - Sigma Inc.), được ly tâm, và phần dịch nổi được thu hồi. Lượng I2S-kháng thể kháng-hTfR được chứa trong phần dịch nổi của dịch đồng nhất được xác định trong nhóm được dùng I2S-kháng thể kháng hTfR, và lượng rhI2S được chứa trong phần dịch nổi của dịch đồng nhất trong nhóm đối chứng bằng phương pháp ECL được mô tả trong các ví dụ 20 và 21, tương ứng. Từ kết quả thu được, lượng I2S-kháng thể kháng hTfR được chứa trong 1 g (g trọng lượng ướt) của vỏ não, tiểu não, vùng đồi hải mã, và tủy cổ

(nồng độ của I2S-kháng thể kháng hTfR trong các mô não này), cũng như là lượng rhI2S (nồng độ của rhI2S trong các mô não này), được tính toán. Kết quả được thể hiện trên Fig. 9.

Nồng độ của I2S-kháng thể kháng hTfR trong vỏ não bằng khoảng 0,22 μg/g, trong khi nồng độ của rhI2S là 0,035 μg/g. Nồng độ của I2S-kháng thể kháng hTfR trong tiểu não là khoảng 0,18 μg/g, trong khi nồng độ của rhI2S là 0,02 μg/g. Nồng độ của I2S-kháng thể kháng hTfR trong vùng đồi hải mã là khoảng 0,25 μg/g, trong khi nồng độ của rhI2S là 0,017 μg/g. Và nồng độ của I2S-kháng thể kháng hTfR trong tủy cổ là khoảng 0,15 μg/g, trong khi nồng độ của rhI2S là 0,039 μg/g. Vì vậy, nồng độ của I2S-kháng thể kháng hTfR trong vỏ não, tiểu não, vùng đồi hải mã, và tủy cổ được thể hiện là tương ứng gấp khoảng 6,3 lần, khoảng 9,0 lần, khoảng 14,7 lần, và khoảng 3,8 lần nồng độ của rhI2S. Kết quả này chỉ ra rằng bằng cách gắn kết hI2S với kháng thể kháng hTfR, nó có thể cho phép hI2S đi qua hàng rào máu não một cách tích cực và đi vào não một cách hữu hiệu. Cụ thể, nồng độ của I2S-kháng thể kháng-hTfR trong vùng đồi hải mã cao hơn khoảng 12,5 lần so với nồng độ của rhI2S, cho thấy việc sử dụng I2S-kháng thể kháng hTfR có thể khiến cho I2S thể hiện hoạt tính của nó trong vùng đồi hải mã ngoài những vùng khác. Bệnh não ở các bệnh nhân bị hội chứng Hunter có thể không được cải thiện bởi liệu pháp thay thế enzym với rhI2S thông thường do rất ít rhI2S có thể đi qua hàng rào máu não. Ngược lại, do I2S-kháng thể kháng hTfR có thể đi qua hàng rào máu não, việc sử dụng I2S-kháng thể kháng hTfR có thể làm gia tăng hoạt tính của I2S trong mô não như vỏ não, vùng đồi hải mã, và tiểu não. Vì vậy, I2S-kháng thể kháng-hTfR (đặc biệt là I2S-kháng thể kháng hTfR 3) có thể được sử dụng làm các tác nhân trị liệu để gia tăng hoạt tính I2S trong não của bệnh nhân mắc hội chứng Hunter. Do vậy, bằng cách sử dụng I2S-kháng thể kháng hTfR (đặc biệt là I2S-kháng thể kháng hTfR 3), có thể phòng ngừa và điều trị bệnh não ở những bệnh nhân mắc hội chứng Hunter, điều này là khó khăn đối với liệu pháp thay thế enzym với rhI2S thông thường. Nó đặc biệt có triển vọng dùng làm tác nhân trị liệu đối với bệnh nhân mắc hội chứng Hunter đi kèm các rối loạn thuộc vùng đồi hải mã.

Ví dụ 20 Định lượng I2S-kháng thể kháng hTfR bằng phương pháp ECL

Bổ sung 150 µL dung dịch đệm phong bế SuperBlock trong PBS (Thermo Fisher Scientific Inc.) vào mỗi lỗ của đĩa 96 lỗ Streptavidin Gold Plate (Meso Scale Diagnostics Inc.), đĩa được phủ streptavidin, và đĩa này được để yên trong một giờ để phong bế. Biotin IgG dê kháng chuỗi nhẹ Kappa ở người (Monkey Absorbed) (IBL Inc.), kháng thể được gắn nhãn biotin, được pha loãng bằng dung dịch đệm phong bế SuperBlock trong PBS đến 0,5 µg/mL. Kháng thể kháng I2S người được gắn nhãn SULFO được pha loãng bằng dung dịch đệm phong bế SuperBlock trong PBS đến nồng độ 1,0 µg/mL. Dung dịch kháng thể được gắn nhãn biotin và kháng thể được gắn nhãn SULFO đã được pha loãng, mỗi loại 25 µL, được trộn với 25 µL mỗi mẫu, được ủ trong một giờ để điều chế mẫu phản ứng kháng thể.

Mỗi lỗ của đĩa sau khi phong bế được rửa bằng 200 µL PBS-T (Sigma Inc.), và 25 µL mẫu phản ứng kháng thể được bổ sung, và được ủ trong một giờ. Sau khi ủ, mỗi lỗ của đĩa được rửa bằng 200 µL PBS-T, dung dịch đệm đọc T (Meso scale Diagnostics Inc.) được bổ sung vào mỗi lỗ, và mức phát quang từ mỗi lỗ được xác định trên Sector™ Imager 6000 (Meso scale Diagnostics Inc.). Đường cong tiêu chuẩn được tạo ra dựa trên các số liệu của các mẫu chuẩn chứa I2S-kháng thể kháng hTfR với nồng độ đã biết, và lượng I2S-kháng thể kháng hTfR được xác định bằng cách nội suy số liệu của mỗi mẫu có tham chiếu đến mẫu chuẩn.

Ngoài ra, kháng thể kháng I2S người được sử dụng ở trên là kháng thể đơn dòng thu được bằng cách gây miễn dịch chuột nhắt với rhI2S, là kháng nguyên, mà đã được điều chế theo phương pháp thông thường được mô tả trong công bố đơn sáng chế quốc tế (WO 2012/102998). Nhiều kháng thể đơn dòng đã được thu nhận. Để làm kháng thể kháng I2S người được gắn nhãn SULFO, kháng thể kháng I2S người được gắn nhãn SULFO bằng cách sử dụng MSD SULFO-TAG NHS-Ester (Meso scale Diagnostics Inc.) theo hướng dẫn đính kèm.

Ví dụ 21 Định lượng hI2S bằng phương pháp ECL

Bổ sung 150 µL dung dịch đệm phong bế SuperBlock trong PBS (Thermo

Fisher Scientific Inc.) vào mỗi lỗ của đĩa 96 lỗ Streptavidin Gold Plate (Meso Scale Diagnostics Inc.), đĩa được phủ streptavidin, và đĩa này được để yên trong một giờ để phong bế. Kháng thể kháng I2S người đã được gắn nhãn biotin được pha loãng bằng dung dịch đệm phong bế SuperBlock trong PBS đến nồng độ 0,5 µg/mL. Kháng thể kháng I2S người được gắn nhãn SULFO được pha loãng bằng dung dịch đệm phong bế SuperBlock trong PBS đến nồng độ 1,0 µg/mL. Dung dịch kháng thể được gắn nhãn biotin và kháng thể được gắn nhãn SULFO đã được pha loãng, mỗi loại 25 µL, được trộn với 25 µL mỗi mẫu, được ủ trong một giờ để điều chế mẫu phản ứng kháng thể.

Mỗi lỗ của đĩa sau khi phong bế được rửa bằng 200 µL PBS-T (Sigma Inc.), và 25 µL mẫu phản ứng kháng thể được bổ sung, và được ủ trong một giờ. Sau khi ủ, mỗi lỗ của đĩa được rửa bằng 200 µL PBS-T, dung dịch đệm đọc T (Meso scale Diagnostics Inc.) được bổ sung vào mỗi lỗ, và mức phát quang từ mỗi lỗ được xác định trên Sector™ Imager 6000 (Meso scale Diagnostics Inc.). Đường cong tiêu chuẩn được tạo ra dựa trên các số liệu của các mẫu chuẩn chứa hI2S với nồng độ đã biết, và lượng rhI2S được xác định bằng cách nội suy số liệu của mỗi mẫu có tham chiếu đến mẫu chuẩn.

Ngoài ra, kháng thể kháng I2S người được sử dụng ở trên là kháng thể đơn dòng thu được bằng cách gây miễn dịch chuột nhắt với rhI2S, là kháng nguyên, mà đã được điều chế theo phương pháp thông thường được mô tả trong công bố đơn sáng chế quốc tế (WO 2012/102998). Để làm kháng thể kháng I2S người được gắn nhãn SULFO, kháng thể kháng I2S người được gắn nhãn SULFO bằng cách sử dụng MSD SULFO-TAG NHS-Ester (Meso scale Diagnostics Inc.) theo hướng dẫn đính kèm. Ngoài ra, để làm kháng thể kháng I2S người được gắn nhãn biotin, một kháng thể kháng I2S người khác, ngoại trừ kháng thể mà được sử dụng để gắn nhãn với SULFO, được gắn nhãn với biotin bằng cách sử dụng kit gắn nhãn biotin NH_2 (Biotin Labelling Kit-NH_2 - Dojindo Laboratories Inc.) theo hướng dẫn đính kèm.

Ví dụ 22 Đánh giá hiệu quả dược lý của I2S-kháng thể kháng hTfR

Hiệu quả dược lý của I2S-kháng thể kháng hTfR được đánh giá bằng cách xác định nồng độ glycosaminoglycan (GAG) mà đã biết là tích tụ trong các cơ quan của bệnh nhân mắc hội chứng Hunter, những người thiếu hụt hoạt tính hI2S di truyền. Sản phẩm tinh chế của I2S-kháng thể kháng hTfR 3 được điều chế trong ví dụ 17 được tiêm trong tĩnh mạch cho chuột nhắt I2S-KO/hTfR-KI ở liều lượng 0,5 mg/kg, 1,0 mg/kg, và 2,0 mg/kg (nhóm được dùng 0,5 mg/kg, nhóm được dùng 1,0 mg/kg, và nhóm được dùng 2,0 mg/kg). Việc sử dụng được thực hiện ở tần xuất mỗi tuần một lần trong bốn tuần, chuột nhắt được gây chết nhẹ nhàng bằng cách hút kiệt máu trong điều kiện gây mê bốn tuần sau khi sử dụng lần đầu, và não, gan, phổi, và tim được cắt ra. Các cơ quan được cắt ra sau đó được làm đông khô trong thiết bị đông khô (EYELA Inc.), được tán thành bột, và trọng lượng khô của chúng được xác định. Bổ sung 1 mL dung dịch đệm Tris 0,5 M (pH 7,5) vào 100 mg (trọng lượng khô) của mỗi chế phẩm chứa cơ quan đã được làm khô, và gia nhiệt trong 10 phút ở khoảng 100°C. Tiếp theo, dung dịch Actinaza E 50 mg/mL (Kaken Pharmaceutical Inc.) được bổ sung vào chế phẩm khô sao cho 1 mg actinaza E được bổ sung vào 50 mg (trọng lượng khô), hỗn hợp được ủ trong 16 giờ ở khoảng 60°C để phân giải protein, và tiếp tục gia nhiệt trong 10 phút ở khoảng 100°C. Sau khi ly tâm trong 10 phút ở 15.000 vòng/phút, phần dịch nổi được thu hồi. Lượng GAG được chứa trong phần dịch nổi được xác định bằng cách sử dụng kit định lượng Wieslab™ sGAG (Euro-Diagnostica Inc.), và lượng GAG được chứa trong 1 g (g trọng lượng khô) của mỗi cơ quan được tính toán. Ngoài ra, để làm nhóm đối chứng, sử dụng chuột nhắt I2S-KO/hTfR-KI không được cho dùng I2S-kháng thể kháng hTfR. Đồng thời, xác định lượng GAG trong các cơ quan của chuột nhắt kiểu hoang. Thí nghiệm này được tiến hành với ba chuột nhắt I2S-KO/hTfR-KI (đực và cái, 19 đến 25 tuần tuổi) trong mỗi nhóm xác định. Hơn nữa, ba chuột nhắt kiểu hoang, đực và cái, 19 đến 25 tuần tuổi, được sử dụng.

Kết quả được thể hiện trên Fig. 10. Đã quan sát thấy trong tất cả não, gan, phổi và tim, nồng độ của GAG giảm đáng kể theo cách phụ thuộc liều lượng của I2S-kháng thể kháng hTfR được sử dụng (các Fig. từ 10a đến 10d).

Ở não, nồng độ của GAG bằng khoảng 2,66 μg/g trong mô não của nhóm đối chứng, trong khi nồng độ của GAG trong mô não của các nhóm được dùng 0,5 mg/kg, 1,0 mg/kg, và 2,0 mg/kg bằng khoảng 2,23 μg/g, khoảng 2,15 μg/g, khoảng 2,10 μg/g, tương ứng, cho thấy sự phụ thuộc vào liều lượng decreaza (Fig. 10a). Lượng GAG bất thường trong mô não của chuột nhắt I2S-KO/hTfR-KI có thể được xác định bằng khoảng 0,90 μg/g, nghĩa là, lượng còn lại sau khi lấy nồng độ của GAG trong mô não của nhóm đối chứng (khoảng 2,66 μg/g) trừ đi nồng độ của GAG trong mô não của chuột nhắt kiểu hoang (khoảng 1,76 μg/g). Vì vậy, có thể kết luận rằng khoảng 48%, khoảng 57%, và khoảng 62% lượng GAG được tích tụ một cách bất thường trong mô não của chuột nhắt I2S-KO/hTfR-KI bị phân giải bởi I2S-kháng thể kháng-hTfR được dùng ở liều lượng 0,5 mg/kg, 1,0 mg/kg, và 2,0 mg/kg, tương ứng. Kết quả này chỉ ra rằng có thể phân giải và loại bỏ GAG được tích tụ một cách bất thường trong mô não của bệnh nhân bị hội chứng Hunter bằng cách cho bệnh nhân dùng I2S-kháng thể kháng-hTfR, và I2S-kháng thể kháng-hTfR (cụ thể là I2S-kháng thể kháng hTfR 3) có thể ngăn ngừa và điều trị các tổn thương ở não gây ra do sự tích tụ GAG hoặc các đoạn của nó được quan sát ở các bệnh nhân mắc hội chứng Hunter.

Ở gan, nồng độ của GAG bằng khoảng 10,3 μg/g trong mô gan của nhóm đối chứng, trong khi nồng độ của GAG trong mô gan của các nhóm được dùng 0,5 mg/kg, 1,0 mg/kg, và 2,0 mg/kg bằng khoảng 2,2 μg/g, khoảng 2,0 μg/g, khoảng 1,9 μg/g, tương ứng, cho thấy sự giảm phụ thuộc vào liều lượng (Fig. 10b). Phần bất thường của lượng GAG trong mô gan của chuột nhắt I2S-KO/hTfR-KI có thể được xác định bằng khoảng 10 μg/g, nghĩa là, lượng còn lại sau khi lấy nồng độ của GAG trong mô gan của nhóm đối chứng (khoảng 10,3 μg/g) trừ đi nồng độ của GAG trong mô gan của chuột nhắt kiểu hoang (khoảng 0,3 μg/g). Vì vậy, có thể kết luận rằng không ít hơn 80% GAG được tích tụ bất thường trong mô gan của chuột nhắt I2S-KO/hTfR-KI bị phân giải bởi I2S-kháng thể kháng-hTfR được dùng ở liều lượng từ 0,5 đến 2,0 mg/kg.

Ở phổi, nồng độ của GAG bằng khoảng 10,5 μg/g trong mô phổi của nhóm đối chứng, trong khi nồng độ của GAG trong mô phổi của các nhóm được dùng 0,5

mg/kg, 1,0 mg/kg, và 2,0 mg/kg bằng khoảng 7,8 μg/g, khoảng 6,7 μg/g, khoảng 5,7 μg/g, tương ứng, cho thấy sự giảm phụ thuộc vào liều lượng (Fig. 10c). Phần bất thường của lượng GAG trong mô phổi của chuột nhắt I2S-KO/hTfR-KI có thể được xác định bằng khoảng 9,0 μg/g, nghĩa là, lượng còn lại sau khi lấy nồng độ của GAG trong mô phổi của nhóm đối chứng (khoảng 10,5 μg/g) trừ đi nồng độ của GAG trong mô phổi của chuột nhắt kiểu hoang (khoảng 1,5 μg/g). Vì vậy, có thể kết luận rằng khoảng 30%, khoảng 42%, và khoảng 53% lượng GAG được tích tụ một cách bất thường trong mô phổi của chuột nhắt I2S-KO/hTfR-KI bị phân giải bởi I2S-kháng thể kháng-hTfR được dùng ở liều lượng 0,5 mg/kg, 1,0 mg/kg, và 2,0 mg/kg, tương ứng.

Ở tim, nồng độ của GAG bằng khoảng 4,6 μg/g trong mô tim của nhóm đối chứng, trong khi nồng độ của GAG trong mô tim của các nhóm được dùng 0,5 mg/kg, 1,0 mg/kg, và 2,0 mg/kg bằng khoảng 2,2 μg/g, khoảng 2,0 μg/g, khoảng 1,5 μg/g, tương ứng, cho thấy sự giảm phụ thuộc vào liều lượng (Fig. 10d). Phần bất thường của lượng GAG trong mô tim của chuột nhắt I2S-KO/hTfR-KI có thể được xác định bằng khoảng 3,8 μg/g, nghĩa là, lượng còn lại sau khi lấy nồng độ của GAG trong mô tim của nhóm đối chứng (khoảng 4,6 μg/g) trừ đi nồng độ của GAG trong mô tim của chuột nhắt kiểu hoang (khoảng 0,8 μg/g). Vì vậy, có thể kết luận rằng khoảng 63%, khoảng 70%, và khoảng 81% lượng GAG được tích tụ một cách bất thường trong mô tim của chuột nhắt I2S-KO/hTfR-KI bị phân giải bởi I2S-kháng thể kháng-hTfR được dùng ở liều lượng 0,5 mg/kg, 1,0 mg/kg, và 2,0 mg/kg, tương ứng.

Kết quả trên đây ở gan, phổi và tim chứng tỏ rằng I2S-kháng thể kháng-hTfR phân giải lượng GAG được tích tụ không chỉ trong não mà còn trong các cơ quan khác. Điều này chỉ ra rằng I2S-kháng thể kháng-hTfR (đặc biệt là I2S-kháng thể kháng hTfR 3), khi được dùng làm dược phẩm trong liệu pháp thay thế enzym cho các bệnh nhân mắc hội chứng Hunter, có thể bổ sung enzym này cho tất cả các cơ quan của bệnh nhân bao gồm cả não. Điều này cũng chỉ ra rằng I2S-kháng thể kháng-hTfR có thể bổ sung enzym cho tất cả các cơ quan của bệnh nhân bao gồm cả não mặc dù nó được dùng trong tĩnh mạch.

Ví dụ 23 Phương pháp xác định GAG

Nhìn chung, việc xác định GAG được thực hiện như sau bằng cách sử dụng kit định lượng GAG Wieslab™ (EURO-DIAGNOSTICA Inc.) theo hướng dẫn sử dụng đính kèm. Mẫu hoặc dung dịch chuẩn (trống hoặc nước), 50 µL mỗi loại, được bổ sung vào ống nghiệm dung tích 1,5-mL. Bổ sung 50 µL dung dịch GuHCl vào mỗi ống nghiệm, và để phản ứng xảy ra trong 15 phút ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch SAT, 50 µL, được bổ sung vào mỗi ống, và phản ứng được để tiến hành trong 15 phút ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch trộn gồm nước/dung dịch SAT/ dung dịch gốc Alcian Blue (9/5/1) được điều chế và được bổ sung vào các ống nghiệm, 750 µL mỗi loại, và phản ứng được để tiến hành trong 15 phút ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng ở dạng lỏng thu được được ly tâm ở 12500×g trong 15 phút để loại bỏ phần dịch nổi. Bổ sung 500 µL DMSO vào mỗi ống nghiệm, và sau đó lắc 15 phút để trộn ở nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp được ly tâm để loại bỏ phần dịch nổi. Bổ sung dung dịch Gu-Prop vào các ống nghiệm, 500 µL mỗi ống, và trộn bằng cách lắc trong 15 phút ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch trộn điều chế được được phân phối vào các lỗ của đĩa 96 lỗ, 200 µL mỗi lỗ, và đo độ hấp thụ của mỗi lỗ ở 600 nm bằng cách sử dụng thiết bị đọc đĩa. Đường cong tiêu chuẩn được xây dựng dựa trên các số liệu của các dung dịch chứa GAG với nồng độ đã biết, và nồng độ GAG được xác định bằng cách nội suy số liệu của mỗi mẫu có tham chiếu đến mẫu chuẩn.

Ví dụ 24 Điều chế protein dung hợp giữa kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và các peptit có hoạt tính sinh lý khác nhau

Các thí nghiệm được thực hiện trong các ví dụ từ 1 đến 22 nêu trên đã chỉ ra rằng I2S người liên kết với kháng thể đã được làm giống như của người kháng hTfR đi qua hàng rào máu não, đi vào trong mô não, và thể hiện hoạt tính I2S trong não. Tiếp theo, protein dung hợp được điều chế giữa kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và các peptit có hoạt tính sinh lý khác nhau để kiểm tra xem liệu các protein dung hợp này có đi qua BBB và đi vào trong mô não hay không. Ở đây, erythropoietin người, arylsulfataza A người, PPT-1 người, TPP-1 người,

α-L-iduronidaza người, thụ thể TNFα người, và N-sulphoglucosamin sulphohydrolaza người (heparan N-sulfataza) được lựa chọn làm các peptit có hoạt tính sinh lý được dung hợp với kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR . Các vectơ biểu hiện được dùng để biểu hiện protein dung hợp giữa kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và các peptit có hoạt tính sinh lý, cũng như là protein dung hợp thu được, được điều chế theo các ví dụ từ 25 đến 31 dưới đây.

Ví dụ 25 Phương pháp điều chế protein dung hợp giữa kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và erythropoietin người

Đoạn ADN được tổng hợp nhân tạo bao gồm trình tự nucleotit như được nêu trong SEQ ID NO:258, mà bao gồm cADN mã hóa protein bao gồm kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210 và erythropoietin người (hEPO) có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:256 và được liên kết, qua một trình tự liên kết Gly-Ser, ở phía đầu tận cùng C của chuỗi nặng của kháng thể. Đoạn ADN này mã hóa protein có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:257, bao gồm kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và hEPO, được liên kết, qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với chuỗi nặng của kháng thể ở phía đầu tận cùng C của nó. Đoạn ADN này có, ở phía đầu 5', trình tự MluI và trình tự mã hóa peptit dẫn đóng vai trò làm tín hiệu tiết, theo thứ tự này từ đầu 5', và trình tự NotI ở phía đầu 3'. Đoạn ADN này được phân cắt bằng MluI và NotI, và được cài xen vào vectơ pE-neo giữa các vị trí MluI và NotI để xây dựng pE-neo(HC-hEPO).

Bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 12, các tế bào CHO được biến nạp với pE-neo(HC-hEPO) và pE-hygr(LC3), mà nó được xây dựng trong ví dụ 11, thu được dòng tế bào biểu hiện protein dung hợp giữa hEPO và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào biểu hiện hEPO-kháng thể kháng hTfR. Protein dung hợp giữa hEPO và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR, được biểu hiện bởi dòng tế bào này, được gọi là EPO-kháng thể kháng hTfR.

Các tế bào thuộc dòng tế bào biểu hiện hEPO-kháng thể kháng hTfR được pha loãng bằng môi trường CD OptiCHO™ đến mật độ xấp xỉ 2×10^5 tế bào/mL, và 200 mL dịch huyền phù chứa tế bào được bổ sung vào bình nón có dung tích 1L và được nuôi cấy trong 6 đến 7 ngày trong môi trường ẩm ở 37°C, 5% CO_2, 95% không khí, kèm theo khuấy ở tốc độ khoảng 70 vòng/phút. Môi trường nuôi cấy được thu hồi bằng cách ly tâm và được lọc qua thiết bị lọc cỡ lỗ 0,22 µm (Millipore Inc.) để điều chế dịch nổi nuôi cấy. Bổ sung dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng năm lần thể tích cột vào dịch nổi nuôi cấy thu được, và nạp vào cột Protein A (thể tích cột 1: mL, Bio-Rad Inc.) đã được làm cân bằng trước với dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng ba lần thể tích cột. Tiếp theo, cùng dung dịch đệm với thể tích bằng năm lần thể tích cột được dùng để rửa cột, EPO-kháng hTfR đã hấp phụ được rửa giải bằng dung dịch đệm glyxin 50 mM (pH 2,8) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng bốn lần thể tích cột. Dchj rửa giải chứa EPO-kháng thể kháng hTfR được điều chỉnh đến độ pH 7,0 bằng dung dịch đệm Tris 1 M (pH 8,0), và sau đó dung dịch đệm được thay bằng PBS bằng cách sử dụng màng Amicon Ultra 30 kDa (Millipore Inc.). Dung dịch thu được được sử dụng làm sản phẩm EPO-kháng thể kháng hTfR tinh khiết.

Ví dụ 26 Phương pháp điều chế protein dung hợp giữa kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và arylsulfataza A người

Đoạn ADN được tổng hợp nhân tạo bao gồm trình tự nucleotit như được nêu trong SEQ ID NO:261, mà bao gồm cADN mã hóa protein bao gồm kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210 và arylsulfataza A người (hARSA) có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:259 và được liên kết, qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với chuỗi nặng của kháng thể ở phía đầu tận cùng C của nó. Đoạn ADN này mã hóa protein có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:260, bao gồm kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và hARSA, được liên kết, qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với chuỗi nặng của kháng thể ở phía đầu tận cùng C của nó. Đoạn ADN này

có, ở phía đầu 5', trình tự MluI và trình tự mã hóa peptit dẫn đóng vai trò làm tín hiệu tiết, theo thứ tự này từ đầu 5', và trình tự NotI ở phía đầu 3'. Đoạn ADN này được phân cắt bằng MluI và NotI, và được cài xen vào vectơ pE-neo giữa các vị trí MluI và NotI để xây dựng pE-neo(HC-hARSA).

Bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 12, các tế bào CHO được biến nạp với pE-neo(HC-hARSA) và pE-hygr(LC3), mà nó được xây dựng trong ví dụ 11, thu được dòng tế bào biểu hiện protein dung hợp giữa hARSA và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào biểu hiện hARSA-kháng thể kháng hTfR. Protein dung hợp giữa hARSA và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR, được biểu hiện bởi dòng tế bào này, được gọi là hARSA-kháng thể kháng hTfR.

Các tế bào thuộc dòng tế bào biểu hiện hARSA-kháng thể kháng hTfR được pha loãng bằng môi trường CD CD OptiCHO™ đến mật độ xấp xỉ 2×10^5 tế bào/mL, và 200 mL dịch huyền phù chứa tế bào được bổ sung vào bình nón có dung tích 1L và được nuôi cấy trong 6 đến 7 ngày trong môi trường ẩm ở 37°C, 5% CO_2, 95% không khí, kèm theo khuấy ở tốc độ khoảng 70 vòng/phút. Môi trường nuôi cấy được thu hồi bằng cách ly tâm và được lọc qua thiết bị lọc cỡ lỗ 0,22 μm (Millipore Inc.) để điều chế dịch nổi nuôi cấy. Bổ sung năm thể tích cột dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl vào dịch nổi nuôi cấy thu được, và nạp vào cột Protein A (thể tích cột: 1 mL, Bio-Rad Inc.) đã được làm cân bằng từ trước với dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng ba thể tích cột. Tiếp theo, cùng dung dịch đệm với thể tích bằng năm lần thể tích cột được dùng để rửa cột, ARSA-kháng hTfR đã hấp phụ được rửa giải bằng dung dịch đệm glyxin 50 mM (pH 2,8) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng bốn lần thể tích cột. Dịch rửa giải chứa ARSA-kháng thể kháng hTfR được điều chỉnh đến độ pH 7,0 bằng dung dịch đệm Tris 1 M (pH 8,0), và sau đó dung dịch đệm được thay bằng PBS bằng cách sử dụng màng Amicon Ultra 30 kDa (Millipore Inc.). Dung dịch thu được được sử dụng làm sản phẩm ARSA-kháng thể kháng hTfR tinh khiết.

Ví dụ 27 Phương pháp điều chế protein dung hợp giữa kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và PPT-1 người

Đoạn ADN được tổng hợp nhân tạo bao gồm trình tự nucleotit như được nêu trong SEQ ID NO:264, mà bao gồm cADN mã hóa protein bao gồm kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210 và PPT-1 người (hPPT-1) có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:262 và được liên kết, qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với chuỗi nặng của kháng thể ở phía đầu tận cùng C của nó. Đoạn ADN này mã hóa protein có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:263, bao gồm kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và hPPT-1, được liên kết, qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với chuỗi nặng của kháng thể ở phía đầu tận cùng C của nó. Đoạn ADN này có, ở phía đầu 5', trình tự MluI và trình tự mã hóa peptit dẫn đóng vai trò làm tín hiệu tiết, theo thứ tự này từ đầu 5', và trình tự NotI ở phía đầu 3'. Đoạn ADN này được phân cắt bằng MluI và NotI, và được cài xen vào vectơ pE-neo giữa các vị trí MluI và NotI để xây dựng pE-neo(HC-hPPT-1).

Bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 12, các tế bào CHO được biến nạp với pE-neo(HC-hPPT-1) và pE-hygr(LC3), mà nó được xây dựng trong ví dụ 11, thu được dòng tế bào biểu hiện protein dung hợp giữa hPPT-1 và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào biểu hiện hPPT-1-kháng thể kháng hTfR. Protein dung hợp giữa hPPT-1 và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR, được biểu hiện bởi dòng tế bào này, được gọi là PPT-1-kháng thể kháng hTfR.

Các tế bào thuộc dòng tế bào biểu hiện hPPT-1-kháng thể kháng hTfR được pha loãng bằng môi trường CD CD OptiCHO™ đến mật độ xấp xỉ 2×10^5 tế bào/mL, và 200 mL dịch huyền phù chứa tế bào được bổ sung vào bình nón có dung tích 1L và được nuôi cấy trong 6 đến 7 ngày trong môi trường ẩm ở ở 37°C, 5% CO_2, 95% không khí, kèm theo khuấy ở tốc độ khoảng 70 vòng/phút. Môi trường nuôi cấy được thu hồi bằng cách ly tâm và được lọc qua thiết bị lọc cỡ lỗ 0,22 μm (Millipore Inc.) để điều

chế dịch nổi nuôi cấy. Bổ sung năm thể tích cột dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl vào dịch nổi nuôi cấy thu được, và nạp vào cột Protein A (thể tích cột: 1 mL, Bio-Rad Inc.) đã được làm cân bằng từ trước với dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng ba thể tích cột. Tiếp theo, cùng dung dịch đệm với thể tích bằng năm lần thể tích cột được dùng để rửa cột, PPT-1-kháng hTfR đã hấp phụ được rửa giải bằng dung dịch đệm glyxin 50 mM (pH 2,8) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng bốn lần thể tích cột. Dịch rửa giải chứa PPT-1-kháng thể kháng hTfR được điều chỉnh đến độ pH 7,0 bằng dung dịch đệm Tris 1 M (pH 8,0), và sau đó dung dịch đệm được thay bằng PBS bằng cách sử dụng màng Amicon Ultra 30 kDa (Millipore Inc.). Dung dịch thu được được sử dụng làm sản phẩm PPT-1-kháng thể kháng hTfR tinh khiết.

Ví dụ 28 Phương pháp điều chế protein dung hợp giữa kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và TPP-1 người

Đoạn ADN được tổng hợp nhân tạo bao gồm trình tự nucleotit như được nêu trong SEQ ID NO:267, mà bao gồm cADN mã hóa protein bao gồm kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210 và TPP-1 người (hTPP-1) có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:265 và được liên kết, qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với chuỗi nặng của kháng thể ở phía đầu tận cùng C của nó. Đoạn ADN này mã hóa protein dung hợp có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:266, bao gồm kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và hTPP-1, được liên kết, qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với chuỗi nặng của kháng thể ở phía đầu tận cùng C của nó. Đoạn ADN này có, ở phía đầu 5', trình tự MluI và trình tự mã hóa peptit dẫn đóng vai trò làm tín hiệu tiết, theo thứ tự này từ đầu 5', và trình tự NotI ở phía đầu 3'. Đoạn ADN này được phân cắt bằng MluI và NotI, và được cài xen vào vectơ pE-neo giữa các vị trí MluI và NotI để xây dựng pE-neo(HC-hTPP-1).

Bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 12, các tế bào CHO được biến nạp với pE-neo(HC-hTPP-1) và pE-hygr(LC3), mà nó được xây dựng trong ví dụ 11, thu

được dòng tế bào biểu hiện protein dung hợp giữa hTPP-1 và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào biểu hiện hTPP-1-kháng thể kháng hTfR. Protein dung hợp giữa hTPP-1 và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR, được biểu hiện bởi dòng tế bào này, được gọi là TPP-1-kháng thể kháng hTfR.

Các tế bào thuộc dòng tế bào biểu hiện hTPP-1-kháng thể kháng hTfR được pha loãng bằng môi trường CD CD OptiCHO™ đến mật độ xấp xỉ 2×10^5 tế bào/mL, và 200 mL dịch huyền phù chứa tế bào được bổ sung vào bình nón có dung tích 1L và được nuôi cấy trong 6 đến 7 ngày trong môi trường ẩm ở 37°C, 5% CO_2, 95% không khí, kèm theo khuấy ở tốc độ khoảng 70 vòng/phút. Môi trường nuôi cấy được thu hồi bằng cách ly tâm và được lọc qua thiết bị lọc cỡ lỗ 0,22 μm (Millipore Inc.) để điều chế dịch nổi nuôi cấy. Bổ sung năm thể tích cột dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl vào dịch nổi nuôi cấy thu được, và nạp vào cột Protein A (thể tích cột: 1 mL, Bio-Rad Inc.) đã được làm cân bằng từ trước với dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng ba thể tích cột. Tiếp theo, cùng dung dịch đệm với thể tích bằng năm lần thể tích cột được dùng để rửa cột, TPP-1-kháng hTfR đã hấp phụ được rửa giải bằng dung dịch đệm glyxin 50 mM (pH 2,8) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng bốn lần thể tích cột. Dịch rửa giải chứa TPP-1-kháng thể kháng hTfR được điều chỉnh đến độ pH 7,0 bằng dung dịch đệm Tris 1 M (pH 8,0), và sau đó dung dịch đệm được thay bằng PBS bằng cách sử dụng màng Amicon Ultra 30 kDa (Millipore Inc.). Dung dịch thu được được sử dụng làm sản phẩm TPP-1-kháng thể kháng hTfR tinh khiết.

Ví dụ 29 Phương pháp điều chế protein dung hợp giữa kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và α-L-iduronidaza người

Đoạn ADN được tổng hợp nhân tạo bao gồm trình tự nucleotit như được nêu trong SEQ ID NO:270, mà bao gồm cADN mã hóa protein bao gồm kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210 và α-L-iduronidaza người (hIDUA) có trình tự axit amin như được nêu

trong SEQ ID NO:268 và được liên kết, qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với chuỗi nặng của kháng thể ở phía đầu tận cùng C của nó. Đoạn ADN này mã hóa protein dung hợp có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:269, bao gồm kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và hIDUA, được liên kết, qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với chuỗi nặng của kháng thể ở phía đầu tận cùng C của nó. Đoạn ADN này có, ở phía đầu 5', trình tự MluI và trình tự mã hóa peptit dẫn đóng vai trò làm tín hiệu tiết, theo thứ tự này từ đầu 5', và trình tự NotI ở phía đầu 3'. Đoạn ADN này được phân cắt bằng MluI và NotI, và được cài xen vào vectơ pE-neo giữa các vị trí MluI và NotI để xây dựng pE-neo(HC-hIDUA).

Bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 12, các tế bào CHO được biến nạp với pE-neo(HC-hIDUA) và pE-hygr(LC3), mà nó được xây dựng trong ví dụ 11, thu được dòng tế bào biểu hiện protein dung hợp giữa hIDUA và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào biểu hiện hIDUA-kháng thể kháng hTfR. Protein dung hợp giữa hIDUA và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR, được biểu hiện bởi dòng tế bào này, được gọi là hIDUA-kháng thể kháng hTfR.

Các tế bào thuộc dòng tế bào biểu hiện hIDUA-kháng thể kháng hTfR được pha loãng bằng môi trường CD CD OptiCHO™ đến mật độ xấp xỉ 2×10^5 tế bào/mL, và 200 mL dịch huyền phù chứa tế bào được bổ sung vào bình nón có dung tích 1L và được nuôi cấy trong 6 đến 7 ngày trong môi trường ẩm ở 37°C, 5% CO_2, 95% không khí, kèm theo khuấy ở tốc độ khoảng 70 vòng/phút. Môi trường nuôi cấy được thu hồi bằng cách ly tâm và được lọc qua thiết bị lọc cỡ lỗ 0,22 μm (Millipore Inc.) để điều chế dịch nổi nuôi cấy. Bổ sung năm thể tích cột dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl vào dịch nổi nuôi cấy thu được, và nạp vào cột Protein A (thể tích cột: 1 mL, Bio-Rad Inc.) đã được làm cân bằng từ trước với dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng ba thể tích cột. Tiếp theo, cùng dung dịch đệm với thể tích bằng năm lần thể tích cột được dùng để rửa cột, IDUA-kháng hTfR đã hấp phụ được rửa giải bằng dung dịch đệm glyxin 50 mM (pH

2,8) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng bốn lần thể tích cột. Dịch rửa giải chứa IDUA-kháng thể kháng hTfR được điều chỉnh đến độ pH 7,0 bằng dung dịch đệm Tris 1 M (pH 8,0), và sau đó dung dịch đệm được thay bằng PBS bằng cách sử dụng màng Amicon Ultra 30 kDa (Millipore Inc.). Dung dịch thu được được sử dụng làm sản phẩm IDUA-kháng thể kháng hTfR tinh khiết.

Ví dụ 30 Phương pháp điều chế protein dung hợp giữa kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và thụ thể TNFα người

Đoạn ADN được tổng hợp nhân tạo bao gồm trình tự nucleotit như được nêu trong SEQ ID NO:270, mà bao gồm cADN mã hóa protein bao gồm kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210 và thụ thể TNFα người (hTNFαR) có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:271 và được liên kết, qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với chuỗi nặng của kháng thể ở phía đầu tận cùng C của nó. Đoạn ADN này mã hóa protein dung hợp có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:272, bao gồm kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và hTNFαR mà được liên kết, qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với chuỗi nặng của kháng thể ở phía đầu tận cùng C của nó. Đoạn ADN này có, ở phía đầu 5', trình tự MluI và trình tự mã hóa peptit dẫn đóng vai trò làm tín hiệu tiết, theo thứ tự này từ đầu 5', và trình tự NotI ở phía đầu 3'. Đoạn ADN này được phân cắt bằng MluI và NotI, và được cài xen vào vectơ pE-neo giữa các vị trí MluI và NotI để xây dựng pE-neo(HC-hTNFαR).

Bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 12, các tế bào CHO được biến nạp với pE-neo(HC-hTNFαR) và pE-hygr(LC3), mà nó được xây dựng trong ví dụ 11, thu được dòng tế bào biểu hiện protein dung hợp giữa hTNFαR và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào biểu hiện hTNFαR-kháng thể kháng hTfR. Protein dung hợp giữa hTNFαR và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR, được biểu hiện bởi dòng tế bào này, được gọi là TNFαR-kháng thể kháng hTfR.

Các tế bào thuộc dòng tế bào biểu hiện hTNFαR-kháng thể kháng hTfR được

pha loãng bằng môi trường CD OptiCHO™ đến mật độ xấp xỉ 2×10^5 tế bào/mL, và 200 mL dịch huyền phù chứa tế bào được bổ sung vào bình nón có dung tích 1L và được nuôi cấy trong 6 đến 7 ngày trong môi trường ẩm ở 37°C, 5% CO_2, 95% không khí, kèm theo khuấy ở tốc độ khoảng 70 vòng/phút. Môi trường nuôi cấy được thu hồi bằng cách ly tâm và được lọc qua thiết bị lọc cỡ lỗ 0,22 µm (Millipore Inc.) để điều chế dịch nổi nuôi cấy. Bổ sung năm thể tích cột dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl vào dịch nổi nuôi cấy thu được, và nạp vào cột Protein A (thể tích cột: 1 mL, Bio-Rad Inc.) đã được làm cân bằng từ trước với dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng ba thể tích cột. Tiếp theo, cùng dung dịch đệm với thể tích bằng năm lần thể tích cột được dùng để rửa cột, hTNFαR-kháng hTfR đã hấp phụ được rửa giải bằng dung dịch đệm glyxin 50 mM (pH 2,8) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng bốn lần thể tích cột. Dịch rửa giải chứa TNFαR-kháng thể kháng hTfR được điều chỉnh đến độ pH 7,0 bằng dung dịch đệm Tris 1 M (pH 8,0), và sau đó dung dịch đệm được thay bằng PBS bằng cách sử dụng màng Amicon Ultra 30 kDa (Millipore Inc.). Dung dịch thu được được sử dụng làm sản phẩm TNFαR-kháng thể kháng hTfR tinh khiết.

Ví dụ 31 Phương pháp điều chế protein dung hợp giữa kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và heparan N-sulfataza người

Đoạn ADN được tổng hợp nhân tạo bao gồm trình tự nucleotit như được nêu trong SEQ ID NO:276, mà bao gồm cADN mã hóa protein bao gồm kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210 và heparan N-sulfataza người (hSGSH) có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:274 và được liên kết, qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với chuỗi nặng của kháng thể ở phía đầu tận cùng C của nó. Đoạn ADN này mã hóa protein dung hợp có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:275, bao gồm kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR và hSGSH, được liên kết, qua một trình tự liên kết Gly-Ser, với chuỗi nặng của kháng thể ở phía đầu tận cùng C của nó. Đoạn ADN này có, ở phía đầu 5', trình tự MluI và trình tự mã hóa peptit dẫn đóng vai trò

làm tín hiệu tiết, theo thứ tự này từ đầu 5', và trình tự NotI ở phía đầu 3'. Đoạn ADN này được phân cắt bằng MluI và NotI, và được cài xen vào vectơ pE-neo giữa các vị trí MluI và NotI để xây dựng pE-neo(HC-hSGSH).

Bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ 12, các tế bào CHO được biến nạp với pE-neo(HC-hSGSH) và pE-hygr(LC3), mà nó được xây dựng trong ví dụ 11, thu được dòng tế bào biểu hiện protein dung hợp giữa hSGSH và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR. Dòng tế bào này được gọi là dòng tế bào biểu hiện hSGSH-kháng thể kháng hTfR. Protein dung hợp giữa hSGSH và kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR, được biểu hiện bởi dòng tế bào này, được gọi là SGSH-kháng thể kháng hTfR.

Các tế bào thuộc dòng tế bào biểu hiện hSGSH-1-kháng thể kháng hTfR được pha loãng bằng môi trường CD CD OptiCHO™ đến mật độ xấp xỉ 2×10^5 tế bào/mL, và 200 mL dịch huyền phù chứa tế bào được bổ sung vào bình nón có dung tích 1L và được nuôi cấy trong 6 đến 7 ngày trong môi trường ẩm ở 37°C, 5% CO_2, 95% không khí, kèm theo khuấy ở tốc độ khoảng 70 vòng/phút. Môi trường nuôi cấy được thu hồi bằng cách ly tâm và được lọc qua thiết bị lọc cỡ lỗ 0,22 μm (Millipore Inc.) để điều chế dịch nổi nuôi cấy. Bổ sung năm thể tích cột dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl vào dịch nổi nuôi cấy thu được, và nạp vào cột Protein A (thể tích cột: 1 mL, Bio-Rad Inc.) đã được làm cân bằng từ trước với dung dịch đệm Tris 20 mM (pH 8,0) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng ba thể tích cột. Tiếp theo, cùng dung dịch đệm với thể tích bằng năm lần thể tích cột được dùng để rửa cột, SGSH-kháng hTfR đã hấp phụ được rửa giải bằng dung dịch đệm glyxin 50 mM (pH 2,8) chứa 150 mM NaCl với thể tích bằng bốn lần thể tích cột. Dịch rửa giải chứa SGSH-kháng thể kháng hTfR được điều chỉnh đến độ pH 7,0 bằng dung dịch đệm Tris 1 M (pH 8,0), và sau đó dung dịch đệm được thay bằng PBS bằng cách sử dụng màng Amicon Ultra 30 kDa (Millipore Inc.). Dung dịch thu được được sử dụng làm sản phẩm SGSH-kháng thể kháng hTfR tinh khiết.

Ví dụ 32 Đánh giá sự vận chuyển protein dung hợp giữa kháng thể được làm

giống như của người kháng hTfR và các peptit có hoạt tính sinh lý khác nhau vào não

Mỗi sản phẩm EPO-kháng thể kháng hTfR, ARSA-kháng thể kháng hTfR, PPT-1-kháng thể kháng hTfR, TPP-1-kháng thể kháng hTfR, IDUA-kháng thể kháng hTfR, TNFαR-kháng thể kháng hTfR và SGSH-kháng thể kháng hTfR tinh chế được điều chế trong các ví dụ từ 25 đến 31, tương ứng, được dùng một lần trong tĩnh mạch cho chuột nhắt hTfR-KI ở liều lượng 3 mg/kg. Để làm mẫu đối chứng, chế phẩm globulin miễn dịch người (Benesis: globulin miễn dịch người dùng để tiêm trong cơ, Mitsubishi Tanabe Pharma Inc.) được tiêm trong tĩnh mạch một lần cho chuột nhắt hTfR-KI (17 đến 28 tuần tuổi) ở liều lượng 3 mg/kg. Chuột nhắt hTfR-KI đơn lẻ (đực, 17 đến 28 tuần tuổi) được sử dụng để cho dùng mỗi protein dung hợp và mẫu đối chứng.

Tám giờ sau khi tiêm trong tĩnh mạch, mỗi con chuột nhắt được đưa đi rửa toàn thân bằng nước muối sinh lý, và tiếp theo mô não của nó được cắt ra sau khi rửa. Tiếp theo, mô não đã cắt ra được đồng hóa với T-PER (Thermo Fisher Scientific Inc.) chứa hỗn hợp chất ức chế peoteaza (Proteaza Inhibitor Cocktail - Sigma Inc.), và phần dịch nổi được thu hồi sau khi ly tâm. Nồng độ của protein dung hợp được chứa trong dịch nổi đã thu hồi của dịch đồng hóa được xác định bằng phương pháp sau. Ngoài ra, kháng thể đa dòng dê đã được gắn nhãn biotin kháng IgG Fc người đã được điều chế bằng cách gắn nhãn biotin cho kháng thể đa dòng dê kháng IgG Fc người (Bethyl Inc.) bằng kit NH_2 gắn nhãn biotin (Biotin Labelling Kit-NH_2 - Dojindo Laboratories Inc.) theo hướng dẫn đính kèm. Hơn nữa, kháng thể đa dòng dê đã được gắn nhãn SULFO kháng IgGFc người được sử dụng được điều chế bằng cách gắn nhãn SULFO cho kháng thể đa dòng dê kháng IgG Fc người (Bethyl Inc.) bằng MSD SULFO-TAG NHS-Ester (Meso scale Diagnostics Inc.) theo hướng dẫn đính kèm.

Bổ sung 150 µL dung dịch đệm phong bế SuperBlock trong PBS (Thermo Fisher Scientific Inc.) vào mỗi lỗ của đĩa Streptavidin Gold Plate 96 lỗ (Meso scale Diagnostics Inc.) và để yên trong một giờ ở nhiệt độ trong phòng để phong bế đĩa. Kháng thể đa dòng dê đã được gắn nhãn biotin kháng IgG Fc người được pha loãng

đến 0,5 μg/mL bằng dung dịch đệm phong bế SuperBlock trong PBS. kháng thể đa dòng dê đã được gắn nhãn SULFO kháng IgG Fc người được pha loãng đến 1,0 μg/mL bằng dung dịch đệm phong bế SuperBlock trong PBS. Các dung dịch kháng thể được gắn nhãn biotin và kháng thể được gắn nhãn SULFO đã được pha loãng , 25 μL mỗi loại, được trộn với 25 μL mỗi mẫu, và được ủ trong một giờ để điều chế mẫu để dùng cho phản ứng kháng thể.

Sau khi mỗi lỗ của đĩa đã được phong bế được rửa bằng 200 μL PBS-T (Sigma Inc.), 25 μL mẫu dùng cho phản ứng kháng thể được bổ sung vào lỗ này, và được ủ trong một giờ. Sau khi ủ, mỗi lỗ của đĩa được rửa bằng 200 μL PBS-T, và dung dịch đệm đọc T (Meso scale Diagnostics Inc.) được bổ sung và mức phát quang từ mỗi lỗ được xác định trên Sector™ Imager 6000 (Meso scale Diagnostics Inc.). Lượng protein dung hợp được chứa trong một gam mô não (g trọng lượng ướt) (nồng độ của protein dung hợp trong mô não) được tính toán bằng cách xây dựng đường cong tiêu chuẩn dựa trên số đo của các mẫu chuẩn chứa mẫu này với nồng độ đã biết, và sau đó nội suy số đo của các mẫu có tham chiếu đến mẫu chuẩn này. Kết quả được thể hiện trong bảng 13.

Khi nồng độ của globulin miễn dịch người, mẫu đối chứng, trong mô não được dùng như là giá trị đơn vị, các giá trị tương ứng của của nồng độ EPO-kháng thể kháng hTfR, ARSA-kháng thể kháng hTfR, PPT-1-kháng thể kháng hTfR, TPP-1-kháng thể kháng hTfR, IDUA-kháng thể kháng hTfR, TNFαR-kháng thể kháng hTfR vaf SGSH-kháng thể kháng hTfR trong mô não là 4,33, 3,39, 4,87, 6,48, 5,62, 7,44, và 2,24, tương ứng, chứng tỏ rằng các peptit có hoạt tính sinh lý này liên kết một cách tích cực với kháng thể kháng hTfR để đi vào mô não. Kết quả này chỉ ra rằng các protein có hoạt tính dược lý này, thường không đi qua hàng rào máu não, có thể được tạo ra để đi qua hàng rào máu não và đi vào mô não bằng cách cho chúng dung hợp với kháng thể kháng hTfR.

Vì vậy, các kết quả nêu trên chỉ ra rằng EPO-kháng thể kháng hTfR có thể được sử dụng làm tác nhân trị liệu đối với chứng thiếu máu não cục bộ, ARSA-kháng

thể kháng hTfR, arylsulfataza A dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh thoái hóa chất trắng biến sắc (loạn dưỡng chất trắng biến sắc), PPT-1-kháng thể kháng hTfR dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh lipofuscinosis dạng sáp của tế bào thần kinh hoặc bệnh Santavuori-Haltia, TPP-1-kháng thể kháng hTfR dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở bệnh lipofuscinosis dạng sáp của tế bào thần kinh hoặc bệnh Jansky-Bielschowsky, IDUA-kháng thể kháng hTfR dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở hội chứng Hurler hoặc hội chứng Hurler-Scheie, SGSH-kháng thể kháng hTfR dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở hội chứng Sanfilippo, IDUA-kháng thể kháng hTfR dùng làm tác nhân trị liệu đối với các rối loạn thuộc hệ thần kinh trung ương ở hội chứng Hurler hoặc hội chứng Hurler-Scheie, và TNFαR-kháng thể kháng hTfR dùng làm tác nhân trị liệu đối với chứng thiếu máu não cục bộ và viêm não. Ngoài ra, kết quả nêu trên cũng chỉ ra những protein có hoạt tính dược lý quan tâm mà thường không đi qua hàng rào máu não có thể được tạo ra để đi qua hàng rào máu não và đi vào mô não, bằng cách cho chúng dung hợp với kháng thể kháng hTfR.

Bảng 13: Nồng độ của protein dung hợp trong mô não (µg/g trọng lượng ướt)

Protein dung hợp	Nồng độ	Giá trị tương đối so với mẫu đối chứng
Đối chứng	0,0199	1
EPO-kháng thể kháng hTfR	0,0862	4,33
ARSA-kháng thể kháng hTfR	0,0675	3,39
PPT-1-kháng thể kháng hTfR	0,0970	4,87
TPP-1-kháng thể kháng hTfR	0,129	6,48
IDUA-1-kháng thể kháng hTfR	0,112	5,62
TNFαR-kháng thể kháng hTfR	0,148	7,44
SGSH-kháng thể kháng hTfR	0,0445	2,24

Khả năng áp dụng công nghiệp

Kháng thể kháng hTfR theo sáng chế, khi được dung hợp với protein có hoạt tính dược lý, hợp chất có phân tử lượng thấp và các hợp chất tương tự có liên quan, có thể làm cho chúng có khả năng đi qua hàng rào máu não, và, vì vậy, cực kỳ hữu hiệu trong việc đề xuất phương thức để vận chuyển protein có hoạt tính dược lý vào não, hợp chất có phân tử lượng thấp và các hợp chất tương tự mà cần hoạt động trong hệ thần kinh trung ương.

Danh sách ký hiệu tham chiếu

1 Mạch máu

2 Trung mô não

3 Tế bào dạng thần kinh

4 Tế bào Purkinje

Văn bản không chứa Danh mục trình tự

SEQ ID NO:3: Trình tự axit amin của đoạn liên kết 1 được nêu làm ví dụ

SEQ ID NO:4: Trình tự axit amin của đoạn liên kết 2 được nêu làm ví dụ

SEQ ID NO:5: Trình tự axit amin của đoạn liên kết 3 được nêu làm ví dụ

SEQ ID NO:6: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:7: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:8: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:9: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:10: Trình tự axit amin của CDR3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:11: Trình tự axit amin 1 của CDR1trong chuỗi nhẹ của kháng thể

chuột nhắt kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:12: Trình tự axit amin 2 của CDR1trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:13: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:14: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:15: Trình tự axit amin của CDR3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:16: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:17: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:18: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:19: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:20: Trình tự axit amin của CDR3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:21: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 4

SEQ ID NO:22: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 4

SEQ ID NO:23: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 4

SEQ ID NO:24: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 4

SEQ ID NO:25: Trình tự axit amin của CDR3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể

chuột nhắt kháng hTfR số 4

SEQ ID NO:26: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 5

SEQ ID NO:27: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 5

SEQ ID NO:28: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 5

SEQ ID NO:29: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 5

SEQ ID NO:30: Trình tự axit amin của CDR3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 5

SEQ ID NO:31: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 6

SEQ ID NO:32: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 6

SEQ ID NO:33: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 6

SEQ ID NO:34: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 6

SEQ ID NO:35: Trình tự axit amin của CDR3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 6

SEQ ID NO:36: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 7

SEQ ID NO:37: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 7

SEQ ID NO:38: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 7

SEQ ID NO:39: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể

chuột nhắt kháng hTfR số 7

SEQ ID NO:40: Trình tự axit amin của CDR3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 7

SEQ ID NO:41: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 8

SEQ ID NO:42: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 8

SEQ ID NO:43: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 8

SEQ ID NO:44: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 8

SEQ ID NO:45: Trình tự axit amin của CDR3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 8

SEQ ID NO:46: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 9

SEQ ID NO:47: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 9

SEQ ID NO:48: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 9

SEQ ID NO:49: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 9

SEQ ID NO:50: Trình tự axit amin của CDR3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 9

SEQ ID NO:51: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 10

SEQ ID NO:52: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 10

SEQ ID NO:53: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể

chuột nhắt kháng hTfR số 10

SEQ ID NO:54: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 10

SEQ ID NO:55: Trình tự axit amin của CDR3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 10

SEQ ID NO:56: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 11

SEQ ID NO:57: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 11

SEQ ID NO:58: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 11

SEQ ID NO:59: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 11

SEQ ID NO:60: Trình tự axit amin của CDR3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 11

SEQ ID NO:61: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 12

SEQ ID NO:62: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 12

SEQ ID NO:63: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 12

SEQ ID NO:64: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 12

SEQ ID NO:65: Trình tự axit amin của CDR3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 12

SEQ ID NO:66: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 13

SEQ ID NO:67: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể

chuột nhắt kháng hTfR số 13

SEQ ID NO:68: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 13

SEQ ID NO:69: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 13

SEQ ID NO:70: Trình tự axit amin của CDR3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 13

SEQ ID NO:71: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 14

SEQ ID NO:72: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 14

SEQ ID NO:73: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 14

SEQ ID NO:74: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 14

SEQ ID NO:75: Trình tự axit amin của CDR3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 14

SEQ ID NO:76: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:77: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:78: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:79: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:80: Trình tự axit amin 1 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:81: Trình tự axit amin 2 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng

thể chuột nhắt kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:82: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:83: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:84: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:85: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:86: Trình tự axit amin 1 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:87: Trình tự axit amin 2 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:88: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:89: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:90: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:91: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:92: Trình tự axit amin 1 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:93: Trình tự axit amin 2 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:94: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 4

SEQ ID NO:95: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng

thể chuột nhắt kháng hTfR số 4

SEQ ID NO:96: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 4

SEQ ID NO:97: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 4

SEQ ID NO:98: Trình tự axit amin 1 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 4

SEQ ID NO:99: Trình tự axit amin 2 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 4

SEQ ID NO:100: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 5

SEQ ID NO:101: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 5

SEQ ID NO:102: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 5

SEQ ID NO:103: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 5

SEQ ID NO:104: Trình tự axit amin 1 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 5

SEQ ID NO:105: Trình tự axit amin 2 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 5

SEQ ID NO:106: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 6

SEQ ID NO:107: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 6

SEQ ID NO:108: Trình tự axit amin của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 6

SEQ ID NO:109: Trình tự axit amin 1 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng

thể chuột nhắt kháng hTfR số 6

SEQ ID NO:110: Trình tự axit amin 2 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 6

SEQ ID NO:111: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 7

SEQ ID NO:112: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 7

SEQ ID NO:113: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 7

SEQ ID NO:114: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 7

SEQ ID NO:115: Trình tự axit amin 1 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 7

SEQ ID NO:116: Trình tự axit amin 2 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 7

SEQ ID NO:117: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 8

SEQ ID NO:118: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 8

SEQ ID NO:119: Trình tự axit amin của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 8

SEQ ID NO:120: Trình tự axit amin 1 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 8

SEQ ID NO:121: Trình tự axit amin 2 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 8

SEQ ID NO:122: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 9

SEQ ID NO:123: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng

thể chuột nhắt kháng hTfR số 9

SEQ ID NO:124: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 9

SEQ ID NO:125: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 9

SEQ ID NO:126: Trình tự axit amin 1 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 9

SEQ ID NO:127: Trình tự axit amin 2 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 9

SEQ ID NO:128: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 10

SEQ ID NO:129: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 10

SEQ ID NO:130: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 10

SEQ ID NO:131: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 10

SEQ ID NO:132: Trình tự axit amin 1 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 10

SEQ ID NO:133: Trình tự axit amin 2 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 10

SEQ ID NO:134: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 11

SEQ ID NO:135: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 11

SEQ ID NO:136: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 11

SEQ ID NO:137: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng

thể chuột nhắt kháng hTfR số 11

SEQ ID NO:138: Trình tự axit amin 1 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 11

SEQ ID NO:139: Trình tự axit amin 2 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 11

SEQ ID NO:140: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 12

SEQ ID NO:141: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 12

SEQ ID NO:142: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 12

SEQ ID NO:143: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 12

SEQ ID NO:144: Trình tự axit amin 1 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 12

SEQ ID NO:145: Trình tự axit amin 2 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 12

SEQ ID NO:146: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 13

SEQ ID NO:147: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 13

SEQ ID NO:148: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 13

SEQ ID NO:149: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 13

SEQ ID NO:150: Trình tự axit amin 1 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 13

SEQ ID NO:151: Trình tự axit amin 2 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng

thể chuột nhắt kháng hTfR số 13

SEQ ID NO:152: Trình tự axit amin 1 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 14

SEQ ID NO:153: Trình tự axit amin 2 của CDR1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 14

SEQ ID NO:154: Trình tự axit amin 1 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 14

SEQ ID NO:155: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 14

SEQ ID NO:156: Trình tự axit amin 1 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 14

SEQ ID NO:157: Trình tự axit amin 2 của CDR3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 14

SEQ ID NO:158: Trình tự axit amin 1 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:159: Trình tự axit amin 2 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:160: Trình tự axit amin 3 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:161: Trình tự axit amin 4 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:162: Trình tự axit amin 5 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:163: Trình tự axit amin 6 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:164: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:165: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:166: Trình tự axit amin 1 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:167: Trình tự axit amin 2 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:168: Trình tự axit amin 3 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:169: Trình tự axit amin 4 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:170: Trình tự axit amin 5 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:171: Trình tự axit amin 6 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:172: Trình tự axit amin của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi

SEQ ID NO:173: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:174: Trình tự axit amin 1 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:175: Trình tự axit amin 2 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:176: Trình tự axit amin 3 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:177: Trình tự axit amin 4 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:178: Trình tự axit amin 5 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:179: Trình tự axit amin 6 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:180: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi

SEQ ID NO:181: Trình tự nucleotit bao gồm trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:182: Trình tự axit amin 1 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:183: Trình tự axit amin 2 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:184: Trình tự axit amin 3 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:185: Trình tự axit amin 4 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:186: Trình tự axit amin 5 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:187: Trình tự axit amin 6 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:188: Trình tự axit amin của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi

SEQ ID NO:189: Trình tự nucleotit bao gồm trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:190: Trình tự axit amin 1 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:191: Trình tự axit amin 2 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:192: Trình tự axit amin 3 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:193: Trình tự axit amin 4 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:194: Trình tự axit amin 5 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:195: Trình tự axit amin 6 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:196: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 2 làm vùng biến đổi

SEQ ID NO:197: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 2 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:198: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 4 làm vùng biến đổi

SEQ ID NO:199: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 4 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:200: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 5 làm vùng biến đổi

SEQ ID NO:201: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 5 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:202: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi

SEQ ID NO:203: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nhẹ

của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:204: Trình tự axit amin 1 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:205: Trình tự axit amin 2 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:206: Trình tự axit amin 3 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:207: Trình tự axit amin 4 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:208: Trình tự axit amin 5 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:209: Trình tự axit amin 6 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:210: Trình tự axit amin của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 2 làm vùng biến đổi

SEQ ID NO:211: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 2 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:212: Trình tự axit amin của chuỗi nặng (IgG4) của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 2 làm vùng biến đổi

SEQ ID NO:213: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nặng (IgG4) của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 2 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:214: Đoạn mồi hTfR5', trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:215: Đoạn mồi hTfR3', trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:216: Đoạn mồi Hyg-Sfi5', trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:217: Đoạn mồi Hyg-BstX3', trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:218: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:219: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 1

SEQ ID NO:220: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:221: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 2

SEQ ID NO:222: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:223: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 3

SEQ ID NO:224: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 4

SEQ ID NO:225: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 4

SEQ ID NO:226: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 5

SEQ ID NO:227: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 5

SEQ ID NO:228: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 6

SEQ ID NO:229: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 6

SEQ ID NO:230: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 7

SEQ ID NO:231: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của

kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 7

SEQ ID NO:232: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 8

SEQ ID NO:233: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 8

SEQ ID NO:234: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 9

SEQ ID NO:235: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 9

SEQ ID NO:236: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 10

SEQ ID NO:237: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 10

SEQ ID NO:238: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 11

SEQ ID NO:239: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 11

SEQ ID NO:240: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 12

SEQ ID NO:241: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 12

SEQ ID NO:242: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 13

SEQ ID NO:243: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 13

SEQ ID NO:244: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 14

SEQ ID NO:245: Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của

kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 14

SEQ ID NO:247: Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 1 (số 6 đã được làm giống như của người) và hI2S

SEQ ID NO:248: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 1 (số 6 đã được làm giống như của người) và hI2S, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:249: Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 2 (số 6 đã được làm giống như của người) và hI2S

SEQ ID NO:250: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 2 (số 6 đã được làm giống như của người) và hI2S, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:251: Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 đã được làm giống như của người) và hI2S, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:252: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hI2S, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:253: Trình tự nucleotit của ADN trong đó gen kháng neomycin được chặn hai bên sườn bằng trình tự loxP được đặt ở phía đầu 3' của cADN của cADN mã hóa hTfR khảm, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:254: Trình tự nucleotit của nhánh 5' của vectơ hướng đích, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:255: Trình tự nucleotit của nhánh 3' của vectơ hướng đích, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:257: Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hEPO

SEQ ID NO:258: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của

người) và hEPO, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:260: Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hARSA

SEQ ID NO:261: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hARSA, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:263: Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hPPT-1

SEQ ID NO:264: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hPPT-1, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:266: Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hTPP-1

SEQ ID NO:267: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp cuar chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hTPP-1, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:269: Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hIDUA

SEQ ID NO:270: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hIDUA, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:272: Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hTNFαR

SEQ ID NO:273: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số α3 (số 2 được làm giống như của người) và hTNFαR, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:275: Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hSGSH

SEQ ID NO:276: Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hSGSH, trình tự tổng hợp

SEQ ID NO:277: Trình tự axit amin của kháng thể kháng hTfR chuỗi đơn

SEQ ID NO:278: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 6

SEQ ID NO:279: Trình tự axit amin 2 của CDR2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột nhắt kháng hTfR số 8

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể được làm giống như của người kháng thụ thể transferrin người, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được chọn từ nhóm bao gồm (1) và (2) dưới đây:

(1) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin có mức tương đồng về trình tự không thấp hơn 90% so với trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:191, và chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:16 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:18 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:20 làm CDR3; và

vùng biến đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có mức tương đồng về trình tự không thấp hơn 90% so với trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205, và chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:88 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:90 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:92 làm CDR3;

(2) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin có mức tương đồng về trình tự không thấp hơn 90% so với trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:191, và chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:16 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:18 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:20 làm CDR3; và

vùng biến đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có mức tương đồng về trình tự không thấp hơn 90% so với trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205, và chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:89 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:90 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:92 làm CDR3.

2. Kháng thể được làm giống như của người kháng thụ thể transferrin người, trong đó kháng thể này được chọn từ nhóm bao gồm (1) đến (4) dưới đây:

(1) kháng thể, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể này bao gồm trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:191; và trong đó vùng biến

đổi của chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205,

(2) kháng thể, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:193; và trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205,

(3) kháng thể, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:194; và trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205, và

(4) kháng thể, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:195; và trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205.

3. Kháng thể được làm giống như của người kháng thụ thể transferrin người, trong đó kháng thể này được chọn từ nhóm bao gồm (1) đến (8) dưới đây:

(1) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:196; và trong đó chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210,

(2) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:198; và trong đó chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210,

(3) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:200; và trong đó chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210,

(4) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:202; và trong đó chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210,

(5) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:196; và trong đó chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:212,

(6) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:198; và trong đó chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:212,

(7) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:200; và chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:212, và

(8) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:202; và trong đó chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:212.

4. Kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó kháng thể này có ái lực đối với cả vùng ngoại bào của thụ thể transferrin người và vùng ngoại bào của thụ thể transferrin khỉ.

5. Kháng thể theo điểm 4, trong đó hằng số phân ly của phức hợp của nó với vùng ngoại bào của thụ thể transferrin người không lớn hơn 1×10^{-8} M, và hằng số phân ly của phức hợp của nó với vùng ngoại bào của thụ thể transferrin khỉ không lớn hơn 5×10^{-8} M.

6. Kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó kháng thể này là kháng thể Fab, kháng thể $F(ab')_2$, hoặc kháng thể F(ab').

7. Kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó kháng thể này là kháng thể chuỗi đơn được chọn từ nhóm gồm scFab, scF(ab'), $scF(ab')_2$ và scFv.

8. Kháng thể theo điểm 7, trong đó chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể này được liên kết nhờ trình tự liên kết.

9. Kháng thể theo điểm 7, trong đó chuỗi nặng được liên kết, nhờ trình tự liên kết, với chuỗi nhẹ ở phía đầu tận cùng C của chuỗi nhẹ.

10. Kháng thể theo điểm 7, trong đó chuỗi nhẹ được liên kết, nhờ trình tự liên kết, với

chuỗi nặng ở phía đầu tận cùng C của chuỗi nặng.

11. Kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm 8 đến 10, trong đó trình tự liên kết bao gồm 8 đến 50 gốc axit amin.

12. Kháng thể theo điểm 11, trong đó trình tự liên kết được chọn từ nhóm gồm trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Gly, các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, và SEQ ID NO:5, và trình tự axit amin bao gồm ba trình tự axit amin được liên kết liên tiếp, mỗi trình tự trong số ba trình tự này như được nêu trong SEQ ID NO:3.

13. Protein dung hợp, chứa kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12 và trình tự axit amin của một protein (A) khác, mà được liên kết với chuỗi nhẹ của kháng thể ở phía đầu tận cùng C hoặc phía đầu tận cùng N của chuỗi nhẹ hoặc được liên kết với chuỗi nặng của kháng thể ở phía đầu tận cùng C hoặc phía đầu tận cùng N của chuỗi nặng.

14. Protein dung hợp chứa kháng thể và một protein (A) khác, trong đó kháng thể này là kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12, và trong đó protein (A) khác này được liên kết với chuỗi nhẹ của kháng thể ở phía đầu tận cùng C hoặc phía đầu tận cùng N của chuỗi nhẹ hoặc được liên kết với chuỗi nặng của kháng thể ở phía đầu tận cùng C hoặc phía đầu tận cùng N của chuỗi nặng.

15. Protein dung hợp theo điểm 13 hoặc 14, trong đó protein (A) khác này được liên kết, nhờ trình tự liên kết, với chuỗi nhẹ ở phía đầu tận cùng C hoặc phía đầu tận cùng N của chuỗi nhẹ hoặc với chuỗi nặng ở phía đầu tận cùng C hoặc phía đầu tận cùng N của chuỗi nặng.

16. Protein dung hợp theo điểm 15, trong đó trình tự liên kết bao gồm 1 đến 50 gốc axit amin.

17. Protein dung hợp theo điểm 15, trong đó trình tự liên kết chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm glyxin đơn lẻ, serin đơn lẻ, trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:3, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:4, trình tự axit amin như được nêu trong

SEQ ID NO:5, và trình tự axit amin bao gồm từ 1 đến 10 trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên mà được liên kết liên tiếp.

18. Protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 13 đến 17, trong đó protein (A) khác là protein có nguồn gốc từ người.

19. Protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 13 đến 18, trong đó protein (A) khác được chọn từ nhóm bao gồm yếu tố tăng trưởng thần kinh (nerve growth factor - NGF), enzym tiêu thể, yếu tố dinh dưỡng thần kinh mi (ciliary neurotrophic factor - CNTF), yếu tố dinh dưỡng thần kinh bắt nguồn từ dòng tế bào thần kinh đệm (glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), neurotrophin-3, neurotrophin-4/5, neurotrophin-6, neuregulin-1, erythropoietin, darbepoetin, activin, yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi cơ bản (basic fibroblast growth factor - bFGF), yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi 2 (fibroblast growth factor 2 - FGF2), yếu tố tăng trưởng biểu bì (epidermal growth factor - EGF), yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch (vascular endothelial growth factor - VEGF), interferon α, interferon β, interferon γ, interleukin 6, yếu tố kích thích tạo cụm bạch cầu hạt-đại thực bào (granulocyte-macrophage colony stimulating factor - GM-CSF), yếu tố kích thích tạo cụm bạch cầu hạt (granulocyte colony stimulating factor - G-CSF), yếu tố kích thích tạo cụm đại thực bào (macrophage colony stimulating factor - M-CSF), xytokin, thụ thể yếu tố hoại tử khối u α (thụ thể TNF-α), phối tử PD-1, enzym có hoạt tính phân giải β-amyloid, kháng thể kháng-β-amyloid, kháng thể kháng-BACE, kháng thể kháng-EGFR, kháng thể kháng-PD-1, kháng thể kháng-PD-L1, kháng thể kháng-HER2, kháng thể kháng-TNF-α, và các thuốc chứa kháng thể khác.

20. Protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 13 đến 18, trong đó protein (A) khác là enzym tiêu thể, và trong đó enzym tiêu thể này được chọn từ nhóm bao gồm α-L-iduronidaza, glucocerebrosidaza, β-galactosidaza, protein hoạt hóa GM2, β-hexosaminidaza A, β-hexosaminidaza B, N-axetylglucosamin-1-phosphotransferaza, α-mannosidaza, β-mannosidaza, galactosylxeramidaza, saposin C, arylsulfataza A, α-L-fucosidaza,

aspartylglucosaminidaza, α-N-axetylgalactosaminidaza, sphingomyelinaza axit, α-galactosidaza A, β-glucuronidaza, heparan N-sulfataza, α-N-axetylglucosaminidaza, axetyl CoA:α-glucosaminit N-axetyltransferaza, N-Axetylglucosamin-6-sulfat sulfataza, xeramidaza axit, amylo-1,6-glucosidaza, sialidaza, palmitoyl protein thioesteraza 1, tripeptidyl-peptidaza 1, hyaluronidaza 1, CLN1 và CLN2.

21. Đoạn ADN mã hóa tự axit amin của kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12.

22. Đoạn ADN mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 13 đến 20.

23. Vectơ biểu hiện bao gồm đoạn ADN theo điểm 21 hoặc 22.

24. Tế bào của động vật có vú được biến nạp bằng vectơ biểu hiện theo điểm 23.

25. Phức hợp kháng thể kháng-thụ thể transferrin người –hợp chất có hoạt tính dược dụng, trong đó chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng của kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12 được liên kết với hợp chất có hoạt tính dược dụng với phân tử lượng thấp cần được cho phép đi qua hàng rào máu não và thể hiện chức năng của hợp chất trong não.

26. Phức hợp theo điểm 25, trong đó hợp chất có hoạt tính dược dụng là hợp chất bất kỳ được chọn từ nhóm gồm thuốc chống ung thư, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh Alzheimer, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh Parkinson, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh Huntington, tác nhân trị liệu dùng cho chứng tâm thần phân liệt, thuốc chống trầm cảm, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh đa xơ cứng, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh xơ cứng teo cơ một bên, tác nhân trị liệu dùng cho khối u thuộc hệ thần kinh trung ương bao gồm khối u não, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh dự trữ lysosom đi kèm với bệnh não, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh tích tụ glycogen, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh loạn dưỡng cơ, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh thiếu mãu não cục bộ, tác nhân trị liệu dùng cho bệnh prion, tác nhân trị liệu dùng cho rối loạn hệ thần kinh trung ương do chấn thương, tác nhân trị liệu dùng cho các bệnh thuộc hệ thần kinh trung ương do

virus và vi khuẩn gây ra, dược phẩm được dùng để phục hồi sau phẫu thuật não, dược phẩm được dùng để phục hồi sau phẫu thuật cột sống, siARN, ADN đối nghĩa, và peptit.

27. Protein dung hợp chứa kháng thể được làm giống như của người kháng thụ thể transferrin người và trình tự axit amin của iduronat 2-sulfataza được liên kết với chuỗi nhẹ của kháng thể ở phía đầu tận cùng C hoặc phía đầu tận cùng N của chuỗi nhẹ, hoặc được liên kết với chuỗi nặng của kháng thể ở phía đầu tận cùng C hoặc phía đầu tận cùng N của chuỗi nặng, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ và vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được chọn từ (1) hoặc (2) dưới đây:

(1) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin có mức tương đồng về trình tự không thấp hơn 90% so với trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:191, và chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:16 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:18 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:20 làm CDR3; và

vùng biến đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có mức tương đồng về trình tự không thấp hơn 90% so với trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205, và chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:88 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:90 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:92 làm CDR3;

(2) vùng biến đổi của chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin có mức tương đồng về trình tự không thấp hơn 90% so với trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:191, và chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:16 làm CDR1, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:18 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:20 làm CDR3; và

vùng biến đổi của chuỗi nặng chứa trình tự axit amin có mức tương đồng về trình tự không thấp hơn 90% so với trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205, và chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:89 làm CDR1,

trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:90 làm CDR2, và trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:92 làm CDR3.

28. Protein dung hợp chứa kháng thể được làm giống như của người kháng thụ thể transferrin người và trình tự axit amin của iduronat 2-sulfataza, trong đó kháng thể này được chọn từ nhóm bao gồm (1) đến (4) dưới đây:

(1) kháng thể, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:191; và trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205,

(2) kháng thể, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:193; và trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205,

(3) kháng thể, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:194; và trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205, và

(4) kháng thể, trong đó vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:195; và trong đó vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:205.

29. Protein dung hợp chứa kháng thể được làm giống như của người kháng thụ thể transferrin người và trình tự axit amin của iduronat 2-sulfataza, trong đó kháng thể này được chọn từ nhóm bao gồm (1) đến (8) dưới đây:

(1) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:196; và trong đó chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210,

(2) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin

như được nêu trong SEQ ID NO:198; và trong đó chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210,

(3) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:200; và trong đó chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210,

(4) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:202; và trong đó chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210,

(5) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:196; và trong đó chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:212,

(6) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:198; và trong đó chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:212,

(7) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:200; và chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:212, và

(8) kháng thể, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:202; và trong đó chuỗi nặng của kháng thể này chứa trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:212.

30. Protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 27 đến 29, trong đó kháng thể có ái lực đối với cả vùng ngoại bào của thụ thể transferrin người và vùng ngoại bào của thụ thể transferrin khỉ.

31. Protein dung hợp theo điểm 30, trong đó hằng số phân ly của phức hợp của nó với vùng ngoại bào của thụ thể transferrin người không lớn hơn 1×10^{-8} M, và hằng số phân ly của phức hợp của nó với vùng ngoại bào của thụ thể transferrin khỉ không lớn hơn 5×10^{-8} M.

32. Protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 27 đến 31, trong đó kháng

thể là kháng thể Fab, kháng thể $F(ab')_2$, hoặc kháng thể F(ab').

33. Protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 27 đến 31, trong đó kháng thể là kháng thể chuỗi đơn được chọn từ nhóm gồm scFab, scF(ab'), $scF(ab')_2$ và scFv.

34. Protein dung hợp theo điểm 33, trong đó chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể được liên kết nhờ trình tự liên kết.

35. Protein dung hợp theo điểm 33, trong đó chuỗi nặng được liên kết, nhờ trình tự liên kết, với chuỗi nhẹ ở phía đầu tận cùng C của chuỗi nhẹ.

36. Protein dung hợp theo điểm 33, trong đó chuỗi nhẹ được liên kết, nhờ trình tự liên kết, với chuỗi nặng ở phía đầu tận cùng C của chuỗi nặng.

37. Protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 34 đến 36, trong đó trình tự liên kết gồm 8 đến 50 gốc axit amin.

38. Protein dung hợp theo điểm 37, trong đó trình tự liên kết được chọn từ nhóm bao gồm trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Gly, các trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, và SEQ ID NO:5, và trình tự axit amin bao gồm ba trình tự axit amin được liên kết liên tiếp, mỗi trình tự trong số ba trình tự này như được nêu trong SEQ ID NO:3.

39. Protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 27 đến 38, trong đó iduronat 2-sulfataza được liên kết, nhờ trình tự liên kết, với chuỗi nhẹ ở phía đầu tận cùng C hoặc phía đầu tận cùng N của chuỗi nhẹ hoặc với chuỗi nặng ở phía đầu tận cùng C hoặc phía đầu tận cùng N của chuỗi nặng.

40. Protein dung hợp theo điểm 39, trong đó trình tự liên kết bao gồm từ 1 đến 50 gốc axit amin.

41. Protein dung hợp theo điểm 39, trong đó trình tự liên kết chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm glyxin đơn lẻ, serin đơn lẻ, trình tự axit amin Gly-Ser, trình tự axit amin Gly-Gly-Ser, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:3, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:4, trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:5, và các trình tự axit amin bao gồm từ 1 đến 10 trình tự bất kỳ trong số các trình tự nêu trên mà được liên kết liên tiếp.

42. Protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 27 đến 41, trong đó iduronat 2-sulfataza là iduronat 2-sulfataza ở người.

43. Protein dung hợp theo điểm 42, trong đó chuỗi nhẹ của kháng thể có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:196, và trong đó chuỗi nặng của kháng thể được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của chuỗi nặng và nhờ trình tự liên kết Gly-Ser, với iduronat 2-sulfataza của người, và toàn bộ chuỗi nặng đã liên kết có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:251.

44. Protein dung hợp theo điểm 42, chứa: chuỗi nhẹ có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:196; và chuỗi nặng có trình tự axit amin như được nêu trong SEQ ID NO:210 mà được liên kết, ở phía đầu tận cùng C của chuỗi nặng và nhờ trình tự liên kết Gly-Ser, với iduronat 2-sulfataza của người như được nêu trong SEQ ID NO:246.

45. Protein dung hợp theo điểm 42, chứa: thể tiếp hợp chứa iduronat 2-sulfataza của người được liên kết nhờ trình tự liên kết Gly-Ser với chuỗi nặng ở phía đầu tận cùng C của chuỗi nặng; và chuỗi nhẹ, trong đó trình tự axit amin của thể tiếp hợp là như được nêu trong SEQ ID NO:251, và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ là như được nêu trong SEQ ID NO:196.

46. Đoạn ADN mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 27 đến 45.

47. Vectơ biểu hiện chứa đoạn ADN theo điểm 46.

48. Tế bào động vật có vú được biến nạp bằng vectơ biểu hiện theo điểm 47.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> JCR PHARMACEUTICALS CO., LTD.

<120> KHÁNG THỂ KHÁNG THỤ THỂ TRANSFERRIN NGƯỜI THẤM QUA HÀNG RÀO MÁU NÃO

<130> FP17-0775-00

<150> P2015-144379
<151> 2015-06-24

<160> 279

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 760
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Met Asp Gln Ala Arg Ser Ala Phe Ser Asn Leu Phe Gly Gly Glu
1 5 10 15

Pro Leu Ser Tyr Thr Arg Phe Ser Leu Ala Arg Gln Val Asp Gly Asp
20 25 30

Asn Ser His Val Glu Met Lys Leu Ala Val Asp Glu Glu Glu Asn Ala
35 40 45

Asp Asn Asn Thr Lys Ala Asn Val Thr Lys Pro Lys Arg Cys Ser Gly
50 55 60

Ser Ile Cys Tyr Gly Thr Ile Ala Val Ile Val Phe Phe Leu Ile Gly
65 70 75 80

Phe Met Ile Gly Tyr Leu Gly Tyr Cys Lys Gly Val Glu Pro Lys Thr
85 90 95

Glu Cys Glu Arg Leu Ala Gly Thr Glu Ser Pro Val Arg Glu Glu Pro
100 105 110

Gly Glu Asp Phe Pro Ala Ala Arg Arg Leu Tyr Trp Asp Asp Leu Lys
115 120 125

```
Arg Lys Leu Ser Glu Lys Leu Asp Ser Thr Asp Phe Thr Gly Thr Ile
    130                 135                 140

Lys Leu Leu Asn Glu Asn Ser Tyr Val Pro Arg Glu Ala Gly Ser Gln
145                 150                 155                 160

Lys Asp Glu Asn Leu Ala Leu Tyr Val Glu Asn Gln Phe Arg Glu Phe
                165                 170                 175

Lys Leu Ser Lys Val Trp Arg Asp Gln His Phe Val Lys Ile Gln Val
            180                 185                 190

Lys Asp Ser Ala Gln Asn Ser Val Ile Ile Val Asp Lys Asn Gly Arg
        195                 200                 205

Leu Val Tyr Leu Val Glu Asn Pro Gly Gly Tyr Val Ala Tyr Ser Lys
    210                 215                 220

Ala Ala Thr Val Thr Gly Lys Leu Val His Ala Asn Phe Gly Thr Lys
225                 230                 235                 240

Lys Asp Phe Glu Asp Leu Tyr Thr Pro Val Asn Gly Ser Ile Val Ile
                245                 250                 255

Val Arg Ala Gly Lys Ile Thr Phe Ala Glu Lys Val Ala Asn Ala Glu
            260                 265                 270

Ser Leu Asn Ala Ile Gly Val Leu Ile Tyr Met Asp Gln Thr Lys Phe
        275                 280                 285

Pro Ile Val Asn Ala Glu Leu Ser Phe Phe Gly His Ala His Leu Gly
    290                 295                 300

Thr Gly Asp Pro Tyr Thr Pro Gly Phe Pro Ser Phe Asn His Thr Gln
305                 310                 315                 320

Phe Pro Pro Ser Arg Ser Ser Gly Leu Pro Asn Ile Pro Val Gln Thr
                325                 330                 335
```

```
Ile Ser Arg Ala Ala Ala Glu Lys Leu Phe Gly Asn Met Glu Gly Asp
            340                 345                 350

Cys Pro Ser Asp Trp Lys Thr Asp Ser Thr Cys Arg Met Val Thr Ser
        355                 360                 365

Glu Ser Lys Asn Val Lys Leu Thr Val Ser Asn Val Leu Lys Glu Ile
    370                 375                 380

Lys Ile Leu Asn Ile Phe Gly Val Ile Lys Gly Phe Val Glu Pro Asp
385                 390                 395                 400

His Tyr Val Val Val Gly Ala Gln Arg Asp Ala Trp Gly Pro Gly Ala
                405                 410                 415

Ala Lys Ser Gly Val Gly Thr Ala Leu Leu Leu Lys Leu Ala Gln Met
            420                 425                 430

Phe Ser Asp Met Val Leu Lys Asp Gly Phe Gln Pro Ser Arg Ser Ile
        435                 440                 445

Ile Phe Ala Ser Trp Ser Ala Gly Asp Phe Gly Ser Val Gly Ala Thr
    450                 455                 460

Glu Trp Leu Glu Gly Tyr Leu Ser Ser Leu His Leu Lys Ala Phe Thr
465                 470                 475                 480

Tyr Ile Asn Leu Asp Lys Ala Val Leu Gly Thr Ser Asn Phe Lys Val
                485                 490                 495

Ser Ala Ser Pro Leu Leu Tyr Thr Leu Ile Glu Lys Thr Met Gln Asn
            500                 505                 510

Val Lys His Pro Val Thr Gly Gln Phe Leu Tyr Gln Asp Ser Asn Trp
        515                 520                 525

Ala Ser Lys Val Glu Lys Leu Thr Leu Asp Asn Ala Ala Phe Pro Phe
    530                 535                 540
```

Leu Ala Tyr Ser Gly Ile Pro Ala Val Ser Phe Cys Phe Cys Glu Asp
545 550 555 560

Thr Asp Tyr Pro Tyr Leu Gly Thr Thr Met Asp Thr Tyr Lys Glu Leu
565 570 575

Ile Glu Arg Ile Pro Glu Leu Asn Lys Val Ala Arg Ala Ala Ala Glu
580 585 590

Val Ala Gly Gln Phe Val Ile Lys Leu Thr His Asp Val Glu Leu Asn
595 600 605

Leu Asp Tyr Glu Arg Tyr Asn Ser Gln Leu Leu Ser Phe Val Arg Asp
610 615 620

Leu Asn Gln Tyr Arg Ala Asp Ile Lys Glu Met Gly Leu Ser Leu Gln
625 630 635 640

Trp Leu Tyr Ser Ala Arg Gly Asp Phe Phe Arg Ala Thr Ser Arg Leu
645 650 655

Thr Thr Asp Phe Gly Asn Ala Glu Lys Thr Asp Arg Phe Val Met Lys
660 665 670

Lys Leu Asn Asp Arg Val Met Arg Val Glu Tyr His Phe Leu Ser Pro
675 680 685

Tyr Val Ser Pro Lys Glu Ser Pro Phe Arg His Val Phe Trp Gly Ser
690 695 700

Gly Ser His Thr Leu Pro Ala Leu Leu Glu Asn Leu Lys Leu Arg Lys
705 710 715 720

Gln Asn Asn Gly Ala Phe Asn Glu Thr Leu Phe Arg Asn Gln Leu Ala
725 730 735

Leu Ala Thr Trp Thr Ile Gln Gly Ala Ala Asn Ala Leu Ser Gly Asp
740 745 750

Val Trp Asp Ile Asp Asn Glu Phe
755 760

<210> 2
<211> 760
<212> PRT
<213> Khỉ đuôi dài

<400> 2

Met Met Asp Gln Ala Arg Ser Ala Phe Ser Asn Leu Phe Gly Gly Glu
1 5 10 15

Pro Leu Ser Tyr Thr Arg Phe Ser Leu Ala Arg Gln Val Asp Gly Asp
20 25 30

Asn Ser His Val Glu Met Lys Leu Ala Val Asp Asp Glu Glu Asn Ala
35 40 45

Asp Asn Asn Thr Lys Ala Asn Gly Thr Lys Pro Lys Arg Cys Gly Gly
50 55 60

Asn Ile Cys Tyr Gly Thr Ile Ala Val Ile Ile Phe Phe Leu Ile Gly
65 70 75 80

Phe Met Ile Gly Tyr Leu Gly Tyr Cys Lys Gly Val Glu Pro Lys Thr
85 90 95

Glu Cys Glu Arg Leu Ala Gly Thr Glu Ser Pro Ala Arg Glu Glu Pro
100 105 110

Glu Glu Asp Phe Pro Ala Ala Pro Arg Leu Tyr Trp Asp Asp Leu Lys
115 120 125

Arg Lys Leu Ser Glu Lys Leu Asp Thr Thr Asp Phe Thr Ser Thr Ile
130 135 140

Lys Leu Leu Asn Glu Asn Leu Tyr Val Pro Arg Glu Ala Gly Ser Gln
145 150 155 160

Lys Asp Glu Asn Leu Ala Leu Tyr Ile Glu Asn Gln Phe Arg Glu Phe
165 170 175

Lys Leu Ser Lys Val Trp Arg Asp Gln His Phe Val Lys Ile Gln Val
180 185 190

Lys Asp Ser Ala Gln Asn Ser Val Ile Ile Val Asp Lys Asn Gly Gly
195 200 205

Leu Val Tyr Leu Val Glu Asn Pro Gly Gly Tyr Val Ala Tyr Ser Lys
210 215 220

Ala Ala Thr Val Thr Gly Lys Leu Val His Ala Asn Phe Gly Thr Lys
225 230 235 240

Lys Asp Phe Glu Asp Leu Asp Ser Pro Val Asn Gly Ser Ile Val Ile
245 250 255

Val Arg Ala Gly Lys Ile Thr Phe Ala Glu Lys Val Ala Asn Ala Glu
260 265 270

Ser Leu Asn Ala Ile Gly Val Leu Ile Tyr Met Asp Gln Thr Lys Phe
275 280 285

Pro Ile Val Lys Ala Asp Leu Ser Phe Phe Gly His Ala His Leu Gly
290 295 300

Thr Gly Asp Pro Tyr Thr Pro Gly Phe Pro Ser Phe Asn His Thr Gln
305 310 315 320

Phe Pro Pro Ser Gln Ser Ser Gly Leu Pro Asn Ile Pro Val Gln Thr
325 330 335

Ile Ser Arg Ala Ala Ala Glu Lys Leu Phe Gly Asn Met Glu Gly Asp
340 345 350

Cys Pro Ser Asp Trp Lys Thr Asp Ser Thr Cys Lys Met Val Thr Ser
355 360 365

```
Glu Asn Lys Ser Val Lys Leu Thr Val Ser Asn Val Leu Lys Glu Thr
    370                 375                 380

Lys Ile Leu Asn Ile Phe Gly Val Ile Lys Gly Phe Val Glu Pro Asp
385                 390                 395                 400

His Tyr Val Val Val Gly Ala Gln Arg Asp Ala Trp Gly Pro Gly Ala
                405                 410                 415

Ala Lys Ser Ser Val Gly Thr Ala Leu Leu Leu Lys Leu Ala Gln Met
            420                 425                 430

Phe Ser Asp Met Val Leu Lys Asp Gly Phe Gln Pro Ser Arg Ser Ile
        435                 440                 445

Ile Phe Ala Ser Trp Ser Ala Gly Asp Phe Gly Ser Val Gly Ala Thr
    450                 455                 460

Glu Trp Leu Glu Gly Tyr Leu Ser Ser Leu His Leu Lys Ala Phe Thr
465                 470                 475                 480

Tyr Ile Asn Leu Asp Lys Ala Val Leu Gly Thr Ser Asn Phe Lys Val
                485                 490                 495

Ser Ala Ser Pro Leu Leu Tyr Thr Leu Ile Glu Lys Thr Met Gln Asp
            500                 505                 510

Val Lys His Pro Val Thr Gly Arg Ser Leu Tyr Gln Asp Ser Asn Trp
        515                 520                 525

Ala Ser Lys Val Glu Lys Leu Thr Leu Asp Asn Ala Ala Phe Pro Phe
    530                 535                 540

Leu Ala Tyr Ser Gly Ile Pro Ala Val Ser Phe Cys Phe Cys Glu Asp
545                 550                 555                 560

Thr Asp Tyr Pro Tyr Leu Gly Thr Thr Met Asp Thr Tyr Lys Glu Leu
                565                 570                 575
```

```
Val Glu Arg Ile Pro Glu Leu Asn Lys Val Ala Arg Ala Ala Ala Glu
            580                 585                 590

Val Ala Gly Gln Phe Val Ile Lys Leu Thr His Asp Thr Glu Leu Asn
        595                 600                 605

Leu Asp Tyr Glu Arg Tyr Asn Ser Gln Leu Leu Leu Phe Leu Arg Asp
    610                 615                 620

Leu Asn Gln Tyr Arg Ala Asp Val Lys Glu Met Gly Leu Ser Leu Gln
625                 630                 635                 640

Trp Leu Tyr Ser Ala Arg Gly Asp Phe Phe Arg Ala Thr Ser Arg Leu
                645                 650                 655

Thr Thr Asp Phe Arg Asn Ala Glu Lys Arg Asp Lys Phe Val Met Lys
            660                 665                 670

Lys Leu Asn Asp Arg Val Met Arg Val Glu Tyr Tyr Phe Leu Ser Pro
        675                 680                 685

Tyr Val Ser Pro Lys Glu Ser Pro Phe Arg His Val Phe Trp Gly Ser
    690                 695                 700

Gly Ser His Thr Leu Ser Ala Leu Leu Glu Ser Leu Lys Leu Arg Arg
705                 710                 715                 720

Gln Asn Asn Ser Ala Phe Asn Glu Thr Leu Phe Arg Asn Gln Leu Ala
                725                 730                 735

Leu Ala Thr Trp Thr Ile Gln Gly Ala Ala Asn Ala Leu Ser Gly Asp
            740                 745                 750

Val Trp Asp Ile Asp Asn Glu Phe
        755                 760
```

<210> 3
<211> 5
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của đoạn liên kết 1 được nêu làm ví dụ

<400> 3

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 4
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của đoạn liên kết 2 được nêu làm ví dụ

<400> 4

Gly Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

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

<220>
<223> Trình tự axit amin của đoạn liên kết 3 được nêu làm ví dụ

<400> 5

Ser Gly Gly Gly Gly
1 5

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

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 1

<400> 6

Gln Asp Val Asn Ser Ala
1 5

<210> 7
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 1

<400> 7

Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Ser Ala Val Ala
1 5 10

<210> 8
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 1

<400> 8

Trp Thr Ser Thr Arg His
1 5

<210> 9
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 1

<400> 9

Trp Thr Ser Thr Arg His Thr
1 5

<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của CDR 3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 1

<400> 10

Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Arg Thr
1 5

<210> 11
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 2

<400> 11

Gln Ser Ile Ser Asn Asn
1 5

<210> 12
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 2

<400> 12

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn Leu Gln
1 5 10

<210> 13
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 2

<400> 13

Tyr Ala Ser Gln Ser Ile

1 5

<210> 14
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 2

<400> 14

Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser
1 5

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

<220>
<223> Trình tự axit amin của CDR 3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 2

<400> 15

Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Arg Thr
1 5

<210> 16
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 3

<400> 16

Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr
1 5 10

<210> 17
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 3

<400> 17

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

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

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 3

<400> 18

Lys Val Ser Asn Arg Phe
1 5

<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 3

<400> 19

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 20
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của CDR 3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 3

<400> 20

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 21
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 4

<400> 21

Ser Asn Val Asn Tyr
1 5

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

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 4

<400> 22

Ser Ala Ser Ser Asn Val Asn Tyr Met His
1 5 10

<210> 23
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 4

<400> 23

Asp Thr Ser Lys Leu Ala
1 5

<210> 24
<211> 7
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 4

<400> 24

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 25
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của CDR 3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 4

<400> 25

Phe Gln Gly Asn Gly Asn Pro Tyr Thr
1 5

<210> 26
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 5

<400> 26

Ser Ser Ile Ser Ser
1 5

<210> 27
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 5

<400> 27

Ser Ala Ser Ser Ser Ile Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 28
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 5

<400> 28

Asp Thr Ser Thr Leu Ala
1 5

<210> 29
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 5

<400> 29

Asp Thr Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 30
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của CDR 3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 5

<400> 30

His Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Thr
1 5

<210> 31
<211> 6

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 6

<400> 31

Gln Glu Ile Ser Gly Tyr
1 5

<210> 32
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 6

<400> 32

Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ser Gly Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 33
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 6

<400> 33

Ala Ala Ser Thr Leu Asp
1 5

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

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 6

<400> 34

Ala Ala Ser Thr Leu Asp Ser
1 5

<210> 35
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của CDR 3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 6

<400> 35

Leu Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Arg Thr
1 5

<210> 36
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 7

<400> 36

Ser Ser Val Asn Tyr
1 5

<210> 37
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 7

<400> 37

Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Ile His
1 5 10

<210> 38

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

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 7

<400> 38

Gln Thr Ser Asn Leu Ala
1 5

<210> 39
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 7

<400> 39

Gln Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 40
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của CDR 3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 7

<400> 40

His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 41
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 8

<400> 41

Ser Ser Val Ser Tyr
1 5

<210> 42
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 8

<400> 42

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
1 5 10

<210> 43
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 8

<400> 43

Gly Thr Ser Asn Leu Ala
1 5

<210> 44
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 8

<400> 44

Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

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

<220>
<223> Trình tự axit amin của CDR 3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 8

<400> 45

His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 46
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 9

<400> 46

Ser Ser Val Ser Leu
1 5

<210> 47
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 9

<400> 47

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Leu Met Phe
1 5 10

<210> 48
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 9

<400> 48

Phe Thr Ser Tyr Arg Ala
1 5

<210> 49
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 9

<400> 49

Phe Thr Ser Tyr Arg Ala Ser
1 5

<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của CDR 3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 9

<400> 50

Gln Gln Trp Thr Ser Asp Pro Pro Thr
1 5

<210> 51
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 10

<400> 51

Gln Glu Ile Ser Gly Tyr
1 5

<210> 52
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 10

<400> 52

Arg Pro Ser Gln Glu Ile Ser Gly Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 53
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 10

<400> 53

Ala Ala Ser Thr Leu Asp
1 5

<210> 54
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 10

<400> 54

Ala Ala Ser Thr Leu Asp Ser
1 5

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của CDR 3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 10

<400> 55

Leu Gln Tyr Ala Ser Tyr Pro Arg Thr
1 5

<210> 56
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 11

<400> 56

Gln Ser Ile Arg Asn Tyr
1 5

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

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 11

<400> 57

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Tyr Leu His
1 5 10

<210> 58
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 11

<400> 58

Tyr Ala Ser Gln Ser Ile

1 5

<210> 59
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 11

<400> 59

Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser
1 5

<210> 60
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của CDR 3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 11

<400> 60

Gln Gln Thr Asn Ser Trp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 61
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 12

<400> 61

His Asp Val Lys Thr Ala
1 5

<210> 62
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 12

<400> 62

Lys Ala Ser His Asp Val Lys Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 63
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 12

<400> 63

Trp Ser Ser Thr Arg His
1 5

<210> 64
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 12

<400> 64

Trp Ser Ser Thr Arg His Thr
1 5

<210> 65
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của CDR 3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 12

<400> 65

Gln Gln His Phe Ser Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 66
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 13

<400> 66

Gln Ser Ile Arg Asn Tyr
1 5

<210> 67
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 13

<400> 67

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Tyr Leu His
1 5 10

<210> 68
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 13

<400> 68

Tyr Ala Ser Gln Ser Ile
1 5

<210> 69
<211> 7
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 13

<400> 69

Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser
1 5

<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của CDR 3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 13

<400> 70

Gln Gln Thr Asn Ser Trp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 71
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 14

<400> 71

Ser Asn Ile Asn Ser
1 5

<210> 72
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 14

<400> 72

Ser Ala Ser Ser Asn Ile Asn Ser Ile His
1 5 10

<210> 73
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 14

<400> 73

Asp Thr Ser Asn Leu Ala
1 5

<210> 74
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 14

<400> 74

Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 75
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của CDR 3 trong chuỗi nhẹ của kháng thể chuột kháng hTfR số 14

<400> 75

His Gln Arg Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 76
<211> 5

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 1

<400> 76

Asn Tyr Gly Met Ser
1 5

<210> 77
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 1

<400> 77

Gly Leu Thr Phe Ser Asn Tyr Gly
1 5

<210> 78
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 1

<400> 78

Ile Asn Thr Asn Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 79
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 1

<400> 79

Asn Ile Asn Thr Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 80
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 1

<400> 80

Asn Arg Tyr Asp Glu Asp Tyr
1 5

<210> 81
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 1

<400> 81

Thr Asn Asn Arg Tyr Asp Glu Asp Tyr
1 5

<210> 82
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 2

<400> 82

Asp Tyr Val Met His

1 5

<210> 83
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 2

<400> 83

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Val
1 5

<210> 84
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 2

<400> 84

Ile Ser Thr Tyr Tyr Gly His Gly
1 5

<210> 85
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 2

<400> 85

Val Ile Ser Thr Tyr Tyr Gly His Gly Ser Tyr Asn Gln Arg Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 86
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 2

<400> 86

Gly Gly Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Gly Asn Phe Asp Val
1 5 10

<210> 87
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 2

<400> 87

Val Arg Gly Gly Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Gly Asn Phe Asp Val
1 5 10 15

<210> 88
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 3

<400> 88

Asn Tyr Trp Leu Gly
1 5

<210> 89
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 3

<400> 89

Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Trp
1 5

<210> 90
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 3

<400> 90

Ile Tyr Pro Gly Gly Asp Tyr Pro
1 5

<210> 91
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 3

<400> 91

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

Val

<210> 92
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 3

<400> 92

Ser Gly Asn Tyr Asp Glu Val Ala Tyr
1 5

<210> 93
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 3

<400> 93

Ala Arg Ser Gly Asn Tyr Asp Glu Val Ala Tyr
1 5 10

<210> 94
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 4

<400> 94

Asn Tyr Leu Ile Glu
1 5

<210> 95
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 4

<400> 95

Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Leu
1 5

<210> 96

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

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 4

<400> 96

Ile Asn Pro Gly Ser Gly Gly Ile
1 5

<210> 97
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 4

<400> 97

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

<210> 98
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 4

<400> 98

Ser Asn Tyr Tyr Gly Thr Thr Tyr Trp His Phe Asp Val
1 5 10

<210> 99
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 4

<400> 99

Ala Arg Ser Asn Tyr Tyr Gly Thr Thr Tyr Trp His Phe Asp Val
1 5 10 15

<210> 100
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 5

<400> 100

Asn Phe Val Ile His
1 5

<210> 101
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 5

<400> 101

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Phe Val
1 5

<210> 102
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 5

<400> 102

Phe Asn Pro His Lys Asn Gly Ala
1 5

<210> 103
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 5

<400> 103

Phe Asn Pro His Lys Asn Gly Ala Glu Tyr Asn Glu Lys Phe Gln Val
1 5 10 15

<210> 104
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 5

<400> 104

Ser Phe Tyr Tyr Tyr Ser Met Asp Tyr
1 5

<210> 105
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 5

<400> 105

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

<210> 106
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 6

<400> 106

Thr Tyr Gly Val Tyr
1 5

<210> 107
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 6

<400> 107

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr Gly
1 5

<210> 108
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 6

<400> 108

Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr
1 5

<210> 109
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 6

<400> 109

Pro Asp Asp Val
1

<210> 110
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 6

<400> 110

Ala Lys Pro Asp Asp Val
1 5

<210> 111
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 7

<400> 111

Asn Tyr Phe Met Ser
1 5

<210> 112
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 7

<400> 112

Gly Ile Thr Phe Arg Asn Tyr Phe
1 5

<210> 113
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 7

<400> 113

Ile Ser Ser Ala Gly Gly Tyr Thr
1 5

<210> 114
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 7

<400> 114

Ile Ser Ser Ala Gly Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 115
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 7

<400> 115

Gln Glu Val Pro Tyr Pro Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 116
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 7

<400> 116

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

1 5 10

<210> 117
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 8

<400> 117

Thr Tyr Gly Val Ser
1 5

<210> 118
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 8

<400> 118

Gly Phe Ser Leu Thr Thr Tyr Gly
1 5

<210> 119
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 8

<400> 119

Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr
1 5

<210> 120
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 8

<400> 120

Pro Asp Asp Tyr
1

<210> 121
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 8

<400> 121

Ala Lys Pro Asp Asp Tyr
1 5

<210> 122
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 9

<400> 122

Asn Tyr Gly Val Ser
1 5

<210> 123
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 9

<400> 123

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly
1 5

<210> 124
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 9

<400> 124

Ile Tyr Thr Phe Thr Gly Glu Ala
1 5

<210> 125
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 9

<400> 125

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

<210> 126
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 9

<400> 126

Arg Asn Gly Ala Trp Phe Glu Asp
1 5

<210> 127
<211> 10
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 9

<400> 127

Ser Arg Arg Asn Gly Ala Trp Phe Glu Asp
1 5 10

<210> 128
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 10

<400> 128

Asn Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 129
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 10

<400> 129

Gly Ile Thr Phe Arg Asn Tyr Ala
1 5

<210> 130
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 10

<400> 130

Ile Ser Ser Tyr Gly Gly Tyr Thr
1 5

<210> 131
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 10

<400> 131

Ile Ser Ser Tyr Gly Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 132
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 10

<400> 132

Gln Glu Val Pro Tyr Pro Tyr Pro Met Asp Asn
1 5 10

<210> 133
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 10

<400> 133

Ala Arg Gln Glu Val Pro Tyr Pro Tyr Pro Met Asp Asn
1 5 10

<210> 134
<211> 5

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 11

<400> 134

Ile Tyr Trp Ile Asn
1 5

<210> 135
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 11

<400> 135

Gly Tyr Ala Phe Ser Ile Tyr Trp
1 5

<210> 136
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 11

<400> 136

Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr
1 5

<210> 137
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 11

<400> 137

Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly
1 5 10 15

<210> 138
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 11

<400> 138

Trp Gly Asp Asp Tyr Ala Met Asp Phe
1 5

<210> 139
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 11

<400> 139

Gly Arg Trp Gly Asp Asp Tyr Ala Met Asp Phe
1 5 10

<210> 140
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 12

<400> 140

Asn Tyr Leu Ile Glu
1 5

<210> 141

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

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 12

<400> 141

Gly Tyr Val Phe Ile Asn Tyr Leu
1 5

<210> 142
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 12

<400> 142

Ile His Ser Gly Ser Gly Gly Thr
1 5

<210> 143
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 12

<400> 143

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

<210> 144
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 12

<400> 144

Arg Asn Phe Gly Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 145
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 12

<400> 145

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

<210> 146
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 13

<400> 146

Ile Tyr Trp Ile Asn
1 5

<210> 147
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 13

<400> 147

Gly Tyr Ala Phe Ser Ile Tyr Trp
1 5

<210> 148
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 13

<400> 148

Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr
1 5

<210> 149
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 13

<400> 149

Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly
1 5 10 15

<210> 150
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 13

<400> 150

Trp Gly Asp Asp Tyr Ala Met Asp Phe
1 5

<210> 151
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 13

<400> 151

Gly Arg Trp Gly Asp Asp Tyr Ala Met Asp Phe
1 5 10

<210> 152
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 14

<400> 152

Gly Tyr Val Ile His
1 5

<210> 153
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 1 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 14

<400> 153

Gly Tyr Ala Phe Thr Gly Tyr Val
1 5

<210> 154
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 14

<400> 154

Leu Asn Pro His Lys Asp Asp Ser
1 5

<210> 155
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 14

<400> 155

Leu Asn Pro His Lys Asp Asp Ser Glu Tyr Asn Glu Lys Phe Arg Gly
1 5 10 15

<210> 156
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 14

<400> 156

Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Ser Met Asp Tyr
1 5

<210> 157
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 3 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 14

<400> 157

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

<210> 158
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

<400> 158

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

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

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Arg
85 90 95

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

<210> 159
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

<400> 159

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 Asp Val Asn Ser Ala
20 25 30

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

Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Arg
85 90 95

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

<210> 160
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 3 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

<400> 160

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

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

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Arg
85 90 95

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

<210> 161
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 4 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

<400> 161

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 Asp Val Asn Ser Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His 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 Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Arg
85 90 95

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

<210> 162
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 5 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

<400> 162

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 Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Ser Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His 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 Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Arg
85 90 95

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

<210> 163
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 6 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

<400> 163

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 Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Ser Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His 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 Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Arg
85 90 95

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

<210> 164
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi

<400> 164

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

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

Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Val Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

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

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 165
<211> 725
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

<400> 165
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgacatcca ggtcacacag tcaccaagtt ttctgagcgc aagcgtgggc 120

gacagggtca ctatcacatg caaggcaagc caggacgtga actccgcagt ggcctggttc 180

cagcagaagc cagggaaagc acccaagctg ctgatctatt ggacctctac aaggcacacc 240

ggtgtcccag atcggttctc aggttccggc agcggaacag tgtatactct gaccatttcc 300

agcctgcagc ctgaagactt cgctacttac tattgccagc agcattactc caccccaaga 360

acatttggcg gagggactaa agtggagatc aagaggaccg tggccgctcc ctccgtcttc 420

atttttcccc ctagcgacga acagctgaag agtggcacag cctcagtggt ctgtctgctg 480

aacaatttct accctaggga ggctaaagtg cagtggaagg tcgataacgc actgcagtct 540

ggaaatagtc aggagtcagt gacagaacag gactccaaag atagcactta ttctctgtct 600

agtacactga ctctgagcaa ggccgattac gaaaagcaca aagtgtatgc ttgcgaagtc 660

acccatcagg ggctgtcatc accagtcacc aagtcattca atagaggcga gtgctaagcg 720

gccgc 725

<210> 166
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

<400> 166

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

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

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

Ser Asn Ile Asn Thr Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 167
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

<400> 167

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

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

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

Ser Asn Ile Asn Thr Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 168
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 3 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

<400> 168

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

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

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

Ser Asn Ile Asn Thr Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Val Lys Asn Arg Tyr Asp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 169
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 4 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

<400> 169

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

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

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

Ala Asn Ile Asn Thr Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 170
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 5 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

<400> 170

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

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

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

Ser Asn Ile Asn Thr Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 171
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 6 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1

<400> 171

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 Leu Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Ala Asn Ile Asn Thr Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 172
<211> 446
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi

<400> 172

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 Leu Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Ala Asn Ile Asn Thr Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

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

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

85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

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

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

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

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

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

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

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

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

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

<210> 173
<211> 1421
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 1 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

<400> 173
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgaagtgca gctggtcgaa tcaggggggg ggctggtgca gcctggaggc 120

agcctgagac tgtcctgcgc cgcttctggc ttgaccttta gcaactacgg gatgtcctgg 180

gtgcggcagg ctcctggcaa gggactggag ttggtggcca acatcaatac caacggcgga 240

agtacatact atcccgattc agtgaagggc cggttcacca tcagcaggga caacgccaag 300

aacagcctgt atctgcagat gaactctctg agggccgagg atacagccgt gtactattgc 360

actaacaacc ggtacgacga ggactattgg ggccagggca ccctggtgac agtgtctagc 420

gcctctacca agggcccaag cgtgtttcct ctggctccat cctctaaatc cacctctggc 480

ggcacagccg ctctgggctg tctggtgaag gattacttcc cagagcccgt gacagtgtct 540

tggaacagcg gcgccctgac ctccggcgtg cacacatttc ctgctgtgct gcagagctcc 600

ggcctgtaca gcctgtctag cgtggtgacc gtgccatcct ctagcctggg cacccagaca 660

tatatctgca acgtgaatca caagcccagc aatacaaagg tggataagaa ggtggagcca 720

aagtcctgtg acaagaccca cacatgcccc ccttgtcctg ctccagagct gctgggagga 780

ccaagcgtgt tcctgtttcc acccaagccc aaggataccc tgatgatctc tcggacccca 840

gaggtgacat gcgtggtggt ggatgtgagc cacgaggacc ccgaggtgaa gttcaactgg 900

tatgtggacg gcgtggaggt gcacaatgct aagaccaagc ccagggagga gcagtacaac 960

tccacctata gagtggtgtc tgtgctgaca gtgctgcacc aggattggct gaacggcaag 1020

gagtataagt gcaaggtgtc caataaggcc ctgcccgctc ctatcgagaa gaccatctct 1080

aaggccaagg gccagcccag agagcctcag gtgtacacac tgcctccatc ccgggatgag 1140

ctgaccaaga accaggtgtc tctgacatgt ctggtcaagg gcttctatcc ctctgacatc 1200

gccgtggagt gggagagcaa tggccagcct gagaacaatt acaagaccac acccccctgtg 1260

ctggattccg acggctcttt ctttctgtat agcaagctga ccgtggacaa gtcccggtgg 1320

cagcagggca acgtgttcag ctgttccgtg atgcacgaag ctctgcataa tcactatact 1380

cagaaatccc tgtcactgtc acctggtaaa taagcggccg c 1421

<210> 174
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

<400> 174

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

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

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

Tyr Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 175
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

<400> 175

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

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

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

Tyr Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Arg
85 90 95

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

<210> 176
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 3 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

<400> 176

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn
20 25 30

Leu Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Arg
85 90 95

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

<210> 177
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 4 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

<400> 177

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

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

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

Tyr Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Arg
85 90 95

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

<210> 178
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 5 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

<400> 178

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

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

Leu Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

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

<210> 179
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 6 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

<400> 179

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn
20 25 30

Leu Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

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

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

<210> 180
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi

<400> 180

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn
20 25 30

Leu Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gln 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> 181
<211> 725
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

<400> 181
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgaaattgt gctgacccag tctcccgatt tccagtccgt gacccccaag 120

gagaaagtca ccatcacatg cagagcatca cagtccatta gcaacaatct gcagtggtac 180

cagcagaagc cagaccagag ccccaagctg ctgatcaaat atgcctctca gagtatttca 240

ggcatacctt ctaggttctc cggtagcggc tctggaaccg actttactct gaccatcaac 300

agtctggagg ctgaagatgc cgctacatac ttgtgccagc agagtaattc atggcctagg 360

acctttggcc aggggacaaa ggtggagatc aaaaggactg tggcagcccc aagtgtcttc 420

atttttcccc cttcagacga acagctgaag agcggcacag catctgtggt ctgtctgctg 480

aacaatttct acccacggga ggctaaggtg cagtggaaag tcgataacgc actgcagtcc 540

ggaaatagcc aggagtctgt gactgaacag gacagtaagg attcaaccta ttccctgtcc 600

agcacactga ctctgagcaa agccgattac gagaagcaca aagtgtatgc ttgcgaagtc 660

acacatcagg ggctgtctag tcccgtgact aagtctttta ataggggtga atgttaagcg 720

gccgc 725

<210> 182
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

<400> 182

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 Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Ser Thr Tyr Tyr Gly His Gly Ser Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Gly Asn Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
115 120

<210> 183
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

<400> 183

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 Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Ser Thr Tyr Tyr Gly His Gly Ser Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Gly Asn Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
115 120

<210> 184
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 3 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

<400> 184

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 Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Ser Thr Tyr Tyr Gly His Gly Ser Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60

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

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

Ala Ser Gly Gly Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Gly Asn Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
115 120

<210> 185
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 4 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

<400> 185

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 Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Ser Thr Tyr Tyr Gly His Gly Ser Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Gly Asn Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
115 120

<210> 186
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 5 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

<400> 186

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

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

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

Gly Val Ile Ser Thr Tyr Tyr Gly His Gly Ser Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Gly Asn Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr
115 120

<210> 187
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 6 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2

<400> 187

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 Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Ser Thr Tyr Tyr Gly His Gly Ser Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60

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

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

Val Arg Gly Gly Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Gly Asn Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr
115 120

<210> 188
<211> 453
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi

<400> 188

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 Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Ser Thr Tyr Tyr Gly His Gly Ser Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60

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

Met Glu Leu Val Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Arg Gly Gly Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Gly Asn Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

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

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

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

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

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

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

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
225 230 235 240

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

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

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser

290 295 300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
325 330 335

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

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

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

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

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

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 189
<211> 1442
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 2 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

<400> 189
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gccaggtgca gctggtccag tcaggagccg aagtgaaaaa gcccggagcc 120

tcagtcaaag tgtcttgtaa agcatcaggt tatacattta cagactacgt catgcactgg 180

gtgaggcagg cacctggaca gggtctggaa tggatcggcg tgatctccac ttactatggc 240

catggaagct acaaccagag attcaagggc agggcgacaa tgactgtaga caaatcaatt 300

tccactgctt atatggagct ggtaaggctg cggtccgacg ataccgctgt gtactattgc 360

gtacgaggag gatacggctc cagctctctg gctggtaatt tcgatgtgtg ggggcagggt 420

accacagtca ccgtgagttc agcaagcaca aagggcccat ctgtgtttcc actggccccc 480

tccagcaaaa gcacctctgg gggtacagcc gctctgggat gtctggtgaa ggattatttc 540

ccagagccag tcaccgtgtc ctggaacagc ggagccctga catctggagt ccacactttt 600

ccagctgtgc tgcagtctag tgggctgtac tccctgtcat ccgtggtcac tgtccccagc 660

tctagtctgg gtacccagac atatatctgc aacgtgaatc acaagccatc taataccaaa 720

gtcgacaaga aagtggaacc caagtcctgt gataaaactc atacctgccc cccttgtcct 780

gcaccagagc tgctgggagg accatccgtg ttcctgtttc cacccaagcc taaagacacc 840

ctgatgatta gccgaactcc cgaagtcacc tgcgtggtcg tggacgtgtc tcacgaggac 900

cctgaagtca agtttaactg gtacgtggat ggcgtcgagg tgcataatgc taagacaaaa 960

ccccgagagg aacagtacaa cagtacatat cgtgtcgtgt cagtgctgac cgtcctgcat 1020

caggactggc tgaacgggaa ggaatataag tgcaaagtgt ccaataaggc actgcccgcc 1080

cctatcgaga aaaccattag caaggccaaa ggacagccta gggaaccaca ggtgtacaca 1140

ctgcctccat cccgggacga gctgactaag aaccaggtca gcctgacctg tctggtgaaa 1200

ggcttctatc cttcagatat cgctgtggag tgggaaagta atggacagcc agagaacaat 1260

tacaagacta ccccccctgt gctggactct gatgggagtt tctttctgta ttctaagctg 1320

accgtggata aaagtcggtg gcagcagggt aatgtcttta gttgttcagt gatgcacgaa 1380

gcactgcaca accactacac ccagaaatca ctgtcactgt caccagggaa ataagcggcc 1440

gc 1442

<210> 190
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

<400> 190

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys 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 Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 191
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

<400> 191

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 Val His Ser
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys 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 Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 192
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 3 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

<400> 192

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro
35 40 45

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala 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 Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 193
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 4 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

<400> 193

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys 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 Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 194
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 5 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

<400> 194

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys 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 Ser Gln Ser
85 90 95

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

<210> 195
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 6 của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

<400> 195

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 Val His Ser
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys 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 Phe Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 196
<211> 219
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 2 làm vùng biến đổi

<400> 196

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 Val His Ser
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys 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 Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val 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> 197
<211> 740
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 2 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

<400> 197
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgacatcgt gatgacccag actcccctga gcctgagcgt gacacctggc 120

cagcctgcca gcatcagctg cagaagctct cagagcctgg tgcacagcaa cggcaacacc 180

tacctgcact ggtatctgca gaagcccggc cagagccctc agctgctgat ctacaaggtg 240

tccaacagat tcagcggcgt gcccgacaga ttctccggca gcggctctgg caccgacttc 300

accctgaaga tttccagagt ggaagccgag gacgtgggcg tgtactactg cagccagagc 360

acccacgtgc cctggacatt cggccagggc accaaggtgg aaatcaagag aaccgtggcc 420

gctcccagcg tgttcatctt cccacctagc gacgagcagc tgaagtccgg cacagcctct 480

gtcgtgtgcc tgctgaacaa cttctacccc cgcgaggcca aggtgcagtg gaaggtggac 540

aacgccctgc agagcggcaa cagccaggaa agcgtgaccg agcaggactc caaggacagc 600

acctacagcc tgagcagcac cctgaccctg agcaaggccg actacgagaa gcacaaggtg 660

tacgcctgcg aagtgaccca ccagggcctg tctagccccg tgaccaagag cttcaacaga 720

ggcgagtgct aagcggccgc 740

<210> 198
<211> 219
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 4 làm vùng biến đổi

<400> 198

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys 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 Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val 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> 199
<211> 740
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 4 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

<400> 199
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgacatcgt gatgacccag agccccctga gcctgcctgt gacacctggc 120

gagcctgcca gcatcagctg cagatctagc cagagcctgg tgcacagcaa cggcaacacc 180

tacctgcact ggtatctgca gaagcccggc cagagccctc agctgctgat ctacaaggtg 240

tccaacagat tcagcggcgt gcccgacaga ttctccggca gcggctctgg caccgacttc 300

accctgaaga tctccagagt ggaagccgag gacgtgggcg tgtactactg cagccagagc 360

acccacgtgc cctggacatt cggccagggc accaaggtgg aaatcaagag aaccgtggcc 420

gctcccagcg tgttcatctt cccacctagc gacgagcagc tgaagtccgg cacagcctct 480

gtcgtgtgcc tgctgaacaa cttctacccc cgcgaggcca aggtgcagtg gaaggtggac 540

aacgccctgc agagcggcaa cagccaggaa agcgtgaccg agcaggactc caaggacagc 600

acctacagcc tgagcagcac cctgaccctg agcaaggccg actacgagaa gcacaaggtg 660

tacgcctgcg aagtgaccca ccagggcctg tctagccccg tgaccaagag cttcaacaga 720

ggcgagtgct aagcggccgc 740

<210> 200
<211> 219
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 5 làm vùng biến đổi

<400> 200

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys 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 Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg 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> 201
<211> 740
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 5 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

<400> 201
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgacatcgt gatgacccag acacccctga gcctgcctgt gacacctggc 120

gagcctgcca gcatcagctg cagatctagc cagagcctgg tgcacagcaa cggcaacacc 180

tacctgcact ggtatctgca gaagcccggc cagagccctc agctgctgat ctacaaggtg 240

tccaacagat tcagcggcgt gcccgacaga ttctccggca gcggctctgg caccgacttc 300

accctgaaga tctccagagt ggaagccgag gacgtgggcg tgtactactg cagccagagc 360

acccacgtgc cctggacatt cggccagggc accaggctgg aaatcaagag aaccgtggcc 420

gctcccagcg tgttcatctt cccacctagc gacgagcagc tgaagtccgg cacagcctct 480

gtcgtgtgcc tgctgaacaa cttctacccc cgcgaggcca aggtgcagtg gaaggtggac 540

aacgccctgc agagcggcaa cagccaggaa agcgtgaccg agcaggactc caaggacagc 600

acctacagcc tgagcagcac cctgaccctg agcaaggccg actacgagaa gcacaaggtg 660

tacgcctgcg aagtgaccca ccagggcctg tctagccccg tgaccaagag cttcaacaga 720

ggcgagtgct aagcggccgc 740

<210> 202
<211> 219
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi

<400> 202

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 Val His Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys 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 Phe Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val 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> 203
<211> 740
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 6 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

<400> 203
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgacatcgt gatgacccag actcccctga gcctgagcgt gacacctggc 120

cagcctgcca gcatcagctg cagatccagc cagagcctgg tgcacagcaa cggcaacacc 180

tacctgcact ggtatctgca gaagcccggc cagagccctc agctgctgat ctacaaggtg 240

tccaacagat tcagcggcgt gcccgacaga ttctccggca gcggctctgg caccgacttc 300

accctgaaga tttccagagt ggaagccgag gacgtgggcg tgttcttctg cagccagagc 360

acccacgtgc cctggacatt cggccagggc accaaggtgg aaatcaagag aaccgtggcc 420

gctcccagcg tgttcatctt cccacctagc gacgagcagc tgaagtccgg cacagcctct 480

gtcgtgtgcc tgctgaacaa cttctacccc cgcgaggcca aggtgcagtg gaaggtggac 540

aacgccctgc agagcggcaa cagccaggaa agcgtgaccg agcaggactc caaggacagc 600

acctacagcc tgagcagcac cctgaccctg agcaaggccg actacgagaa gcacaaggtg 660

tacgcctgcg aagtgaccca ccagggcctg tctagccccg tgaccaagag cttcaacaga 720

ggcgagtgct aagcggccgc 740

<210> 204
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 1 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

<400> 204

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

Lys Val Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 205
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

<400> 205

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

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

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

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

Lys Val Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 206
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 3 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

<400> 206

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

Lys Val Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 207
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 4 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

<400> 207

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 Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 208
<211> 118
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 5 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

<400> 208

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

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

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

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

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

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

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

Val Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 209
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 6 của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3

<400> 209

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Met Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys
85 90 95

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 210
<211> 448
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 2 làm vùng biến đổi

<400> 210

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

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

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

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

```
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
            260                 265                 270

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

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

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
                325                 330                 335

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

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

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

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

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

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

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

<210> 211
<211> 1427

<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nặng của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 2 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

<400> 211
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgaggtgca actagtgcag tctggagcag aggtgaaaaa gcccggggag 120

tctctgaaga tttcctgtaa gggttctgga tacagcttta ccaactactg gctgggatgg 180

gtgcgccaga tgcccgggaa aggcctggag tggatggggg acatctaccc cggcggagac 240

taccctacat acagcgagaa gttcaaggtc caggtcacca tctcagccga caagtccatc 300

agcaccgcct acctgcagtg gagcagcctg aaggcctcgg acaccgccat gtattactgt 360

gcgagatcag gcaattacga cgaagtggcc tactggggcc aaggaaccct ggtcaccgtc 420

tcctcagcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg caccctcctc caagagcacc 480

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 540

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 600

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 660

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt 720

gagcccaaat cttgtgacaa aactcacacg tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 780

ggaggtccgt cagtcttcct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 840

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 900

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 960

tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1020

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1080

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1140

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1200

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1260

cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1320

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1380

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaataag cggccgc 1427

<210> 212
<211> 445
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của chuỗi nặng (IgG4) của humanized kháng thể kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 2 làm vùng biến đổi

<400> 212

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

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

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

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
                325                 330                 335

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

Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365

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

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

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

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

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

<210> 213
<211> 1418
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nặng (IgG4) của kháng thể được làm giống như của người kháng hTfR số 3 chứa trình tự axit amin 2 làm vùng biến đổi, trình tự tổng hợp

<400> 213
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgaggtgca actagtgcag tctggagcag aggtgaaaaa gcccggggag 120

tctctgaaga tttcctgtaa gggttctgga tacagcttta ccaactactg gctgggatgg 180

gtgcgccaga tgcccgggaa aggcctggag tggatggggg acatctaccc cggcggagac 240

taccctacat acagcgagaa gttcaaggtc caggtcacca tctcagccga caagtccatc 300

agcaccgcct acctgcagtg gagcagcctg aaggcctcgg acaccgccat gtattactgt 360

gcgagatcag gcaattacga cgaagtggcc tactggggcc aaggaaccct ggtcaccgtc 420

tcctcagcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg cgccctgctc caggagcacc 480

tccgagagca cagccgccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 540

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 600

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacg 660

aagacctaca cctgcaacgt agatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt 720

gagtccaaat atggtccccc atgcccacca tgcccagcac ctgagttcct gggggggtcca 780

tcagtcttcc tgttcccccc aaaacccaag gacactctca tgatctcccg gacccctgag 840

gtcacgtgcg tggtggtgga cgtgagccag gaagaccccg aggtccagtt caactggtac 900

gtggatggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gttcaacagc 960

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa cggcaaggag 1020

tacaagtgca aggtctccaa caaaggcctc ccgtcctcca tcgagaaaac catctccaaa 1080

gccaaagggc agccccgaga gccacaggtg tacaccctgc ccccatccca ggaggagatg 1140

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctaccccag cgacatcgcc 1200

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1260

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aggctcaccg tggacaagag caggtggcag 1320

gaggggaatg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacacag 1380

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaataa gcggccgc 1418

<210> 214
<211> 43
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn mồi hTfR5', trình tự tổng hợp

<400> 214
ccgacgcgtc gccaccatga tggatcaagc tagatcagca ttc 43

<210> 215
<211> 59
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn mồi hTfR3', trình tự tổng hợp

<400> 215
ataatgcggc cgcttaatga tgatgatgat gatgaaactc attgtcaatg tcccaaacg 59

<210> 216
<211> 20
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn mồi Hyg-Sfi5', trình tự tổng hợp

<400> 216
gaggccgcct cggcctctga 20

<210> 217
<211> 29
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn mồi Hyg-BstX3', trình tự tổng hợp

<400> 217
aaccatcgtg atgggtgcta ttcctttgc 29

<210> 218
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 1

<400> 218

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Ser Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

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

Val Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Thr Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 219
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 1

<400> 219

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

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

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

Ala Asn Ile Asn Thr Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Thr Asn Asn Arg Tyr Asp Glu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 220
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 2

<400> 220

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

Asp Ser Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn
20 25 30

Leu Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Thr
65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Met Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100 105

<210> 221
<211> 123
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 2

<400> 221

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

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

Val Met His Trp Val Arg Gln Ser His Ala Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Ser Thr Tyr Tyr Gly His Gly Ser Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60

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

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

Val Arg Gly Gly Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Gly Asn Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 222
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 3

<400> 222

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Thr 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

Asn Gly 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 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 Phe Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 223
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3

<400> 223

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

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

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

Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Asp Tyr Pro Thr Tyr Ser Glu Lys Phe

50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Thr
115

<210> 224
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 4

<400> 224

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Asn Val Asn Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Asn Gly Asn Pro Tyr Thr
85 90 95

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

<210> 225
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 4

<400> 225

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Ser Asn Tyr Tyr Gly Thr Thr Tyr Trp His Phe Asp Val Trp
100 105 110

Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 226
<211> 105
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 5

<400> 226

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr 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 Ile Ser Ser Ile
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Val 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 His Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Thr Phe
85 90 95

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 227
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 5

<400> 227

Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro 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 Asn Phe

20 25 30

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

Gly Phe Phe Asn Pro His Lys Asn Gly Ala Glu Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 228
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 6

<400> 228

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

Glu Arg Val Ser Leu Thr Cys Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ser Gly Tyr
20 25 30

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Ile Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Asp Ser Gly Val Pro Lys Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Ser Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser
65 70 75 80

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

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

<210> 229
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 6

<400> 229

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

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

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

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

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

Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Pro Asp Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 230
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 7

<400> 230

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

Glu Glu Ile Thr Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Ile
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Val Leu Ile Tyr
35 40 45

Gln Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Arg Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Lys Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Tyr Cys His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Trp Thr
85 90 95

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

<210> 231
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 7

<400> 231

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Val Ser Cys Glu Ala Ser Gly Ile Thr Phe Arg Asn Tyr
20 25 30

Phe Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Ser Ala Gly Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Gly Thr Ser Val Ile Val Ser Ser
115 120

<210> 232
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 8

<400> 232

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

Glu Glu Ile Thr Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Val Leu Ile Tyr
35 40 45

Gly Thr Ser Asn Leu Ala Ser Glu Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Phe Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Asp Tyr Tyr Cys His Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Trp Thr
85 90 95

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

<210> 233
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 8

<400> 233

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

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

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

Gly Ile Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Arg Ser Ala Leu Ile
50 55 60

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

Lys Leu Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Pro Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 234
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 9

<400> 234

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

Glu Thr Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Leu Met
20 25 30

Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
35 40 45

Phe Thr Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val Pro Ile Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Phe Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Ser Asp Pro Pro Thr
85 90 95

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

<210> 235
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 9

<400> 235

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

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

Gly Val Ser Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Asp Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Thr Phe Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Ile Asp Asp Phe
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ser Arg Arg Asn Gly Ala Trp Phe Glu Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 236
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 10

<400> 236

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

Glu Arg Val Ser Leu Thr Cys Arg Pro Ser Gln Glu Ile Ser Gly Tyr
20 25 30

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Ile Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Asp Ser Gly Val Pro Lys Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Ser Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser
65 70 75 80

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

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

<210> 237
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 10

<400> 237

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Ser Tyr Gly Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Gln Glu Val Pro Tyr Pro Tyr Pro Met Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Ile Val Ser Ser
115 120

<210> 238
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 11

<400> 238

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

Asp Arg Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Thr
65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Met Tyr Phe Cys Gln Gln Thr Asn Ser Trp Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 239
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 11

<400> 239

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

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

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

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

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

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

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

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 240
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 12

<400> 240

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Val Ile Gly
1 5 10 15

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

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Thr
35 40 45

Tyr Trp Ser Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 241
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 12

<400> 241

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

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

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

Gly Val Ile His Ser Gly Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Asp Asn Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Asn Phe Gly Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 242
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 13

<400> 242

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

Asp Arg Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Val Glu Thr
65 70 75 80

Glu Asp Phe Gly Met Tyr Phe Cys Gln Gln Thr Asn Ser Trp Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 243
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 13

<400> 243

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

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

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

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

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

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

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

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 244

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

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể kháng hTfR số 14

<400> 244

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

Glu Lys Val Thr Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Asn Ile Asn Ser Ile
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Asn 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 Ser Tyr Tyr Cys His Gln Arg Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

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

<210> 245
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 14

<400> 245

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

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

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

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

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

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

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

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 246
<211> 525
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 246

Ser Glu Thr Gln Ala Asn Ser Thr Thr Asp Ala Leu Asn Val Leu Leu
1 5 10 15

Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys
20 25 30

Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu
35 40 45

Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val
50 55 60

Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe
65 70 75 80

Asn Ser Tyr Trp Arg Val His Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln
85 90 95

Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe
100 105 110

His Pro Gly Ile Ser Ser Asn His Thr Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp
115 120 125

Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys
130 135 140

Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro
145 150 155 160

Val Asp Val Leu Asp Val Pro Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser
165 170 175

Thr Glu Gln Ala Ile Gln Leu Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser
180 185 190

Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg
195 200 205

Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu
210 215 220

Ala Pro Asp Pro Glu Val Pro Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn
225 230 235 240

Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile
245 250 255

Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile Pro Val Asp Phe Gln Arg Lys Ile Arg
260 265 270

```
Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val Gly Arg
        275                 280                 285

Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Ile
    290                 295                 300

Ala Phe Thr Ser Asp His Gly Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp
305                 310                 315                 320

Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp Val Ala Thr His Val Pro Leu Ile Phe
                325                 330                 335

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

Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe Asp Ser Ala Ser Gln Leu Met Glu Pro
        355                 360                 365

Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr
    370                 375                 380

Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro
385                 390                 395                 400

Ser Phe His Val Glu Leu Cys Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu Lys His
                405                 410                 415

Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro
            420                 425                 430

Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser Gln Tyr Pro Arg Pro Ser Asp Ile Pro
        435                 440                 445

Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly
    450                 455                 460

Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe
465                 470                 475                 480
```

Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu
485 490 495

Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn
500 505 510

Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu Phe Gln Leu Leu Met Pro
515 520 525

<210> 247
<211> 973
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 1 (số 6 được làm giống như của người) và hI2S

<400> 247

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 Leu Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Ala Asn Ile Asn Thr Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335

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

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

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

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

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

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

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

Ser Glu Thr Gln Ala Asn Ser Thr Thr Asp Ala Leu Asn Val Leu Leu
450 455 460

Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys
465 470 475 480

Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile Asp Gln Leu Ala Ser His Ser Leu Leu
485 490 495

Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser Arg Val
500 505 510

Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe
515 520 525

Asn Ser Tyr Trp Arg Val His Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln

530 535 540

Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr Val Thr Met Ser Val Gly Lys Val Phe
545 550 555 560

His Pro Gly Ile Ser Ser Asn His Thr Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp
565 570 575

Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys
580 585 590

Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly Glu Leu His Ala Asn Leu Leu Cys Pro
595 600 605

Val Asp Val Leu Asp Val Pro Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser
610 615 620

Thr Glu Gln Ala Ile Gln Leu Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser
625 630 635 640

Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly Tyr His Lys Pro His Ile Pro Phe Arg
645 650 655

Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu
660 665 670

Ala Pro Asp Pro Glu Val Pro Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn
675 680 685

Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile
690 695 700

Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile Pro Val Asp Phe Gln Arg Lys Ile Arg
705 710 715 720

Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val Gly Arg
725 730 735

Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr Ile Ile

740 745 750

Ala Phe Thr Ser Asp His Gly Trp Ala Leu Gly Glu His Gly Glu Trp
755 760 765

Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp Val Ala Thr His Val Pro Leu Ile Phe
770 775 780

Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala Ser Leu Pro Glu Ala Gly Glu Lys Leu
785 790 795 800

Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe Asp Ser Ala Ser Gln Leu Met Glu Pro
805 810 815

Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu Val Glu Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr
820 825 830

Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro
835 840 845

Ser Phe His Val Glu Leu Cys Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu Lys His
850 855 860

Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro
865 870 875 880

Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser Gln Tyr Pro Arg Pro Ser Asp Ile Pro
885 890 895

Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly
900 905 910

Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe
915 920 925

Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala Asn Phe Ser Asp Ile His Ala Gly Glu
930 935 940

Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp Pro Leu Gln Asp His Asn Met Tyr Asn

945 950 955 960

Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu Phe Gln Leu Leu Met Pro
965 970

<210> 248
<211> 3002
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng hTfR 1 (số 6 được làm giống như của người) và hI2S, trình tự tổng hợp

<400> 248
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgaagtgca gctggtcgaa tcaggggggg ggctggtgca gcctggaggc 120

agcctgagac tgtcctgcgc cgcttctggc ttgaccttta gcaactacgg gatgtcctgg 180

gtgcggcagg ctcctggcaa gggactggag ttggtggcca acatcaatac caacggcgga 240

agtacatact atcccgattc agtgaagggc cggttcacca tcagcaggga caacgccaag 300

aacagcctgt atctgcagat gaactctctg agggccgagg atacagccgt gtactattgc 360

actaacaacc ggtacgacga ggactattgg ggccagggca ccctggtgac agtgtctagc 420

gcctctacca agggcccaag cgtgtttcct ctggctccat cctctaaatc cacctctggc 480

ggcacagccg ctctgggctg tctggtgaag gattacttcc cagagcccgt gacagtgtct 540

tggaacagcg gcgccctgac ctccggcgtg cacacatttc ctgctgtgct gcagagctcc 600

ggcctgtaca gcctgtctag cgtggtgacc gtgccatcct ctagcctggg cacccagaca 660

tatatctgca acgtgaatca caagcccagc aatacaaagg tggataagaa ggtggagcca 720

aagtcctgtg acaagaccca cacatgcccc ccttgtcctg ctccagagct gctgggagga 780

ccaagcgtgt tcctgtttcc acccaagccc aaggataccc tgatgatctc tcggacccca 840

gaggtgacat gcgtggtggt ggatgtgagc cacgaggacc ccgaggtgaa gttcaactgg 900

tatgtggacg gcgtggaggt gcacaatgct aagaccaagc ccagggagga gcagtacaac 960

tccacctata gagtggtgtc tgtgctgaca gtgctgcacc aggattggct gaacggcaag 1020

gagtataagt gcaaggtgtc caataaggcc ctgcccgctc ctatcgagaa gaccatctct 1080

aaggccaagg gccagcccag agagcctcag gtgtacacac tgcctccatc ccgggatgag 1140

ctgaccaaga accaggtgtc tctgacatgt ctggtcaagg gcttctatcc ctctgacatc 1200

gccgtggagt gggagagcaa tggccagcct gagaacaatt acaagaccac acccccctgtg 1260

ctggattccg acggctcttt ctttctgtat agcaagctga ccgtggacaa gtcccggtgg 1320

cagcagggca acgtgttcag ctgttccgtg atgcacgaag ctctgcataa tcactatact 1380

cagaaatccc tgtcactgtc acctggtaaa ggatcttccg aaacgcaggc caactcgacc 1440

acagatgctc tgaacgttct tctcatcatc gtggatgacc tgcgcccctc cctgggctgt 1500

tatggggata agctggtgag gtccccaaat attgaccaac tggcatccca cagcctcctc 1560

ttccagaatg cctttgcgca gcaagcagtg tgcgccccga gccgcgtttc tttcctcact 1620

ggcaggagac ctgacaccac ccgcctgtac gacttcaact cctactggag ggtgcacgct 1680

ggaaacttct ccaccatccc ccagtacttc aaggagaatg gctatgtgac catgtcggtg 1740

ggaaaagtct ttcaccctgg gatatcttct aaccataccg atgattctcc gtatagctgg 1800

tcttttccac cttatcatcc ttcctctgag aagtatgaaa acactaagac atgtcgaggg 1860

ccagatggag aactccatgc caacctgctt tgccctgtgg atgtgctgga tgttcccgag 1920

ggcaccttgc ctgacaaaca gagcactgag caagccatac agttgttgga aaagatgaaa 1980

acgtcagcca gtcctttctt cctggccgtt gggtatcata agccacacat ccccttcaga 2040

taccccaagg aatttcagaa gttgtatccc ttggagaaca tcaccctggc ccccgatccc 2100

gaggtccctg atggcctacc ccctgtggcc tacaacccct ggatggacat caggcaacgg 2160

gaagacgtcc aagccttaaa catcagtgtg ccgtatggtc caattcctgt ggactttcag 2220

cggaaaatcc gccagagcta ctttgcctct gtgtcatatt tggatacaca ggtcggccgc 2280

ctcttgagtg ctttggacga tcttcagctg gccaacagca ccatcattgc atttacctcg 2340

gatcatgggt gggctctagg tgaacatgga gaatgggcca aatacagcaa ttttgatgtt 2400

gctacccatg ttcccctgat attctatgtt cctggaagga cggcttcact tccggaggca 2460

ggcgagaagc ttttccctta cctcgaccct tttgattccg cctcacagtt gatggagcca 2520

ggcaggcaat ccatggacct tgtggaactt gtgtctcttt ttcccacgct ggctggactt 2580

gcaggactgc aggttccacc tcgctgcccc gttccttcat ttcacgttga gctgtgcaga 2640

gaaggcaaga accttctgaa gcattttcga ttccgtgact tggaagaaga tccgtacctc 2700

cctggtaatc cccgtgaact gattgcctat agccagtatc cccggccttc agacatccct 2760

cagtggaatt ctgacaagcc gagtttaaaa gatataaaga tcatgggcta ttccatacgc 2820

accatagact ataggtatac tgtgtgggtt ggcttcaatc ctgatgaatt tctagctaac 2880

ttttctgaca tccatgcagg ggaactgtat tttgtggatt ctgacccatt gcaggatcac 2940

aatatgtata atgattccca aggtggagac cttttccagt tgttgatgcc ttaagcggcc 3000

gc 3002

<210> 249
<211> 980
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 2 (số 6 được làm giống như của người) và hI2S

<400> 249

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 Asp Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Ser Thr Tyr Tyr Gly His Gly Ser Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60

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

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

```
Val Arg Gly Gly Tyr Gly Ser Ser Ser Leu Ala Gly Asn Phe Asp Val
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115                 120                 125

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

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

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

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

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

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

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
225                 230                 235                 240

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
                245                 250                 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
            260                 265                 270

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

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

```
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305                 310                 315                 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
                325                 330                 335

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

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

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

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

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

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
            420                 425                 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
        435                 440                 445

Leu Ser Pro Gly Lys Gly Ser Ser Glu Thr Gln Ala Asn Ser Thr Thr
    450                 455                 460

Asp Ala Leu Asn Val Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg Pro Ser
465                 470                 475                 480

Leu Gly Cys Tyr Gly Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile Asp Gln
                485                 490                 495

Leu Ala Ser His Ser Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln Gln Ala
            500                 505                 510
```

```
Val Cys Ala Pro Ser Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg Pro Asp
        515                 520                 525

Thr Thr Arg Leu Tyr Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His Ala Gly
    530                 535                 540

Asn Phe Ser Thr Ile Pro Gln Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr Val Thr
545                 550                 555                 560

Met Ser Val Gly Lys Val Phe His Pro Gly Ile Ser Ser Asn His Thr
                565                 570                 575

Asp Asp Ser Pro Tyr Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro Ser Ser
            580                 585                 590

Glu Lys Tyr Glu Asn Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly Glu Leu
        595                 600                 605

His Ala Asn Leu Leu Cys Pro Val Asp Val Leu Asp Val Pro Glu Gly
    610                 615                 620

Thr Leu Pro Asp Lys Gln Ser Thr Glu Gln Ala Ile Gln Leu Leu Glu
625                 630                 635                 640

Lys Met Lys Thr Ser Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly Tyr His
                645                 650                 655

Lys Pro His Ile Pro Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys Leu Tyr
            660                 665                 670

Pro Leu Glu Asn Ile Thr Leu Ala Pro Asp Pro Glu Val Pro Asp Gly
        675                 680                 685

Leu Pro Pro Val Ala Tyr Asn Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln Arg Glu
    690                 695                 700

Asp Val Gln Ala Leu Asn Ile Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile Pro Val
705                 710                 715                 720
```

```
Asp Phe Gln Arg Lys Ile Arg Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val Ser Tyr
                725                 730                 735

Leu Asp Thr Gln Val Gly Arg Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp Leu Gln
            740                 745                 750

Leu Ala Asn Ser Thr Ile Ile Ala Phe Thr Ser Asp His Gly Trp Ala
        755                 760                 765

Leu Gly Glu His Gly Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp Val Ala
    770                 775                 780

Thr His Val Pro Leu Ile Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala Ser Leu
785                 790                 795                 800

Pro Glu Ala Gly Glu Lys Leu Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe Asp Ser
                805                 810                 815

Ala Ser Gln Leu Met Glu Pro Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu Val Glu
            820                 825                 830

Leu Val Ser Leu Phe Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu Gln Val
        835                 840                 845

Pro Pro Arg Cys Pro Val Pro Ser Phe His Val Glu Leu Cys Arg Glu
    850                 855                 860

Gly Lys Asn Leu Leu Lys His Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu Glu Asp
865                 870                 875                 880

Pro Tyr Leu Pro Gly Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser Gln Tyr
                885                 890                 895

Pro Arg Pro Ser Asp Ile Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro Ser Leu
            900                 905                 910

Lys Asp Ile Lys Ile Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp Tyr Arg
        915                 920                 925
```

Tyr Thr Val Trp Val Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala Asn Phe
930 935 940

Ser Asp Ile His Ala Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp Pro Leu
945 950 955 960

Gln Asp His Asn Met Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu Phe Gln
965 970 975

Leu Leu Met Pro
980

<210> 250
<211> 3023
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng hTfR 2 (số 6 được làm giống như của người) và hI2S, trình tự tổng hợp

<400> 250
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gccaggtgca gctggtccag tcaggagccg aagtgaaaaa gcccggagcc 120

tcagtcaaag tgtcttgtaa agcatcaggt tatacattta cagactacgt catgcactgg 180

gtgaggcagg cacctggaca gggtctggaa tggatcggcg tgatctccac ttactatggc 240

catggaagct acaaccagag attcaagggc agggcgacaa tgactgtaga caaatcaatt 300

tccactgctt atatggagct ggtaaggctg cggtccgacg ataccgctgt gtactattgc 360

gtacgaggag gatacggctc cagctctctg gctggtaatt tcgatgtgtg ggggcagggt 420

accacagtca ccgtgagttc agcaagcaca aagggcccat ctgtgtttcc actggccccc 480

tccagcaaaa gcacctctgg gggtacagcc gctctgggat gtctggtgaa ggattatttc 540

ccagagccag tcaccgtgtc ctggaacagc ggagccctga catctggagt ccacactttt 600

ccagctgtgc tgcagtctag tgggctgtac tccctgtcat ccgtggtcac tgtccccagc 660

tctagtctgg gtacccagac atatatctgc aacgtgaatc acaagccatc taataccaaa 720

gtcgacaaga aagtggaacc caagtcctgt gataaaactc atacctgccc cccttgtcct 780

gcaccagagc tgctgggagg accatccgtg ttcctgtttc cacccaagcc taaagacacc 840

ctgatgatta gccgaactcc cgaagtcacc tgcgtggtcg tggacgtgtc tcacgaggac 900

cctgaagtca agtttaactg gtacgtggat ggcgtcgagg tgcataatgc taagacaaaa 960

ccccgagagg aacagtacaa cagtacatat cgtgtcgtgt cagtgctgac cgtcctgcat 1020

caggactggc tgaacgggaa ggaatataag tgcaaagtgt ccaataaggc actgcccgcc 1080

cctatcgaga aaaccattag caaggccaaa ggacagccta gggaaccaca ggtgtacaca 1140

ctgcctccat cccgggacga gctgactaag aaccaggtca gcctgacctg tctggtgaaa 1200

ggcttctatc cttcagatat cgctgtggag tgggaaagta atggacagcc agagaacaat 1260

tacaagacta ccccccctgt gctggactct gatgggagtt tctttctgta ttctaagctg 1320

accgtggata aaagtcggtg gcagcagggt aatgtcttta gttgttcagt gatgcacgaa 1380

gcactgcaca accactacac ccagaaatca ctgtcactgt caccagggaa aggatcttcc 1440

gaaacgcagg ccaactcgac cacagatgct ctgaacgttc ttctcatcat cgtggatgac 1500

ctgcgccccct ccctgggctg ttatggggat aagctggtga ggtccccaaa tattgaccaa 1560

ctggcatccc acagcctcct cttccagaat gcctttgcgc agcaagcagt gtgcgccccg 1620

agccgcgttt ctttcctcac tggcaggaga cctgacacca cccgcctgta cgacttcaac 1680

tcctactgga gggtgcacgc tggaaacttc tccaccatcc cccagtactt caaggagaat 1740

ggctatgtga ccatgtcggt gggaaaagtc tttcaccctg ggatatcttc taaccatacc 1800

gatgattctc cgtatagctg gtcttttcca ccttatcatc cttcctctga gaagtatgaa 1860

aacactaaga catgtcgagg gccagatgga gaactccatg ccaacctgct ttgccctgtg 1920

gatgtgctgg atgttcccga gggcaccttg cctgacaaac agagcactga gcaagccata 1980

cagttgttgg aaaagatgaa aacgtcagcc agtcctttct tcctggccgt tgggtatcat 2040

aagccacaca tccccttcag ataccccaag gaatttcaga agttgtatcc cttggagaac 2100

atcaccctgg cccccgatcc cgaggtccct gatggcctac cccctgtggc ctacaacccc 2160

tggatggaca tcaggcaacg ggaagacgtc caagccttaa acatcagtgt gccgtatggt 2220

ccaattcctg tggactttca gcggaaaatc cgccagagct actttgcctc tgtgtcatat 2280

ttggatacac aggtcggccg cctcttgagt gctttggacg atcttcagct ggccaacagc 2340

accatcattg catttacctc ggatcatggg tgggctctag gtgaacatgg agaatgggcc 2400

aaatacagca attttgatgt tgctacccat gttcccctga tattctatgt tcctggaagg 2460

acggcttcac ttccggaggc aggcgagaag cttttccctt acctcgaccc ttttgattcc 2520

gcctcacagt tgatggagcc aggcaggcaa tccatggacc ttgtggaact tgtgtctctt 2580

tttcccacgc tggctggact tgcaggactg caggttccac ctcgctgccc cgttccttca 2640

tttcacgttg agctgtgcag agaaggcaag aaccttctga agcattttcg attccgtgac 2700

ttggaagaag atccgtacct ccctggtaat ccccgtgaac tgattgccta tagccagtat 2760

ccccggcctt cagacatccc tcagtggaat tctgacaagc cgagtttaaa agatataaag 2820

atcatgggct attccatacg caccatagac tataggtata ctgtgtgggt tggcttcaat 2880

cctgatgaat ttctagctaa cttttctgac atccatgcag gggaactgta ttttgtggat 2940

tctgacccat tgcaggatca caatatgtat aatgattccc aaggtggaga ccttttccag 3000

ttgttgatgc cttaagcggc cgc 3023

<210> 251
<211> 975
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng hTfR 3 (số 2 được làm giống như của người) và hI2S, trình tự tổng hợp

<400> 251

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

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

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

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

```
Lys Val Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
            260                 265                 270
```

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

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

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
                325                 330                 335

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

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

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

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

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

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

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

Gly Ser Ser Glu Thr Gln Ala Asn Ser Thr Thr Asp Ala Leu Asn Val
    450                 455                 460

Leu Leu Ile Ile Val Asp Asp Leu Arg Pro Ser Leu Gly Cys Tyr Gly
465                 470                 475                 480
```

Asp Lys Leu Val Arg Ser Pro Asn Ile Asp Gln Leu Ala Ser His Ser
485 490 495

Leu Leu Phe Gln Asn Ala Phe Ala Gln Gln Ala Val Cys Ala Pro Ser
500 505 510

Arg Val Ser Phe Leu Thr Gly Arg Arg Pro Asp Thr Thr Arg Leu Tyr
515 520 525

Asp Phe Asn Ser Tyr Trp Arg Val His Ala Gly Asn Phe Ser Thr Ile
530 535 540

Pro Gln Tyr Phe Lys Glu Asn Gly Tyr Val Thr Met Ser Val Gly Lys
545 550 555 560

Val Phe His Pro Gly Ile Ser Ser Asn His Thr Asp Asp Ser Pro Tyr
565 570 575

Ser Trp Ser Phe Pro Pro Tyr His Pro Ser Ser Glu Lys Tyr Glu Asn
580 585 590

Thr Lys Thr Cys Arg Gly Pro Asp Gly Glu Leu His Ala Asn Leu Leu
595 600 605

Cys Pro Val Asp Val Leu Asp Val Pro Glu Gly Thr Leu Pro Asp Lys
610 615 620

Gln Ser Thr Glu Gln Ala Ile Gln Leu Leu Glu Lys Met Lys Thr Ser
625 630 635 640

Ala Ser Pro Phe Phe Leu Ala Val Gly Tyr His Lys Pro His Ile Pro
645 650 655

Phe Arg Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Lys Leu Tyr Pro Leu Glu Asn Ile
660 665 670

Thr Leu Ala Pro Asp Pro Glu Val Pro Asp Gly Leu Pro Pro Val Ala
675 680 685

```
Tyr Asn Pro Trp Met Asp Ile Arg Gln Arg Glu Asp Val Gln Ala Leu
    690                 695                 700

Asn Ile Ser Val Pro Tyr Gly Pro Ile Pro Val Asp Phe Gln Arg Lys
705                 710                 715                 720

Ile Arg Gln Ser Tyr Phe Ala Ser Val Ser Tyr Leu Asp Thr Gln Val
                725                 730                 735

Gly Arg Leu Leu Ser Ala Leu Asp Asp Leu Gln Leu Ala Asn Ser Thr
            740                 745                 750

Ile Ile Ala Phe Thr Ser Asp His Gly Trp Ala Leu Gly Glu His Gly
        755                 760                 765

Glu Trp Ala Lys Tyr Ser Asn Phe Asp Val Ala Thr His Val Pro Leu
    770                 775                 780

Ile Phe Tyr Val Pro Gly Arg Thr Ala Ser Leu Pro Glu Ala Gly Glu
785                 790                 795                 800

Lys Leu Phe Pro Tyr Leu Asp Pro Phe Asp Ser Ala Ser Gln Leu Met
                805                 810                 815

Glu Pro Gly Arg Gln Ser Met Asp Leu Val Glu Leu Val Ser Leu Phe
            820                 825                 830

Pro Thr Leu Ala Gly Leu Ala Gly Leu Gln Val Pro Pro Arg Cys Pro
        835                 840                 845

Val Pro Ser Phe His Val Glu Leu Cys Arg Glu Gly Lys Asn Leu Leu
    850                 855                 860

Lys His Phe Arg Phe Arg Asp Leu Glu Glu Asp Pro Tyr Leu Pro Gly
865                 870                 875                 880

Asn Pro Arg Glu Leu Ile Ala Tyr Ser Gln Tyr Pro Arg Pro Ser Asp
                885                 890                 895
```

Ile Pro Gln Trp Asn Ser Asp Lys Pro Ser Leu Lys Asp Ile Lys Ile
900 905 910

Met Gly Tyr Ser Ile Arg Thr Ile Asp Tyr Arg Tyr Thr Val Trp Val
915 920 925

Gly Phe Asn Pro Asp Glu Phe Leu Ala Asn Phe Ser Asp Ile His Ala
930 935 940

Gly Glu Leu Tyr Phe Val Asp Ser Asp Pro Leu Gln Asp His Asn Met
945 950 955 960

Tyr Asn Asp Ser Gln Gly Gly Asp Leu Phe Gln Leu Leu Met Pro
965 970 975

<210> 252
<211> 3011
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng hTfR 3 (số 2 được làm giống như của người) và hI2S, trình tự tổng hợp

<400> 252
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgaggtgca actagtgcag tctggagcag aggtgaaaaa gcccggggag 120

tctctgaaga tttcctgtaa gggttctgga tacagcttta ccaactactg gctgggatgg 180

gtgcgccaga tgcccgggaa aggcctggag tggatggggg acatctaccc cggcggagac 240

taccctacat acagcgagaa gttcaaggtc caggtcacca tctcagccga caagtccatc 300

agcaccgcct acctgcagtg gagcagcctg aaggcctcgg acaccgccat gtattactgt 360

gcgagatcag gcaattacga cgaagtggcc tactggggcc aaggaaccct ggtcaccgtc 420

tcctcagcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg caccctcctc caagagcacc 480

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 540

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 600

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 660

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt 720

gagcccaaat cttgtgacaa aactcacacg tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 780

ggaggtccgt cagtcttcct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 840

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 900

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 960

tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1020

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1080

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1140

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1200

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1260

cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1320

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1380

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaaggat cttccgaaac gcaggccaac 1440

tcgaccacag atgctctgaa cgttcttctc atcatcgtgg atgacctgcg cccctccctg 1500

ggctgttatg gggataagct ggtgaggtcc ccaaatattg accaactggc atcccacagc 1560

ctcctcttcc agaatgcctt tgcgcagcaa gcagtgtgcg ccccgagccg cgtttctttc 1620

ctcactggca ggagacctga caccacccgc ctgtacgact tcaactccta ctggagggtg 1680

cacgctggaa acttctccac catcccccag tacttcaagg agaatggcta tgtgaccatg 1740

tcggtgggaa aagtctttca ccctgggata tcttctaacc ataccgatga ttctccgtat 1800

agctggtctt ttccacctta tcatccttcc tctgagaagt atgaaaacac taagacatgt 1860

cgagggccag atggagaact ccatgccaac ctgctttgcc ctgtggatgt gctggatgtt 1920

cccgagggca ccttgcctga caaacagagc actgagcaag ccatacagtt gttggaaaag 1980

atgaaaacgt cagccagtcc tttcttcctg gccgttgggt atcataagcc acacatcccc 2040

ttcagatacc ccaaggaatt tcagaagttg tatcccttgg agaacatcac cctggccccc 2100

gatcccgagg tccctgatgg cctaccccct gtggcctaca acccctggat ggacatcagg 2160

caacgggaag acgtccaagc cttaaacatc agtgtgccgt atggtccaat tcctgtggac 2220

tttcagcgga aaatccgcca gagctacttt gcctctgtgt catatttgga tacacaggtc 2280

ggccgcctct tgagtgcttt ggacgatctt cagctggcca acagcaccat cattgcattt 2340

acctcggatc atgggtgggc tctaggtgaa catggagaat gggccaaata cagcaatttt 2400

gatgttgcta cccatgttcc cctgatattc tatgttcctg gaaggacggc ttcacttccg 2460

gaggcaggcg agaagctttt cccttacctc gacccttttg attccgcctc acagttgatg 2520

gagccaggca ggcaatccat ggaccttgtg gaacttgtgt ctctttttcc cacgctggct 2580

ggacttgcag gactgcaggt tccacctcgc tgccccgttc cttcatttca cgttgagctg 2640

tgcagagaag gcaagaacct tctgaagcat tttcgattcc gtgacttgga agaagatccg 2700

tacctccctg gtaatccccg tgaactgatt gcctatagcc agtatccccg gccttcagac 2760

atccctcagt ggaattctga caagccgagt ttaaaagata taaagatcat gggctattcc 2820

atacgcacca tagactatag gtatactgtg tgggttggct tcaatcctga tgaatttcta 2880

gctaactttt ctgacatcca tgcaggggaa ctgtattttg tggattctga cccattgcag 2940

gatcacaata tgtataatga ttcccaaggt ggagaccttt tccagttgtt gatgccttaa 3000

taagcggccg c 3011

<210> 253
<211> 4460
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit của ADN được hình thành bởi cADN mã hóa hTfR khảm và gen kháng neomycin được chặn hai bên sườn bởi loxP được đặt ở đầu 3' của cADN, trình tự tổng hợp

<400> 253
gtttatcctc ccttgtagca gctgagaatg atggatcaag ccagatcagc attctctaac 60

ttgtttggtg gggaaccatt gtcatacacc cggtttagcc ttgctcggca agtagatgga 120

gataacagtc atgtggagat gaaactggct gcagatgaag aagaaaatgc cgacaataac 180

atgaaggcta gtgtcagaaa acccaagagg tttaatggaa gactctgctt tgcagctatt 240

gcactagtca ttttcttctt gattggattc atgagtggct acctgggcta ttgtaaaggg 300

gtagaaccaa aaactgagtg tgagagactg gcaggaaccg agtctccagt gagggaggag 360

ccaggagagg acttccctgc agcacgtcgc ttatattggg atgacctgaa gagaaagttg 420

tcggagaaac tggacagcac agacttcacc ggcaccatca agctgctgaa tgaaaattca 480

tatgtccctc gtgaggctgg atctcaaaaa gatgaaaatc ttgcgttgta tgttgaaaat 540

caatttcgtg aatttaaact cagcaaagtc tggcgtgatc aacattttgt taagattcag 600

gtcaaagaca gcgctcaaaa ctcggtgatc atagttgata agaacggtag acttgtttac 660

ctggtggaga atcctggggg ttatgtggcg tatagtaagg ctgcaacagt tactggtaaa 720

ctggtccatg ctaattttgg tactaaaaaa gattttgagg atttatacac tcctgtgaat 780

ggatctatag tgattgtcag agcagggaaa atcacctttg cagaaaaggt tgcaaatgct 840

gaaagcttaa atgcaattgg tgtgttgata tacatggacc agactaaatt tcccattgtt 900

aacgcagaac tttcattctt tggacatgct catctgggga caggtgaccc ttacacacct 960

ggattccctt ccttcaatca cactcagttt ccaccatctc ggtcatcagg attgcctaat 1020

atacctgtcc agacaatctc cagagctgct gcagaaaagc tgtttgggaa tatggaagga 1080

gactgtccct ctgactggaa aacagactct acatgtagga tggtaacctc agaaagcaag 1140

aatgtgaagc tcactgtgag caatgtgctg aaagagataa aaattcttaa catctttgga 1200

gttattaaag gctttgtaga accagatcac tatgttgtag ttggggccca gagagatgca 1260

tggggccctg gagctgcaaa atccggtgta ggcacagctc tcctattgaa acttgcccag 1320

atgttctcag atatggtctt aaaagatggg tttcagccca gcagaagcat tatctttgcc 1380

agttggagtg ctggagactt tggatcggtt ggtgccactg aatggctaga gggatacctt 1440

tcgtccctgc atttaaaggc tttcacttat attaatctgg ataaagcggt tcttggtacc 1500

agcaacttca aggtttctgc cagcccactg ttgtatacgc ttattgagaa aacaatgcaa 1560

aatgtgaagc atccggttac tgggcaattt ctatatcagg acagcaactg ggccagcaaa 1620

gttgagaaac tcactttaga caatgctgct ttccctttcc ttgcatattc tggaatccca 1680

gcagtttctt tctgtttttg cgaggacaca gattatcctt atttgggtac caccatggac 1740

acctataagg aactgattga gaggattcct gagttgaaca aagtggcacg agcagctgca 1800

gaggtcgctg gtcagttcgt gattaaacta acccatgatg ttgaattgaa cctggactat 1860

gagaggtaca acagccaact gctttcattt gtgagggatc tgaaccaata cagagcagac 1920

ataaaggaaa tgggcctgag tttacagtgg ctgtattctg ctcgtggaga cttcttccgt 1980

gctacttcca gactaacaac agatttcggg aatgctgaga aaacagacag atttgtcatg 2040

aagaaactca atgatcgtgt catgagagtg gagtatcact tcctctctcc ctacgtatct 2100

ccaaaagagt ctcctttccg acatgtcttc tggggctccg gctctcacac gctgccagct 2160

ttactggaga acttgaaact gcgtaaacaa aataacggtg cttttaatga aacgctgttc 2220

agaaaccagt tggctctagc tacttggact attcagggag ctgcaaatgc cctctctggt 2280

gacgtttggg acattgacaa tgagttttaa cgtggctcgc tgatcagcct cgactgtgcc 2340

ttctagttgc cagccatctg ttgtttgccc ctcccccgtg ccttccttga ccctggaagg 2400

tgccactccc actgtccttt cctaataaaa tgaggaaatt gcatcgcatt gtctgagtag 2460

gtgtcattct attctggggg gtggggtggg gcaggacagc aaggggggagg attgggaaga 2520

caatagcagg catgctgggg atgcggtggg ctctatggct tctgaggcgg aaagaaccag 2580

ctggggctcg atcctctagt taagcttccc agcggccgct atcgaattcc gatcatattc 2640

aataaccctt aatataactt cgtataatgt atgctatacg aagttattag gtctgaagag 2700

gagtttacgt ccagccaagc taattctacc gggtagggga ggcgcttttc ccaaggcagt 2760

ctggagcatg cgctttagca gccccgctgg gcacttggcg ctacacaagt ggcctctggc 2820

ctcgcacaca ttccacatcc accggtaggc gccaaccggc tccgttcttt ggtggcccct 2880

tcgcgccacc ttctactcct cccctagtca ggaagttccc ccccgccccg cagctcgcgt 2940

cgtgcaggac gtgacaaatg gaagtagcac gtctcactag tctcgtgcag atggacagca 3000

ccgctgagca atggaagcgg gtaggccttt ggggcagcgg ccaatagcag ctttgctcct 3060

tcgctttctg ggctcagagg ctgggaaggg gtgggtccgg gggcgggctc aggggcgggc 3120

tcaggggcgg ggcgggcgcc cgaaggtcct ccggaggccc ggcattctgc acgcttcaaa 3180

agcgcacgtc tgccgcgctg ttctcctctt cctcatctcc gggcctttcg acctgcagcc 3240

aatatgggat cggccattga acaagatgga ttgcacgcag gttctccggc cgcttgggtg 3300

gagaggctat tcggctatga ctgggcacaa cagacaatcg gctgctctga tgccgccgtg 3360

ttccggctgt cagcgcaggg gcgcccggtt ctttttgtca agaccgacct gtccggtgcc 3420

ctgaatgaac tgcaggacga ggcagcgcgg ctatcgtggc tggccacgac gggcgttcct 3480

tgcgcagctg tgctcgacgt tgtcactgaa gcgggaaggg actggctgct attgggcgaa 3540

gtgccggggc aggatctcct gtcatctcac cttgctcctg ccgagaaagt atccatcatg 3600

gctgatgcaa tgcggcggct gcatacgctt gatccggcta cctgcccatt cgaccaccaa 3660

gcgaaacatc gcatcgagcg agcacgtact cggatggaag ccggtcttgt cgatcaggat 3720

gatctggacg aagagcatca ggggctcgcg ccagccgaac tgttcgccag gctcaaggcg 3780

cgcatgcccg acggcgagga tctcgtcgtg acccatggcg atgcctgctt gccgaatatc 3840

atggtggaaa atggccgctt ttctggattc atcgactgtg gccggctggg tgtggcggac 3900

cgctatcagg acatagcgtt ggctacccgt gatattgctg aagagcttgg cggcgaatgg 3960

gctgaccgct tcctcgtgct ttacggtatc gccgctcccg attcgcagcg catcgccttc 4020

tatcgccttc ttgacgagtt cttctgaggg gatccgctgt aagtctgcag aaattgatga 4080

tctattaaac aataaagatg tccactaaaa tggaagtttt tcctgtcata ctttgttaag 4140

aagggtgaga acagagtacc tacattttga atggaaggat tggagctacg ggggtggggg 4200

tggggtggga ttagataaat gcctgctctt tactgaaggc tctttactat tgctttatga 4260

taatgtttca tagttggata tcataattta aacaagcaaa accaaattaa gggccagctc 4320

attcctccca ctcatgatct atagatccct cgatcgagat ccggaaccct taatataact 4380

tcgtataatg tatgctatac gaagttatta ggtccctcga agaggttcac tagttctaga 4440

gcatttaaat acgtgctagc 4460

<210> 254
<211> 5003
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit của nhánh 5′ của vectơ hướng đích

<400> 254
aaagacattc ccagggtccc taagggctcc atctgggagc gcgctatctg tagtcctgtt 60

gtggtttaag ataccactct ctttgttatt tgtaaattta ccacaggctg ggcagtaaag 120

tacagatagg aagaaaagag tgtgaacgtt tgcagtttta acagaactcc ttttatttgc 180

tatgcattgc aacaaccctc taaaagcaat aatggcgata aacatgcaag ttaatctaca 240

actttatcac cctagtaaat cattggttcc tatttccctt ccataggctg aacatagtga 300

gcactggtag ctctttgctt ggcttaagcg ctgcttgtta aaatctaaaa aaaaaaaaaa 360

aaaagatttg cagttttgct ttaaagtttt tcctttaaag catctctgag ctgcaaaaac 420

tcgtctttag gatatggttt tggcggagac ctaagcctgc aagtaggaat attttaaaga 480

gtaaaggctg atactttcga acttgcaccg cagggttggg tgtcggtcaa ggttaggcgg 540

agggcgacag gccaactcca aagacacggc gggggagggg tgcggtggag aaagcgagcc 600

gcagccaatc gcacgcgctc tcccgacacc tgccgccttg gcgccttttc taggctactc 660

cgcgcacgca ctggctgcgc gcgcagttcg cctccagcgg tcttggggga gcacctcggt 720

aggtgtacgt gcggaaggaa gtgacgtaga tccagagggc cggccggggg gtggggccga 780

gctataagct ttgggtggga ggcagcgctg ccttcagaag gcgtgcggag cgcgggctgc 840

tgcattgcgg actgtagagg cgcttcctag tgagtgactc ccttgtcagc ggcacggccc 900

atcgtggtcc tcgcgtggcg ggcggaccag agcgagacgc cagggcctgg gtggtgcggg 960

cggggaggcg gaggggtgtc gcggagtccg gggctgagga gcgcgggttg caggtgcagc 1020

gcggtgggtg tggggagccg ctgtaccctg cgcccctcgg gtcctccggg ccttcgcagg 1080

ccagtgctag gccgcgggtt cgagagtcac cacgctgagg cgcaggcttg ttccgccggg 1140

agcacgtggt ggcggctgga ggaagtcgcc ccagggaacg gctgtcgggg tacgtgggtg 1200

accttggggc ccctcgcagg agggcgtcac agctgaaaag gacaaagctg ttttctattc 1260

ggttactagt gtcacggaca tttagagggg cgggggggagc ttccaataac tgcacgttgg 1320

aacttcggca ccacctggtc ggtttttttg ccagtctctc cctcttggcc cagcgtgtgg 1380

aatctcattt ttctagggca gaataggtct gaacgctgca ggtaatacta agaacgtctc 1440

tagcatctcc taagatggga gaacgtagaa atacgacctc tttgtacgag ctcttttaga 1500

actagctgta gagaaccagc gtgcaccctg gtgttggaca gctctctaaa atggtgtttg 1560

agggtaagaa aactgcattt gcaaattttt cagttagcac actttgtccc gagcgtaaaa 1620

tgaaatgatc tccttatact taggcagaag actggactgg attgctgttc agtttctgtg 1680

ctatttttt aaaataggat ttaagtggga aatagttgtg ttacagaaat tctcggctat 1740

tctgtgctat tttttttaa ataggattta agtgggaaat agttgtgtta cagaaattct 1800

cggctacctg atacttttat tctaagatta gatgagttgg ctctgagctg tgaaatatga 1860

cctctttgac aaagacattt aagctgattc aggatgttat ctacaaagaa aacgggattt 1920

agcttgtgtg ggtccacttg catttatttt ctgttaagga ttataataaa ctgctttata 1980

caggaatcca atatcagctg ttttttatat agagagcata atacttttta ctttgagaga 2040

ggatgttgtc aaggaatggt ggctgtgaac ctggcctgtg ttgactggtt agatctgtct 2100

gcctaacccc accctaaggc taagtagtta tatgcttgtg gcaatgtgct tatttataat 2160

agggcaagat tatgggctaa atttgggtta gacaacaatg aaagttaatt aaacgaccct 2220

caggccttgg gtctactatg tgtaagtgat ttccttctct cccagatgag tgctatacaa 2280

aataaacttc agtgacctca agtggttttg acctttttggt tgctattcag aaaactatgg 2340

aaatgaaaac ctgctaccta tttcctattg ccttttcaat ttcccaaaga aggtctcccc 2400

tatgaatcca tgggtagcct tgaactcaga tccacctgct tctgtttgga gagtgataag 2460

attaaaggca agtgccacca cacccagcaa agtaggctct taaaactaaa acctttgcag 2520

tcgggcatgg tgccacacac ctttggtccc agcactgggg ggtaaggcag aggcaggtgg 2580

atcactgagt ttgaggtcag ctagtgctga agagtaagag cctgtcttta aaacatctca 2640

acagctgggc agtcgtggtc cattccttta atcccagcac ttgggaggca gaggcaagtg 2700

gatttttgag ttcgaggcca gcctggtcta cagagtgagt tccaggacag ccagggatac 2760

acagagaaac cctgtctcaa aaaaccaaaa tataaataaa taaataaaga ttgggagaga 2820

agtcaaggat ctcataggtg gtcagggagc tacaactgca gtagtaaaga agtaggactt 2880

aaaagaacag ggccggcact aattttgagg atctagatcg ggccctcaat taaggaactt 2940

ccttttgtgt gaactcagaa tttgaaatga aatgtgcttg tcagaaccat tgcatggctt 3000

atttttaat gaaaagtctg gctagtatct gcttatcttc cagcttccag ctcaaagtta 3060

aggtcataga tcaaaagaac tatgtcttta tcttagttgt atcttaattt ttattagaat 3120

tgaatggttt tcctaatgtt tggtaacatc aaaggtgtgt aagtaaaagt gagaaatcaa 3180

gattaacttt ctcttggcaa agattgttga cattggtgac atcttggacc aaatgagaat 3240

tgttttactt ttaaatgtcc catcaacagc tctcagttag gctgttctat ctggtttgtc 3300

ttgccatgct tgcagagtat agatttgaca atttgaaaat tcaaaaagct atataaatag 3360

gtatgttgct atatgtaaga ttttaaatga gtcagttaag acttaaagaa taactgggtt 3420

tattttatct tgtcaggtta tcactgtgta gaccaggttg accttgaaaa caaattctct 3480

gcttcccaag tgctgggatt aaaggcgtgt gtcactagct ctgacactgg ctactttgga 3540

actactatgg tgttcacaaa tgcagagttg agtgttggga ttaaatggaa atttcatgtc 3600

ttttttttta actttccctt ctacacaggg cttctctgtg tagtcctggc tgtccttgta 3660

gctctagact aggctgaatt caaactcaga tccacccacc taagtgctga gattaaaggc 3720

atgtgccacc actgcccagt tctgaattgt tggggttttt tttttgttgt tattcttaat 3780

tttagttcga tgaattaaaa tcgaaataac ttgtttctta gaaaaataag gtgtaattgg 3840

gttataaagc caaatttaga cattaatacc aacagcctgt ttaggctcaa aattgttcaa 3900

tcattttatt agtattatta ttaatcatat caacttgaga cctgtttggg aaagcagaat 3960

attttaggga tagctatttc agacaagcat taatgtgtta gctgtttttt tccccctaga 4020

atatgattaa aattggctca gggtggggcc ttctagttct ggctctagcg attgggtctg 4080

tttctggtga ggtggtagtg ataaactgta acagaaggga caagagattg ggcttctgag 4140

aacatgtatg atctggtatg tgactttaat cattaaagca tggggattca aaaatactaa 4200

tgaataggcc ttagaactag tcctgagtgt tttgtaaaat aacagtctta attctcctag 4260

tttctggatt tttttctttg tctttggata ctaagtttaa gcatttattt ggacagagtg 4320

gtgcccacta gctgttctat tctagtactt gggaggcaag aggcagaacg aacatggcca 4380

gcttggacaa cttaagaaaa ctgaaaggct tgccatccta gtttttcttt tgattaaaca 4440

cacttatatt ctaactagtt ttctctatcc tttgggtttt gttttgtttt ttatttgttt 4500

tgtagctcta gctggctggc ttcggaattg cctgcctccc aagtgctagg attaaaggca 4560

tcacagtcac tacccaattg atatcatgat tcttaattca acttctaaga acaaattatc 4620

acactctgaa tctaacatgg aatagcatta tccatgttca gatatctttg tctcaaggct 4680

caggtttatc ctttgtagct ttctttttgc tatcccacct ctattcagca tccagtcaag 4740

gatcactgag ttggttatca gtaaattaaa cattttaatt aatgtctagg agacaggtta 4800

tggtatagtt ctcagtgctg ggaagttgac atggtaggat ctcagttcat ggccagccag 4860

aactttctgg tgagatcctg gttcaagcac tacagagctt ttctagaaaa gtaactatat 4920

ttaggagtaa gtttgatata atgacaatcc catcgtaagc cttcagtaac ctgatgcatt 4980

ggtctctgtt ttaatatcag gta 5003

<210> 255
<211> 2604
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit của nhánh 3' của vectơ hướng đích

<400> 255
gcattctcta acttggtaag gtactttcat ctatctgaaa aaatgttcag taaaaaacaa 60

aacaaaaaca tgacttcacc cagtgagtac aagatgatac ccccaatttt ttttttttt 120

attatatgta tgtacactgt agctgtcttc agacacacca gaagagggcg tcagatctca 180

tcagatggtt gtgagccacc atgtggttgc tgggacttga acactggacc tttggaaaag 240

cagttgggta ctcttaccca ctgagctatc acaccagccc caatacccca aattttgacc 300

agccttttt ttttttttt ttttttttt aaatctgaac taatggtatt aaggtgaaac 360

agattgcaca aaagaggtac taggtttttc tttgaggcaa ggtctttcta tattgcctca 420

ggttgacctt aaactccaac ttccttttt tccccaagtg ctggagattg tagacagata 480

tatacaacac cccaaaacaa atatgtttag tttcgattaa gattcattat gtggggctag 540

agggatgact tagaggttaa gaacactgcc tgctcttcca gaggtcctga gttcaattcc 600

cagcaaccac gtggtggctc acaaccatct gtaatgggat ccgatgccct ctttctggtg 660

tgtttgaaga cagctacagt gtcctcatac ataaaaaaaa taaacaaaca gatcttttaa 720

aaaaaaaggt acagtgtact tatacattat ataaatgaat gattctttaa aaaattaatt 780

atgggaaata cttatgaaga atagggtagc tttggctgtt ttggaaacgt tatataacaa 840

ggtagaacta aaatgtatgc cagtaatccc agaggaatca ttagccagtc agggctagtc 900

tgagcaatgt ggcaagataa acccatctct ttaaaaaaaa aaaaaagtat tataaataga 960

aatgttatag gaaacaggaa atagaaaccc tcgaaaggct gaatgaaaga gtattagtgg 1020

gctggagaga tggttcagcg gttaagagca ctatctcctg agttcagttc ccagtgacca 1080

catggtggct cacagccatc tgtaatgaga tctgacgccc tcttctgggg tgtctgaaga 1140

cagcgacagt gtactcacat aaaataaata cataaagact gttagttagc cttcatctac 1200

catttacaga actgggcaca gaaaggagtt catcagttat aaagggtaac tttccatatg 1260

aatgtttgtc atattattat gcatatagta taatgaccaa actactgtaa tgtcttaata 1320

tttgtatctc ttttctcttt tttaaaaata tcagtttggt ggggaaccat tgtcatacac 1380

ccggtttagc cttgctcggc aagtagatgg agataacagt catgtggaga tgaaactggc 1440

tgcagatgaa gaagaaaatg ccgacaataa catgaaggct agtgtcagaa aacccaagag 1500

gtttaatgga agactctgct ttgcagctat tgcactagtc attttcttct tgattggtaa 1560

gaatgagtgg ccattcagaa ggatttctta tgactaacta gttcttagac tagctagttc 1620

ttagactagc tagttcttgt ttcttttgga tgaggagatg ctttgtactt taaatggcac 1680

tggggctccc tacctgccgg cagattaggt cctgcaagat gggaaacgtt tacattatgg 1740

atgttttatt agagatatgc aggacatttg gaatagtact aagaaaggct tccagtaaga 1800

caaggtgtgc acccatgtct taaacaggtc actgtaaaat atgacttagt tgtggtaatt 1860

taaattccat taaactcagg ttcataattt tctattagat tctcatagtt taattaaaag 1920

ttttcaggga taagttaaaa atgagttctg tgagtttagc tctaaaactt cctgttttta 1980

ggattcatga gtggctacct gggctattgt aagcgtgtag aacaaaaaga ggagtgtgtg 2040

aaactggctg aaacggagga gacagacaag tcagaaacca tggaaacaga ggatgttcct 2100

acatcatctc gcttatattg ggcagacctc aaaacactgt tgtcagagaa gttgaactcc 2160

atagagtttg ctgacaccat caagtaagct caacttccca agttcagtcc tgatggaaac 2220

gtttttgttg ggggggtagg gagacttgaa aggctttcag agggtcctcc tgacaatgtg 2280

gaactatgct gacaggaaat taggacttac ctggagagcc tcatagcctc ctttttcttc 2340

agaatcgttt tatcagttgt agtttagtgt gggatgtcag attttcttct gttctaatat 2400

tccttttaaa aatttttaa aattaaaatt acttttatg tattatgagt atagcctgca 2460

tatatgaatg aatgtgcatt actaattaca cttatctcct agtgcctaca taagccttat 2520

agatggttgt gagccagcat gtgggtgctg gaatccaaaa tggttcttgc aagaccaaat 2580

atgttacatc ccagagccat taca 2604

<210> 256
<211> 166
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 256

Ala Pro Pro Arg Leu Ile Cys Asp Ser Arg Val Leu Glu Arg Tyr Leu
1 5 10 15

Leu Glu Ala Lys Glu Ala Glu Asn Ile Thr Thr Gly Cys Ala Glu His
20 25 30

Cys Ser Leu Asn Glu Asn Ile Thr Val Pro Asp Thr Lys Val Asn Phe
35 40 45

Tyr Ala Trp Lys Arg Met Glu Val Gly Gln Gln Ala Val Glu Val Trp
50 55 60

Gln Gly Leu Ala Leu Leu Ser Glu Ala Val Leu Arg Gly Gln Ala Leu
65 70 75 80

Leu Val Asn Ser Ser Gln Pro Trp Glu Pro Leu Gln Leu His Val Asp
85 90 95

Lys Ala Val Ser Gly Leu Arg Ser Leu Thr Thr Leu Leu Arg Ala Leu
100 105 110

Gly Ala Gln Lys Glu Ala Ile Ser Pro Pro Asp Ala Ala Ser Ala Ala
115 120 125

Pro Leu Arg Thr Ile Thr Ala Asp Thr Phe Arg Lys Leu Phe Arg Val
130 135 140

Tyr Ser Asn Phe Leu Arg Gly Lys Leu Lys Leu Tyr Thr Gly Glu Ala
145 150 155 160

Cys Arg Thr Gly Asp Arg
165

<210> 257
<211> 616
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hEPO

<400> 257

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

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

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

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

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

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

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

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165 170 175

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

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

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

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

370 375 380

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

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

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

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

Gly Ser Ala Pro Pro Arg Leu Ile Cys Asp Ser Arg Val Leu Glu Arg
450 455 460

Tyr Leu Leu Glu Ala Lys Glu Ala Glu Asn Ile Thr Thr Gly Cys Ala
465 470 475 480

Glu His Cys Ser Leu Asn Glu Asn Ile Thr Val Pro Asp Thr Lys Val
485 490 495

Asn Phe Tyr Ala Trp Lys Arg Met Glu Val Gly Gln Gln Ala Val Glu
500 505 510

Val Trp Gln Gly Leu Ala Leu Leu Ser Glu Ala Val Leu Arg Gly Gln
515 520 525

Ala Leu Leu Val Asn Ser Ser Gln Pro Trp Glu Pro Leu Gln Leu His
530 535 540

Val Asp Lys Ala Val Ser Gly Leu Arg Ser Leu Thr Thr Leu Leu Arg
545 550 555 560

Ala Leu Gly Ala Gln Lys Glu Ala Ile Ser Pro Pro Asp Ala Ala Ser
565 570 575

Ala Ala Pro Leu Arg Thr Ile Thr Ala Asp Thr Phe Arg Lys Leu Phe

580 585 590

Arg Val Tyr Ser Asn Phe Leu Arg Gly Lys Leu Lys Leu Tyr Thr Gly
595 600 605

Glu Ala Cys Arg Thr Gly Asp Arg
610 615

<210> 258
<211> 1931
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng hTfR 3 (số 2 được làm giống như của người) và hEPO, trình tự tổng hợp

<400> 258
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgaggtgca actagtgcag tctggagcag aggtgaaaaa gcccggggag 120

tctctgaaga tttcctgtaa gggttctgga tacagcttta ccaactactg gctgggatgg 180

gtgcgccaga tgcccgggaa aggcctggag tggatggggg acatctaccc cggcggagac 240

taccctacat acagcgagaa gttcaaggtc caggtcacca tctcagccga caagtccatc 300

agcaccgcct acctgcagtg gagcagcctg aaggcctcgg acaccgccat gtattactgt 360

gcgagatcag gcaattacga cgaagtggcc tactggggcc aaggaaccct ggtcaccgtc 420

tcctcagcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg caccctcctc caagagcacc 480

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 540

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 600

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 660

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt 720

gagcccaaat cttgtgacaa aactcacacg tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 780

ggaggtccgt cagtcttcct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 840

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 900

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 960

tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1020

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1080

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1140

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1200

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1260

cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1320

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1380

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaaggat ctgccccacc acgcctcatc 1440

tgtgacagcc gagtcctgga gaggtacctc ttggaggcca aggaggccga gaatatcacg 1500

acgggctgtg ctgaacactg cagcttgaat gagaatatca ctgtcccaga caccaaagtt 1560

aatttctatg cctggaagag gatggaggtc gggcagcagg ccgtagaagt ctggcagggc 1620

ctggccctgc tgtcggaagc tgtcctgcgg ggccaggccc tgttggtcaa ctcttcccag 1680

ccgtgggagc ccctgcagct gcatgtggat aaagccgtca gtggccttcg cagcctcacc 1740

actctgcttc gggctctggg agcccagaag gaagccatct cccctccaga tgcggcctca 1800

gctgctccac tccgaacaat cactgctgac actttccgca aactcttccg agtctactcc 1860

aatttcctcc ggggaaagct gaagctgtac acaggggagg cctgcaggac aggggacaga 1920

taagcggccg c 1931

<210> 259
<211> 489
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 259

Arg Pro Pro Asn Ile Val Leu Ile Phe Ala Asp Asp Leu Gly Tyr Gly
1 5 10 15

Asp Leu Gly Cys Tyr Gly His Pro Ser Ser Thr Thr Pro Asn Leu Asp
20 25 30

```
Gln Leu Ala Ala Gly Gly Leu Arg Phe Thr Asp Phe Tyr Val Pro Val
        35                  40                  45

Ser Leu Cys Thr Pro Ser Arg Ala Ala Leu Leu Thr Gly Arg Leu Pro
    50                  55                  60

Val Arg Met Gly Met Tyr Pro Gly Val Leu Val Pro Ser Ser Arg Gly
65                  70                  75                  80

Gly Leu Pro Leu Glu Glu Val Thr Val Ala Glu Val Leu Ala Ala Arg
                85                  90                  95

Gly Tyr Leu Thr Gly Met Ala Gly Lys Trp His Leu Gly Val Gly Pro
            100                 105                 110

Glu Gly Ala Phe Leu Pro Pro His Gln Gly Phe His Arg Phe Leu Gly
        115                 120                 125

Ile Pro Tyr Ser His Asp Gln Gly Pro Cys Gln Asn Leu Thr Cys Phe
    130                 135                 140

Pro Pro Ala Thr Pro Cys Asp Gly Gly Cys Asp Gln Gly Leu Val Pro
145                 150                 155                 160

Ile Pro Leu Leu Ala Asn Leu Ser Val Glu Ala Gln Pro Pro Trp Leu
                165                 170                 175

Pro Gly Leu Glu Ala Arg Tyr Met Ala Phe Ala His Asp Leu Met Ala
            180                 185                 190

Asp Ala Gln Arg Gln Asp Arg Pro Phe Phe Leu Tyr Tyr Ala Ser His
        195                 200                 205

His Thr His Tyr Pro Gln Phe Ser Gly Gln Ser Phe Ala Glu Arg Ser
    210                 215                 220

Gly Arg Gly Pro Phe Gly Asp Ser Leu Met Glu Leu Asp Ala Ala Val
225                 230                 235                 240
```

```
Gly Thr Leu Met Thr Ala Ile Gly Asp Leu Gly Leu Leu Glu Glu Thr
                245                 250                 255

Leu Val Ile Phe Thr Ala Asp Asn Gly Pro Glu Thr Met Arg Met Ser
            260                 265                 270

Arg Gly Gly Cys Ser Gly Leu Leu Arg Cys Gly Lys Gly Thr Thr Tyr
        275                 280                 285

Glu Gly Gly Val Arg Glu Pro Ala Leu Ala Phe Trp Pro Gly His Ile
    290                 295                 300

Ala Pro Gly Val Thr His Glu Leu Ala Ser Ser Leu Asp Leu Leu Pro
305                 310                 315                 320

Thr Leu Ala Ala Leu Ala Gly Ala Pro Leu Pro Asn Val Thr Leu Asp
                325                 330                 335

Gly Phe Asp Leu Ser Pro Leu Leu Leu Gly Thr Gly Lys Ser Pro Arg
            340                 345                 350

Gln Ser Leu Phe Phe Tyr Pro Ser Tyr Pro Asp Glu Val Arg Gly Val
        355                 360                 365

Phe Ala Val Arg Thr Gly Lys Tyr Lys Ala His Phe Phe Thr Gln Gly
    370                 375                 380

Ser Ala His Ser Asp Thr Thr Ala Asp Pro Ala Cys His Ala Ser Ser
385                 390                 395                 400

Ser Leu Thr Ala His Glu Pro Pro Leu Leu Tyr Asp Leu Ser Lys Asp
                405                 410                 415

Pro Gly Glu Asn Tyr Asn Leu Leu Gly Gly Val Ala Gly Ala Thr Pro
            420                 425                 430

Glu Val Leu Gln Ala Leu Lys Gln Leu Gln Leu Leu Lys Ala Gln Leu
        435                 440                 445
```

Asp Ala Ala Val Thr Phe Gly Pro Ser Gln Val Ala Arg Gly Glu Asp
450 455 460

Pro Ala Leu Gln Ile Cys Cys His Pro Gly Cys Thr Pro Arg Pro Ala
465 470 475 480

Cys Cys His Cys Pro Asp Pro His Ala
485

<210> 260
<211> 939
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hARSA

<400> 260

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

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

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

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

325 330 335

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

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

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

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

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

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

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

Gly Ser Arg Pro Pro Asn Ile Val Leu Ile Phe Ala Asp Asp Leu Gly
450 455 460

Tyr Gly Asp Leu Gly Cys Tyr Gly His Pro Ser Ser Thr Thr Pro Asn
465 470 475 480

Leu Asp Gln Leu Ala Ala Gly Gly Leu Arg Phe Thr Asp Phe Tyr Val
485 490 495

Pro Val Ser Leu Cys Thr Pro Ser Arg Ala Ala Leu Leu Thr Gly Arg
500 505 510

Leu Pro Val Arg Met Gly Met Tyr Pro Gly Val Leu Val Pro Ser Ser
515 520 525

Arg Gly Gly Leu Pro Leu Glu Glu Val Thr Val Ala Glu Val Leu Ala

530 535 540

Ala Arg Gly Tyr Leu Thr Gly Met Ala Gly Lys Trp His Leu Gly Val
545 550 555 560

Gly Pro Glu Gly Ala Phe Leu Pro Pro His Gln Gly Phe His Arg Phe
565 570 575

Leu Gly Ile Pro Tyr Ser His Asp Gln Gly Pro Cys Gln Asn Leu Thr
580 585 590

Cys Phe Pro Pro Ala Thr Pro Cys Asp Gly Gly Cys Asp Gln Gly Leu
595 600 605

Val Pro Ile Pro Leu Leu Ala Asn Leu Ser Val Glu Ala Gln Pro Pro
610 615 620

Trp Leu Pro Gly Leu Glu Ala Arg Tyr Met Ala Phe Ala His Asp Leu
625 630 635 640

Met Ala Asp Ala Gln Arg Gln Asp Arg Pro Phe Phe Leu Tyr Tyr Ala
645 650 655

Ser His His Thr His Tyr Pro Gln Phe Ser Gly Gln Ser Phe Ala Glu
660 665 670

Arg Ser Gly Arg Gly Pro Phe Gly Asp Ser Leu Met Glu Leu Asp Ala
675 680 685

Ala Val Gly Thr Leu Met Thr Ala Ile Gly Asp Leu Gly Leu Leu Glu
690 695 700

Glu Thr Leu Val Ile Phe Thr Ala Asp Asn Gly Pro Glu Thr Met Arg
705 710 715 720

Met Ser Arg Gly Gly Cys Ser Gly Leu Leu Arg Cys Gly Lys Gly Thr
725 730 735

Thr Tyr Glu Gly Gly Val Arg Glu Pro Ala Leu Ala Phe Trp Pro Gly

740 745 750

His Ile Ala Pro Gly Val Thr His Glu Leu Ala Ser Ser Leu Asp Leu
755 760 765

Leu Pro Thr Leu Ala Ala Leu Ala Gly Ala Pro Leu Pro Asn Val Thr
770 775 780

Leu Asp Gly Phe Asp Leu Ser Pro Leu Leu Leu Gly Thr Gly Lys Ser
785 790 795 800

Pro Arg Gln Ser Leu Phe Phe Tyr Pro Ser Tyr Pro Asp Glu Val Arg
805 810 815

Gly Val Phe Ala Val Arg Thr Gly Lys Tyr Lys Ala His Phe Phe Thr
820 825 830

Gln Gly Ser Ala His Ser Asp Thr Thr Ala Asp Pro Ala Cys His Ala
835 840 845

Ser Ser Ser Leu Thr Ala His Glu Pro Pro Leu Leu Tyr Asp Leu Ser
850 855 860

Lys Asp Pro Gly Glu Asn Tyr Asn Leu Leu Gly Gly Val Ala Gly Ala
865 870 875 880

Thr Pro Glu Val Leu Gln Ala Leu Lys Gln Leu Gln Leu Leu Lys Ala
885 890 895

Gln Leu Asp Ala Ala Val Thr Phe Gly Pro Ser Gln Val Ala Arg Gly
900 905 910

Glu Asp Pro Ala Leu Gln Ile Cys Cys His Pro Gly Cys Thr Pro Arg
915 920 925

Pro Ala Cys Cys His Cys Pro Asp Pro His Ala
930 935

<210> 261

<211> 2900
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng hTfR 3 (số 2 được làm giống như của người) và hARSA, trình tự tổng hợp

<400> 261
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgaggtgca actagtgcag tctggagcag aggtgaaaaa gcccggggag 120

tctctgaaga tttcctgtaa gggttctgga tacagcttta ccaactactg gctgggatgg 180

gtgcgccaga tgcccgggaa aggcctggag tggatggggg acatctaccc cggcggagac 240

taccctacat acagcgagaa gttcaaggtc caggtcacca tctcagccga caagtccatc 300

agcaccgcct acctgcagtg gagcagcctg aaggcctcgg acaccgccat gtattactgt 360

gcgagatcag gcaattacga cgaagtggcc tactggggcc aaggaaccct ggtcaccgtc 420

tcctcagcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg caccctcctc caagagcacc 480

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 540

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 600

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 660

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt 720

gagcccaaat cttgtgacaa aactcacacg tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 780

ggaggtccgt cagtcttcct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 840

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 900

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 960

tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1020

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1080

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1140

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1200

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1260

cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1320

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1380

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaaggat ctcgtccgcc caacatcgtg 1440

ctgatctttg ccgacgacct cggctatggg gacctgggct gctatgggca ccccagctct 1500

accactccca acctggacca gctggcggcg ggagggctgc ggttcacaga cttctacgtg 1560

cctgtgtctc tgtgcacacc ctctagggcc gccctcctga ccggccggct cccggttcgg 1620

atgggcatgt accctggcgt cctggtgccc agctcccggg ggggcctgcc cctggaggag 1680

gtgaccgtgg ccgaagtcct ggctgcccga ggctacctca caggaatggc cggcaagtgg 1740

caccttgggg tggggcctga gggggccttc ctgccccccc atcagggctt ccatcgattt 1800

ctaggcatcc cgtactccca cgaccagggc ccctgccaga acctgacctg cttcccgccg 1860

gccactcctt gcgacggtgg ctgtgaccag ggcctggtcc ccatcccact gttggccaac 1920

ctgtccgtgg aggcgcagcc cccctggctg cccggactag aggcccgcta catggctttc 1980

gcccatgacc tcatggccga cgcccagcgc caggatcgcc ccttcttcct gtactatgcc 2040

tctcaccaca cccactaccc tcagttcagt gggcagagct ttgcagagcg ttcaggccgc 2100

gggccatttg gggactccct gatggagctg gatgcagctg tggggaccct gatgacagcc 2160

ataggggacc tggggctgct tgaagagacg ctggtcatct tcactgcaga caatggacct 2220

gagaccatgc gtatgtcccg aggcggctgc tccggtctct tgcggtgtgg aaagggaacg 2280

acctacgagg gcggtgtccg agagcctgcc ttggccttct ggccaggtca tatcgctccc 2340

ggcgtgaccc acgagctggc cagctccctg gacctgctgc ctaccctggc agccctggct 2400

ggggccccac tgcccaatgt caccttggat ggctttgacc tcagcccccc gctgctgggc 2460

acaggcaaga gccctcggca gtctctcttc ttctacccgt cctacccaga cgaggtccgt 2520

ggggtttttg ctgtgcggac tggaaagtac aaggctcact tcttcaccca gggctctgcc 2580

cacagtgata ccactgcaga ccctgcctgc cacgcctcca gctctctgac tgctcatgag 2640

cccccgctgc tctatgacct gtccaaggac cctggtgaga actacaacct gctggggggt 2700

gtggccgggg ccaccccaga ggtgctgcaa gccctgaaac agcttcagct gctcaaggcc 2760

cagttagacg cagctgtgac cttcggcccc agccaggtgg cccggggcga ggaccccgcc 2820

ctgcaaatct gctgtcatcc tggctgcacc ccccgcccag cttgctgcca ttgcccagat 2880

ccccatgcct aagcggccgc 2900

<210> 262
<211> 279
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 262

Asp Pro Pro Ala Pro Leu Pro Leu Val Ile Trp His Gly Met Gly Asp
1 5 10 15

Ser Cys Cys Asn Pro Leu Ser Met Gly Ala Ile Lys Lys Met Val Glu
20 25 30

Lys Lys Ile Pro Gly Ile Tyr Val Leu Ser Leu Glu Ile Gly Lys Thr
35 40 45

Leu Met Glu Asp Val Glu Asn Ser Phe Phe Leu Asn Val Asn Ser Gln
50 55 60

Val Thr Thr Val Cys Gln Ala Leu Ala Lys Asp Pro Lys Leu Gln Gln
65 70 75 80

Gly Tyr Asn Ala Met Gly Phe Ser Gln Gly Gly Gln Phe Leu Arg Ala
85 90 95

Val Ala Gln Arg Cys Pro Ser Pro Pro Met Ile Asn Leu Ile Ser Val
100 105 110

Gly Gly Gln His Gln Gly Val Phe Gly Leu Pro Arg Cys Pro Gly Glu
115 120 125

Ser Ser His Ile Cys Asp Phe Ile Arg Lys Thr Leu Asn Ala Gly Ala
130 135 140

Tyr Ser Lys Val Val Gln Glu Arg Leu Val Gln Ala Glu Tyr Trp His
145 150 155 160

Asp Pro Ile Lys Glu Asp Val Tyr Arg Asn His Ser Ile Phe Leu Ala
165 170 175

Asp Ile Asn Gln Glu Arg Gly Ile Asn Glu Ser Tyr Lys Lys Asn Leu
180 185 190

Met Ala Leu Lys Lys Phe Val Met Val Lys Phe Leu Asn Asp Ser Ile
195 200 205

Val Asp Pro Val Asp Ser Glu Trp Phe Gly Phe Tyr Arg Ser Gly Gln
210 215 220

Ala Lys Glu Thr Ile Pro Leu Gln Glu Thr Ser Leu Tyr Thr Gln Asp
225 230 235 240

Arg Leu Gly Leu Lys Glu Met Asp Asn Ala Gly Gln Leu Val Phe Leu
245 250 255

Ala Thr Glu Gly Asp His Leu Gln Leu Ser Glu Glu Trp Phe Tyr Ala
260 265 270

His Ile Ile Pro Phe Leu Gly
275

<210> 263
<211> 729
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hPPT-1

<400> 263

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

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

Trp Leu Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255

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

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

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

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

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

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

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

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

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

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

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

Gly Ser Asp Pro Pro Ala Pro Leu Pro Leu Val Ile Trp His Gly Met

450 455 460

Gly Asp Ser Cys Cys Asn Pro Leu Ser Met Gly Ala Ile Lys Lys Met
465 470 475 480

Val Glu Lys Lys Ile Pro Gly Ile Tyr Val Leu Ser Leu Glu Ile Gly
485 490 495

Lys Thr Leu Met Glu Asp Val Glu Asn Ser Phe Phe Leu Asn Val Asn
500 505 510

Ser Gln Val Thr Thr Val Cys Gln Ala Leu Ala Lys Asp Pro Lys Leu
515 520 525

Gln Gln Gly Tyr Asn Ala Met Gly Phe Ser Gln Gly Gly Gln Phe Leu
530 535 540

Arg Ala Val Ala Gln Arg Cys Pro Ser Pro Pro Met Ile Asn Leu Ile
545 550 555 560

Ser Val Gly Gly Gln His Gln Gly Val Phe Gly Leu Pro Arg Cys Pro
565 570 575

Gly Glu Ser Ser His Ile Cys Asp Phe Ile Arg Lys Thr Leu Asn Ala
580 585 590

Gly Ala Tyr Ser Lys Val Val Gln Glu Arg Leu Val Gln Ala Glu Tyr
595 600 605

Trp His Asp Pro Ile Lys Glu Asp Val Tyr Arg Asn His Ser Ile Phe
610 615 620

Leu Ala Asp Ile Asn Gln Glu Arg Gly Ile Asn Glu Ser Tyr Lys Lys
625 630 635 640

Asn Leu Met Ala Leu Lys Lys Phe Val Met Val Lys Phe Leu Asn Asp
645 650 655

Ser Ile Val Asp Pro Val Asp Ser Glu Trp Phe Gly Phe Tyr Arg Ser

660 665 670

Gly Gln Ala Lys Glu Thr Ile Pro Leu Gln Glu Thr Ser Leu Tyr Thr
675 680 685

Gln Asp Arg Leu Gly Leu Lys Glu Met Asp Asn Ala Gly Gln Leu Val
690 695 700

Phe Leu Ala Thr Glu Gly Asp His Leu Gln Leu Ser Glu Glu Trp Phe
705 710 715 720

Tyr Ala His Ile Ile Pro Phe Leu Gly
725

<210> 264
<211> 2270
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng hTfR 3 (số 2 được làm giống như của người) và hPPT-1, trình tự tổng hợp

<400> 264
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgaggtgca actagtgcag tctggagcag aggtgaaaaa gcccggggag 120

tctctgaaga tttcctgtaa gggttctgga tacagcttta ccaactactg gctgggatgg 180

gtgcgccaga tgcccgggaa aggcctggag tggatggggg acatctaccc cggcggagac 240

taccctacat acagcgagaa gttcaaggtc caggtcacca tctcagccga caagtccatc 300

agcaccgcct acctgcagtg gagcagcctg aaggcctcgg acaccgccat gtattactgt 360

gcgagatcag gcaattacga cgaagtggcc tactggggcc aaggaaccct ggtcaccgtc 420

tcctcagcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg caccctcctc caagagcacc 480

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 540

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 600

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 660

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt 720

gagcccaaat cttgtgacaa aactcacacg tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 780

ggaggtccgt cagtcttcct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 840

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 900

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 960

tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1020

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1080

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1140

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1200

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1260

cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1320

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1380

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaaggat ctgacccgcc ggcgccgctg 1440

ccgttggtga tctggcatgg gatgggagac agctgttgca atcccttaag catgggtgct 1500

attaaaaaaa tggtggagaa gaaaatacct ggaatttacg tcttatcttt agagattggg 1560

aagaccctga tggaggacgt ggagaacagc ttcttcttga atgtcaattc ccaagtaaca 1620

acagtgtgtc aggcacttgc taaagatcct aaattgcagc aaggctacaa tgctatggga 1680

ttctcccagg gaggccaatt tctgagggca gtggctcaga gatgcccttc acctcccatg 1740

atcaatctga tctcggttgg gggacaacat caaggtgttt ttggactccc tcgatgccca 1800

ggagagagct ctcacatctg tgacttcatc cgaaaaacac tgaatgctgg ggcgtactcc 1860

aaagttgttc aggaacgcct cgtgcaagcc gaatactggc atgaccccat aaaggaggat 1920

gtgtatcgca accacagcat cttcttggca gatataaatc aggagcgggg tatcaatgag 1980

tcctacaaga aaaacctgat ggccctgaag aagtttgtga tggtgaaatt cctcaatgat 2040

tccattgtgg accctgtaga ttcggagtgg tttggatttt acagaagtgg ccaagccaag 2100

gaaaccattc ccttacagga gacctccctg tacacacagg accgcctggg gctaaaggaa 2160

atggacaatg caggacagct agtgtttctg gctacagaag gggaccatct tcagttgtct 2220

gaagaatggt tttatgccca catcatacca ttccttggat aagcggccgc 2270

<210> 265
<211> 544
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 265

Ser Tyr Ser Pro Glu Pro Asp Gln Arg Arg Thr Leu Pro Pro Gly Trp
1 5 10 15

Val Ser Leu Gly Arg Ala Asp Pro Glu Glu Glu Leu Ser Leu Thr Phe
20 25 30

Ala Leu Arg Gln Gln Asn Val Glu Arg Leu Ser Glu Leu Val Gln Ala
35 40 45

Val Ser Asp Pro Ser Ser Pro Gln Tyr Gly Lys Tyr Leu Thr Leu Glu
50 55 60

Asn Val Ala Asp Leu Val Arg Pro Ser Pro Leu Thr Leu His Thr Val
65 70 75 80

Gln Lys Trp Leu Leu Ala Ala Gly Ala Gln Lys Cys His Ser Val Ile
85 90 95

Thr Gln Asp Phe Leu Thr Cys Trp Leu Ser Ile Arg Gln Ala Glu Leu
100 105 110

Leu Leu Pro Gly Ala Glu Phe His His Tyr Val Gly Gly Pro Thr Glu
115 120 125

Thr His Val Val Arg Ser Pro His Pro Tyr Gln Leu Pro Gln Ala Leu
130 135 140

Ala Pro His Val Asp Phe Val Gly Gly Leu His His Phe Pro Pro Thr
145 150 155 160

Ser Ser Leu Arg Gln Arg Pro Glu Pro Gln Val Thr Gly Thr Val Gly
165 170 175

Leu His Leu Gly Val Thr Pro Ser Val Ile Arg Lys Arg Tyr Asn Leu
180 185 190

Thr Ser Gln Asp Val Gly Ser Gly Thr Ser Asn Asn Ser Gln Ala Cys
195 200 205

Ala Gln Phe Leu Glu Gln Tyr Phe His Asp Ser Asp Leu Ala Gln Phe
210 215 220

Met Arg Leu Phe Gly Gly Asn Phe Ala His Gln Ala Ser Val Ala Arg
225 230 235 240

Val Val Gly Gln Gln Gly Arg Gly Arg Ala Gly Ile Glu Ala Ser Leu
245 250 255

Asp Val Gln Tyr Leu Met Ser Ala Gly Ala Asn Ile Ser Thr Trp Val
260 265 270

Tyr Ser Ser Pro Gly Arg His Glu Gly Gln Glu Pro Phe Leu Gln Trp
275 280 285

Leu Met Leu Leu Ser Asn Glu Ser Ala Leu Pro His Val His Thr Val
290 295 300

Ser Tyr Gly Asp Asp Glu Asp Ser Leu Ser Ser Ala Tyr Ile Gln Arg
305 310 315 320

Val Asn Thr Glu Leu Met Lys Ala Ala Ala Arg Gly Leu Thr Leu Leu
325 330 335

Phe Ala Ser Gly Asp Ser Gly Ala Gly Cys Trp Ser Val Ser Gly Arg
340 345 350

His Gln Phe Arg Pro Thr Phe Pro Ala Ser Ser Pro Tyr Val Thr Thr
355 360 365

Val Gly Gly Thr Ser Phe Gln Glu Pro Phe Leu Ile Thr Asn Glu Ile
370 375 380

Val Asp Tyr Ile Ser Gly Gly Gly Phe Ser Asn Val Phe Pro Arg Pro
385 390 395 400

Ser Tyr Gln Glu Glu Ala Val Thr Lys Phe Leu Ser Ser Ser Pro His
405 410 415

Leu Pro Pro Ser Ser Tyr Phe Asn Ala Ser Gly Arg Ala Tyr Pro Asp
420 425 430

Val Ala Ala Leu Ser Asp Gly Tyr Trp Val Val Ser Asn Arg Val Pro
435 440 445

Ile Pro Trp Val Ser Gly Thr Ser Ala Ser Thr Pro Val Phe Gly Gly
450 455 460

Ile Leu Ser Leu Ile Asn Glu His Arg Ile Leu Ser Gly Arg Pro Pro
465 470 475 480

Leu Gly Phe Leu Asn Pro Arg Leu Tyr Gln Gln His Gly Ala Gly Leu
485 490 495

Phe Asp Val Thr Arg Gly Cys His Glu Ser Cys Leu Asp Glu Glu Val
500 505 510

Glu Gly Gln Gly Phe Cys Ser Gly Pro Gly Trp Asp Pro Val Thr Gly
515 520 525

Trp Gly Thr Pro Asn Phe Pro Ala Leu Leu Lys Thr Leu Leu Asn Pro
530 535 540

<210> 266
<211> 994
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hTPP-1

<400> 266

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

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

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

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
                325                 330                 335

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

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

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

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

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

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

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

Gly Ser Ser Tyr Ser Pro Glu Pro Asp Gln Arg Arg Thr Leu Pro Pro
450 455 460

Gly Trp Val Ser Leu Gly Arg Ala Asp Pro Glu Glu Glu Leu Ser Leu
465 470 475 480

Thr Phe Ala Leu Arg Gln Gln Asn Val Glu Arg Leu Ser Glu Leu Val
485 490 495

Gln Ala Val Ser Asp Pro Ser Ser Pro Gln Tyr Gly Lys Tyr Leu Thr
500 505 510

Leu Glu Asn Val Ala Asp Leu Val Arg Pro Ser Pro Leu Thr Leu His
515 520 525

Thr Val Gln Lys Trp Leu Leu Ala Ala Gly Ala Gln Lys Cys His Ser
530 535 540

Val Ile Thr Gln Asp Phe Leu Thr Cys Trp Leu Ser Ile Arg Gln Ala
545 550 555 560

Glu Leu Leu Leu Pro Gly Ala Glu Phe His His Tyr Val Gly Gly Pro
565 570 575

Thr Glu Thr His Val Val Arg Ser Pro His Pro Tyr Gln Leu Pro Gln
580 585 590

Ala Leu Ala Pro His Val Asp Phe Val Gly Gly Leu His His Phe Pro
595 600 605

Pro Thr Ser Ser Leu Arg Gln Arg Pro Glu Pro Gln Val Thr Gly Thr
610 615 620

Val Gly Leu His Leu Gly Val Thr Pro Ser Val Ile Arg Lys Arg Tyr
625 630 635 640

Asn Leu Thr Ser Gln Asp Val Gly Ser Gly Thr Ser Asn Asn Ser Gln
645 650 655

Ala Cys Ala Gln Phe Leu Glu Gln Tyr Phe His Asp Ser Asp Leu Ala
660 665 670

Gln Phe Met Arg Leu Phe Gly Gly Asn Phe Ala His Gln Ala Ser Val
675 680 685

Ala Arg Val Val Gly Gln Gln Gly Arg Gly Arg Ala Gly Ile Glu Ala
690 695 700

Ser Leu Asp Val Gln Tyr Leu Met Ser Ala Gly Ala Asn Ile Ser Thr
705 710 715 720

Trp Val Tyr Ser Ser Pro Gly Arg His Glu Gly Gln Glu Pro Phe Leu
725 730 735

Gln Trp Leu Met Leu Leu Ser Asn Glu Ser Ala Leu Pro His Val His
740 745 750

Thr Val Ser Tyr Gly Asp Asp Glu Asp Ser Leu Ser Ser Ala Tyr Ile
755 760 765

Gln Arg Val Asn Thr Glu Leu Met Lys Ala Ala Ala Arg Gly Leu Thr
770 775 780

Leu Leu Phe Ala Ser Gly Asp Ser Gly Ala Gly Cys Trp Ser Val Ser
785 790 795 800

Gly Arg His Gln Phe Arg Pro Thr Phe Pro Ala Ser Ser Pro Tyr Val
805 810 815

Thr Thr Val Gly Gly Thr Ser Phe Gln Glu Pro Phe Leu Ile Thr Asn
820 825 830

Glu Ile Val Asp Tyr Ile Ser Gly Gly Gly Phe Ser Asn Val Phe Pro
835 840 845

Arg Pro Ser Tyr Gln Glu Glu Ala Val Thr Lys Phe Leu Ser Ser Ser
850 855 860

Pro His Leu Pro Pro Ser Ser Tyr Phe Asn Ala Ser Gly Arg Ala Tyr
865 870 875 880

Pro Asp Val Ala Ala Leu Ser Asp Gly Tyr Trp Val Val Ser Asn Arg
885 890 895

Val Pro Ile Pro Trp Val Ser Gly Thr Ser Ala Ser Thr Pro Val Phe
900 905 910

Gly Gly Ile Leu Ser Leu Ile Asn Glu His Arg Ile Leu Ser Gly Arg
915 920 925

Pro Pro Leu Gly Phe Leu Asn Pro Arg Leu Tyr Gln Gln His Gly Ala
930 935 940

Gly Leu Phe Asp Val Thr Arg Gly Cys His Glu Ser Cys Leu Asp Glu
945 950 955 960

Glu Val Glu Gly Gln Gly Phe Cys Ser Gly Pro Gly Trp Asp Pro Val
965 970 975

Thr Gly Trp Gly Thr Pro Asn Phe Pro Ala Leu Leu Lys Thr Leu Leu
980 985 990

Asn Pro

<210> 267
<211> 3065
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng hTfR 3 (số 2 được làm giống như của người) và hTPP-1, trình tự tổng hợp

<400> 267

acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgaggtgca actagtgcag tctggagcag aggtgaaaaa gcccggggag 120

tctctgaaga tttcctgtaa gggttctgga tacagcttta ccaactactg gctgggatgg 180

gtgcgccaga tgcccgggaa aggcctggag tggatggggg acatctaccc cggcggagac 240

taccctacat acagcgagaa gttcaaggtc caggtcacca tctcagccga caagtccatc 300

agcaccgcct acctgcagtg gagcagcctg aaggcctcgg acaccgccat gtattactgt 360

gcgagatcag gcaattacga cgaagtggcc tactggggcc aaggaaccct ggtcaccgtc 420

tcctcagcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg caccctcctc caagagcacc 480

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 540

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 600

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 660

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt 720

gagcccaaat cttgtgacaa aactcacacg tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 780

ggaggtccgt cagtcttcct cttccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 840

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 900

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 960

tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1020

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1080

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1140

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1200

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1260

cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1320

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1380

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaaggat ctagttacag cccggagccc 1440

gaccagcgga ggacgctgcc cccaggctgg gtgtccctgg gccgtgcgga ccctgaggaa 1500

gagctgagtc tcacctttgc cctgagacag cagaatgtgg aaagactctc ggagctggtg 1560

caggctgtgt cagatcccag ctctcctcaa tacggaaaat acctgaccct agagaatgtg 1620

gctgatctgg tgaggccatc cccactgacc ctccacacgg tgcaaaaatg gctcttggca 1680

gccggagccc agaagtgcca ttctgtgatc acacaggact ttctgacttg ctggctgagc 1740

atccgacaag cagagctgct gctccctggg gctgagtttc atcactatgt gggaggacct 1800

acggaaaccc atgttgtaag gtccccacat ccctaccagc ttccacaggc cttggccccc 1860

catgtggact ttgtgggggg actgcaccat tttcccccaa catcatccct gaggcaacgt 1920

cctgagccgc aggtgacagg gactgtaggc ctgcatctgg gggtaacccc ctctgtgatc 1980

cgtaagcgat acaacttgac ctcacaagac gtgggctctg gcaccagcaa taacagccaa 2040

gcctgtgccc agttcctgga gcagtatttc catgactcag acctggctca gttcatgcgc 2100

ctcttcggtg gcaactttgc acatcaggca tcagtagccc gtgtggttgg acaacagggc 2160

cggggccggg ccgggattga ggccagtcta gatgtgcagt acctgatgag tgctggtgcc 2220

aacatctcca cctgggtcta cagtagccct ggccggcatg agggacagga gcccttcctg 2280

cagtggctca tgctgctcag taatgagtca gccctgccac atgtgcatac tgtgagctat 2340

ggagatgatg aggactccct cagcagcgcc tacatccagc gggtcaacac tgagctcatg 2400

aaggctgctg ctcggggtct caccctgctc ttcgcctcag gtgacagtgg ggccgggtgt 2460

tggtctgtct ctggaagaca ccagttccgc cctaccttcc ctgcctccag cccctatgtc 2520

accacagtgg gaggcacatc cttccaggaa cctttcctca tcacaaatga aattgttgac 2580

tatatcagtg gtggtggctt cagcaatgtg ttcccacggc cttcatacca ggaggaagct 2640

gtaacgaagt tcctgagctc tagccccCac ctgccaccat ccagttactt caatgccagt 2700

ggccgtgcct acccagatgt ggctgcactt tctgatggct actgggtggt cagcaacaga 2760

gtgcccattc catgggtgtc cggaacctcg gcctctactc cagtgtttgg gggtatccta 2820

tccttgatca atgagcacag aatccttagt ggccgccccc ctcttggctt tctcaaccca 2880

aggctctacc agcagcatgg ggcaggactc tttgatgtaa cccgtggctg ccatgagtcc 2940

tgtctggatg aagaggtaga gggccagggt ttctgctctg gtcctggctg ggaccctgta 3000

acaggctggg gaacacccaa cttcccagct ttgctgaaga ctctactcaa cccctaagcg 3060

gccgc 3065

<210> 268
<211> 628
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 268

Ala Glu Ala Pro His Leu Val His Val Asp Ala Ala Arg Ala Leu Trp
1 5 10 15

Pro Leu Arg Arg Phe Trp Arg Ser Thr Gly Phe Cys Pro Pro Leu Pro
20 25 30

His Ser Gln Ala Asp Gln Tyr Val Leu Ser Trp Asp Gln Gln Leu Asn
35 40 45

Leu Ala Tyr Val Gly Ala Val Pro His Arg Gly Ile Lys Gln Val Arg
50 55 60

Thr His Trp Leu Leu Glu Leu Val Thr Thr Arg Gly Ser Thr Gly Arg
65 70 75 80

Gly Leu Ser Tyr Asn Phe Thr His Leu Asp Gly Tyr Leu Asp Leu Leu
85 90 95

Arg Glu Asn Gln Leu Leu Pro Gly Phe Glu Leu Met Gly Ser Ala Ser
100 105 110

Gly His Phe Thr Asp Phe Glu Asp Lys Gln Gln Val Phe Glu Trp Lys
115 120 125

Asp Leu Val Ser Ser Leu Ala Arg Arg Tyr Ile Gly Arg Tyr Gly Leu
130 135 140

Ala His Val Ser Lys Trp Asn Phe Glu Thr Trp Asn Glu Pro Asp His
145 150 155 160

```
His Asp Phe Asp Asn Val Ser Met Thr Met Gln Gly Phe Leu Asn Tyr
                165                 170                 175

Tyr Asp Ala Cys Ser Glu Gly Leu Arg Ala Ala Ser Pro Ala Leu Arg
            180                 185                 190

Leu Gly Gly Pro Gly Asp Ser Phe His Thr Pro Pro Arg Ser Pro Leu
        195                 200                 205

Ser Trp Gly Leu Leu Arg His Cys His Asp Gly Thr Asn Phe Phe Thr
    210                 215                 220

Gly Glu Ala Gly Val Arg Leu Asp Tyr Ile Ser Leu His Arg Lys Gly
225                 230                 235                 240

Ala Arg Ser Ser Ile Ser Ile Leu Glu Gln Glu Lys Val Val Ala Gln
                245                 250                 255

Gln Ile Arg Gln Leu Phe Pro Lys Phe Ala Asp Thr Pro Ile Tyr Asn
            260                 265                 270

Asp Glu Ala Asp Pro Leu Val Gly Trp Ser Leu Pro Gln Pro Trp Arg
        275                 280                 285

Ala Asp Val Thr Tyr Ala Ala Met Val Val Lys Val Ile Ala Gln His
    290                 295                 300

Gln Asn Leu Leu Leu Ala Asn Thr Thr Ser Ala Phe Pro Tyr Ala Leu
305                 310                 315                 320

Leu Ser Asn Asp Asn Ala Phe Leu Ser Tyr His Pro His Pro Phe Ala
                325                 330                 335

Gln Arg Thr Leu Thr Ala Arg Phe Gln Val Asn Asn Thr Arg Pro Pro
            340                 345                 350

His Val Gln Leu Leu Arg Lys Pro Val Leu Thr Ala Met Gly Leu Leu
        355                 360                 365
```

```
Ala Leu Leu Asp Glu Glu Gln Leu Trp Ala Glu Val Ser Gln Ala Gly
    370                 375                 380

Thr Val Leu Asp Ser Asn His Thr Val Gly Val Leu Ala Ser Ala His
385                 390                 395                 400

Arg Pro Gln Gly Pro Ala Asp Ala Trp Arg Ala Ala Val Leu Ile Tyr
                405                 410                 415

Ala Ser Asp Asp Thr Arg Ala His Pro Asn Arg Ser Val Ala Val Thr
            420                 425                 430

Leu Arg Leu Arg Gly Val Pro Pro Gly Pro Gly Leu Val Tyr Val Thr
        435                 440                 445

Arg Tyr Leu Asp Asn Gly Leu Cys Ser Pro Asp Gly Glu Trp Arg Arg
    450                 455                 460

Leu Gly Arg Pro Val Phe Pro Thr Ala Glu Gln Phe Arg Arg Met Arg
465                 470                 475                 480

Ala Ala Glu Asp Pro Val Ala Ala Ala Pro Arg Pro Leu Pro Ala Gly
                485                 490                 495

Gly Arg Leu Thr Leu Arg Pro Ala Leu Arg Leu Pro Ser Leu Leu Leu
            500                 505                 510

Val His Val Cys Ala Arg Pro Glu Lys Pro Pro Gly Gln Val Thr Arg
        515                 520                 525

Leu Arg Ala Leu Pro Leu Thr Gln Gly Gln Leu Val Leu Val Trp Ser
    530                 535                 540

Asp Glu His Val Gly Ser Lys Cys Leu Trp Thr Tyr Glu Ile Gln Phe
545                 550                 555                 560

Ser Gln Asp Gly Lys Ala Tyr Thr Pro Val Ser Arg Lys Pro Ser Thr
                565                 570                 575
```

Phe Asn Leu Phe Val Phe Ser Pro Asp Thr Gly Ala Val Ser Gly Ser
580 585 590

Tyr Arg Val Arg Ala Leu Asp Tyr Trp Ala Arg Pro Gly Pro Phe Ser
595 600 605

Asp Pro Val Pro Tyr Leu Glu Val Pro Val Pro Arg Gly Pro Pro Ser
610 615 620

Pro Gly Asn Pro
625

<210> 269
<211> 1078
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hIDUA

<400> 269

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

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

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

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

```
Ala Arg Ser Gly Asn Tyr Asp Glu Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
                325                 330                 335

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

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

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

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

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

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

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

Gly Ser Ala Glu Ala Pro His Leu Val His Val Asp Ala Ala Arg Ala
    450                 455                 460

Leu Trp Pro Leu Arg Arg Phe Trp Arg Ser Thr Gly Phe Cys Pro Pro
465                 470                 475                 480

Leu Pro His Ser Gln Ala Asp Gln Tyr Val Leu Ser Trp Asp Gln Gln
                485                 490                 495

Leu Asn Leu Ala Tyr Val Gly Ala Val Pro His Arg Gly Ile Lys Gln
            500                 505                 510
```

Val Arg Thr His Trp Leu Leu Glu Leu Val Thr Thr Arg Gly Ser Thr
515 520 525

Gly Arg Gly Leu Ser Tyr Asn Phe Thr His Leu Asp Gly Tyr Leu Asp
530 535 540

Leu Leu Arg Glu Asn Gln Leu Leu Pro Gly Phe Glu Leu Met Gly Ser
545 550 555 560

Ala Ser Gly His Phe Thr Asp Phe Glu Asp Lys Gln Gln Val Phe Glu
565 570 575

Trp Lys Asp Leu Val Ser Ser Leu Ala Arg Arg Tyr Ile Gly Arg Tyr
580 585 590

Gly Leu Ala His Val Ser Lys Trp Asn Phe Glu Thr Trp Asn Glu Pro
595 600 605

Asp His His Asp Phe Asp Asn Val Ser Met Thr Met Gln Gly Phe Leu
610 615 620

Asn Tyr Tyr Asp Ala Cys Ser Glu Gly Leu Arg Ala Ala Ser Pro Ala
625 630 635 640

Leu Arg Leu Gly Gly Pro Gly Asp Ser Phe His Thr Pro Pro Arg Ser
645 650 655

Pro Leu Ser Trp Gly Leu Leu Arg His Cys His Asp Gly Thr Asn Phe
660 665 670

Phe Thr Gly Glu Ala Gly Val Arg Leu Asp Tyr Ile Ser Leu His Arg
675 680 685

Lys Gly Ala Arg Ser Ser Ile Ser Ile Leu Glu Gln Glu Lys Val Val
690 695 700

Ala Gln Gln Ile Arg Gln Leu Phe Pro Lys Phe Ala Asp Thr Pro Ile
705 710 715 720

```
Tyr Asn Asp Glu Ala Asp Pro Leu Val Gly Trp Ser Leu Pro Gln Pro
                725                 730                 735

Trp Arg Ala Asp Val Thr Tyr Ala Ala Met Val Val Lys Val Ile Ala
            740                 745                 750

Gln His Gln Asn Leu Leu Leu Ala Asn Thr Thr Ser Ala Phe Pro Tyr
        755                 760                 765

Ala Leu Leu Ser Asn Asp Asn Ala Phe Leu Ser Tyr His Pro His Pro
    770                 775                 780

Phe Ala Gln Arg Thr Leu Thr Ala Arg Phe Gln Val Asn Asn Thr Arg
785                 790                 795                 800

Pro Pro His Val Gln Leu Leu Arg Lys Pro Val Leu Thr Ala Met Gly
                805                 810                 815

Leu Leu Ala Leu Leu Asp Glu Glu Gln Leu Trp Ala Glu Val Ser Gln
            820                 825                 830

Ala Gly Thr Val Leu Asp Ser Asn His Thr Val Gly Val Leu Ala Ser
        835                 840                 845

Ala His Arg Pro Gln Gly Pro Ala Asp Ala Trp Arg Ala Ala Val Leu
    850                 855                 860

Ile Tyr Ala Ser Asp Asp Thr Arg Ala His Pro Asn Arg Ser Val Ala
865                 870                 875                 880

Val Thr Leu Arg Leu Arg Gly Val Pro Pro Gly Pro Gly Leu Val Tyr
                885                 890                 895

Val Thr Arg Tyr Leu Asp Asn Gly Leu Cys Ser Pro Asp Gly Glu Trp
            900                 905                 910

Arg Arg Leu Gly Arg Pro Val Phe Pro Thr Ala Glu Gln Phe Arg Arg
        915                 920                 925
```

Met Arg Ala Ala Glu Asp Pro Val Ala Ala Ala Pro Arg Pro Leu Pro
930 935 940

Ala Gly Gly Arg Leu Thr Leu Arg Pro Ala Leu Arg Leu Pro Ser Leu
945 950 955 960

Leu Leu Val His Val Cys Ala Arg Pro Glu Lys Pro Pro Gly Gln Val
965 970 975

Thr Arg Leu Arg Ala Leu Pro Leu Thr Gln Gly Gln Leu Val Leu Val
980 985 990

Trp Ser Asp Glu His Val Gly Ser Lys Cys Leu Trp Thr Tyr Glu Ile
995 1000 1005

Gln Phe Ser Gln Asp Gly Lys Ala Tyr Thr Pro Val Ser Arg Lys
1010 1015 1020

Pro Ser Thr Phe Asn Leu Phe Val Phe Ser Pro Asp Thr Gly Ala
1025 1030 1035

Val Ser Gly Ser Tyr Arg Val Arg Ala Leu Asp Tyr Trp Ala Arg
1040 1045 1050

Pro Gly Pro Phe Ser Asp Pro Val Pro Tyr Leu Glu Val Pro Val
1055 1060 1065

Pro Arg Gly Pro Pro Ser Pro Gly Asn Pro
1070 1075

<210> 270
<211> 3317
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng hTfR 3 (số 2 được làm giống như của người) và hIDUA, trình tự tổng hợp

<400> 270
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgaggtgca actagtgcag tctggagcag aggtgaaaaa gcccggggag 120

tctctgaaga tttcctgtaa gggttctgga tacagcttta ccaactactg gctgggatgg 180

gtgcgccaga tgcccgggaa aggcctggag tggatggggg acatctaccc cggcggagac 240

taccctacat acagcgagaa gttcaaggtc caggtcacca tctcagccga caagtccatc 300

agcaccgcct acctgcagtg gagcagcctg aaggcctcgg acaccgccat gtattactgt 360

gcgagatcag gcaattacga cgaagtggcc tactggggcc aaggaaccct ggtcaccgtc 420

tcctcagcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg caccctcctc caagagcacc 480

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 540

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 600

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 660

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt 720

gagcccaaat cttgtgacaa aactcacacg tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 780

ggaggtccgt cagtcttcct cttccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 840

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 900

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 960

tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1020

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1080

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1140

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1200

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1260

cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1320

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1380

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaaggat ctgccgaggc cccgcacctg 1440

gtgcacgtgg acgcggcccg cgcgctgtgg cccctgcggc gcttctggag gagcacaggc 1500

ttctgccccc cgctgccaca cagccaggct gaccagtacg tcctcagctg ggaccagcag 1560

ctcaacctcg cctatgtggg cgccgtccct caccgcggca tcaagcaggt ccggacccac 1620

tggctgctgg agcttgtcac caccaggggg tccactggac ggggcctgag ctacaacttc 1680

acccacctgg acgggtactt ggaccttctc agggagaacc agctcctccc agggtttgag 1740

ctgatgggca gcgcctcggg ccacttcact gactttgagg acaagcagca ggtgtttgag 1800

tggaaggact tggtctccag cctggccagg agatacatcg gtaggtacgg actggcgcat 1860

gtttccaagt ggaacttcga gacgtggaat gagccagacc accacgactt tgacaacgtc 1920

tccatgacca tgcaaggctt cctgaactac tacgatgcct gctcggaggg tctgcgcgcc 1980

gccagccccg ccctgcggct gggaggcccc ggcgactcct tccacacccc accgcgatcc 2040

ccgctgagct ggggcctcct gcgccactgc cacgacggta ccaacttctt cactggggag 2100

gcgggcgtgc ggctggacta catctccctc cacaggaagg gtgcgcgcag ctccatctcc 2160

atcctggagc aggagaaggt cgtcgcgcag cagatccggc agctcttccc caagttcgcg 2220

gacaccccca tttacaacga cgaggcggac ccgctggtgg gctggtccct gccacagccg 2280

tggagggcgg acgtgaccta cgcggccatg gtggtgaagg tcatcgcgca gcatcagaac 2340

ctgctactgg ccaacaccac ctccgccttc ccctacgcgc tcctgagcaa cgacaatgcc 2400

ttcctgagct accacccgca ccccttcgcg cagcgcacgc tcaccgcgcg cttccaggtc 2460

aacaacaccc gcccgccgca cgtgcagctg ttgcgcaagc cggtgctcac ggccatgggg 2520

ctgctggcgc tgctggatga ggagcagctc tgggccgaag tgtcgcaggc cgggaccgtc 2580

ctggacagca accacacggt gggcgtcctg gccagcgccc accgccccca gggcccggcc 2640

gacgcctggc gcgccgcggt gctgatctac gcgagcgacg acacccgcgc ccaccccaac 2700

cgcagcgtcg cggtgaccct gcggctgcgc ggggtgcccc ccggcccggg cctggtctac 2760

gtcacgcgct acctggacaa cgggctctgc agccccgacg gcgagtggcg gcgcctgggc 2820

cggcccgtct tccccacggc agagcagttc cggcgcatgc gcgcggctga ggacccggtg 2880

gccgcggcgc cccgcccctt acccgccggt ggccgcctga ccctgcgccc cgcgctgcgg 2940

ctgccgtcgc ttttgctggt gcacgtgtgt gcgcgccccg agaagccgcc cgggcaggtc 3000

acgcggctcc gcgccctgcc cctgacccaa gggcagctgg ttctggtctg gtcggatgaa 3060

cacgtgggct ccaagtgcct gtggacatac gagatccagt tctctcagga cggtaaggcg 3120

tacaccccgg tcagcaggaa gccatcgacc ttcaacctct ttgtgttcag cccagacaca 3180

ggtgctgtct ctggctccta ccgagttcga gccctggact actgggcccg accaggcccc 3240

ttctcggacc ctgtgccgta cctggaggtc cctgtgccaa gagggccccc atccccgggc 3300

aatccataag cggccgc 3317

<210> 271
<211> 235
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 271

Leu Pro Ala Gln Val Ala Phe Thr Pro Tyr Ala Pro Glu Pro Gly Ser
1 5 10 15

Thr Cys Arg Leu Arg Glu Tyr Tyr Asp Gln Thr Ala Gln Met Cys Cys
20 25 30

Ser Lys Cys Ser Pro Gly Gln His Ala Lys Val Phe Cys Thr Lys Thr
35 40 45

Ser Asp Thr Val Cys Asp Ser Cys Glu Asp Ser Thr Tyr Thr Gln Leu
50 55 60

Trp Asn Trp Val Pro Glu Cys Leu Ser Cys Gly Ser Arg Cys Ser Ser
65 70 75 80

Asp Gln Val Glu Thr Gln Ala Cys Thr Arg Glu Gln Asn Arg Ile Cys
85 90 95

Thr Cys Arg Pro Gly Trp Tyr Cys Ala Leu Ser Lys Gln Glu Gly Cys
100 105 110

Arg Leu Cys Ala Pro Leu Arg Lys Cys Arg Pro Gly Phe Gly Val Ala
115 120 125

Arg Pro Gly Thr Glu Thr Ser Asp Val Val Cys Lys Pro Cys Ala Pro
130 135 140

Gly Thr Phe Ser Asn Thr Thr Ser Ser Thr Asp Ile Cys Arg Pro His

145 150 155 160

Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Ile Pro Gly Asn Ala Ser Met Asp Ala
165 170 175

Val Cys Thr Ser Thr Ser Pro Thr Arg Ser Met Ala Pro Gly Ala Val
180 185 190

His Leu Pro Gln Pro Val Ser Thr Arg Ser Gln His Thr Gln Pro Thr
195 200 205

Pro Glu Pro Ser Thr Ala Pro Ser Thr Ser Phe Leu Leu Pro Met Gly
210 215 220

Pro Ser Pro Pro Ala Glu Gly Ser Thr Gly Asp
225 230 235

<210> 272
<211> 685
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và thụ thể hTNF-alpha

<400> 272

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

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

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

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

Lys Val Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

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

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

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

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

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

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

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

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

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

Gly Ser Leu Pro Ala Gln Val Ala Phe Thr Pro Tyr Ala Pro Glu Pro
450 455 460

Gly Ser Thr Cys Arg Leu Arg Glu Tyr Tyr Asp Gln Thr Ala Gln Met
465 470 475 480

Cys Cys Ser Lys Cys Ser Pro Gly Gln His Ala Lys Val Phe Cys Thr

485 490 495

Lys Thr Ser Asp Thr Val Cys Asp Ser Cys Glu Asp Ser Thr Tyr Thr
500 505 510

Gln Leu Trp Asn Trp Val Pro Glu Cys Leu Ser Cys Gly Ser Arg Cys
515 520 525

Ser Ser Asp Gln Val Glu Thr Gln Ala Cys Thr Arg Glu Gln Asn Arg
530 535 540

Ile Cys Thr Cys Arg Pro Gly Trp Tyr Cys Ala Leu Ser Lys Gln Glu
545 550 555 560

Gly Cys Arg Leu Cys Ala Pro Leu Arg Lys Cys Arg Pro Gly Phe Gly
565 570 575

Val Ala Arg Pro Gly Thr Glu Thr Ser Asp Val Val Cys Lys Pro Cys
580 585 590

Ala Pro Gly Thr Phe Ser Asn Thr Thr Ser Ser Thr Asp Ile Cys Arg
595 600 605

Pro His Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Ile Pro Gly Asn Ala Ser Met
610 615 620

Asp Ala Val Cys Thr Ser Thr Ser Pro Thr Arg Ser Met Ala Pro Gly
625 630 635 640

Ala Val His Leu Pro Gln Pro Val Ser Thr Arg Ser Gln His Thr Gln
645 650 655

Pro Thr Pro Glu Pro Ser Thr Ala Pro Ser Thr Ser Phe Leu Leu Pro
660 665 670

Met Gly Pro Ser Pro Pro Ala Glu Gly Ser Thr Gly Asp
675 680 685

<210> 273

<211> 2138
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng hTfR 3 (số 2 được làm giống như của người) và thụ thể hTNF-alpha, trình tự tổng hợp

<400> 273
acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgaggtgca actagtgcag tctggagcag aggtgaaaaa gcccggggag 120

tctctgaaga tttcctgtaa gggttctgga tacagcttta ccaactactg gctgggatgg 180

gtgcgccaga tgcccgggaa aggcctggag tggatggggg acatctaccc cggcggagac 240

taccctacat acagcgagaa gttcaaggtc caggtcacca tctcagccga caagtccatc 300

agcaccgcct acctgcagtg gagcagcctg aaggcctcgg acaccgccat gtattactgt 360

gcgagatcag gcaattacga cgaagtggcc tactggggcc aaggaaccct ggtcaccgtc 420

tcctcagcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg caccctcctc caagagcacc 480

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 540

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 600

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 660

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt 720

gagcccaaat cttgtgacaa aactcacacg tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 780

ggaggtccgt cagtcttcct cttccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 840

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 900

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 960

tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1020

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1080

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1140

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1200

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1260

cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1320

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1380

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaaggat ctttgcccgc ccaggtggca 1440

tttacaccct acgccccgga gcccgggagc acatgccggc tcagagaata ctatgaccag 1500

acagctcaga tgtgctgcag caagtgctcg ccgggccaac atgcaaaagt cttctgtacc 1560

aagacctcgg acaccgtgtg tgactcctgt gaggacagca catacaccca gctctggaac 1620

tgggttcccg agtgcttgag ctgtggctcc cgctgtagct ctgaccaggt ggaaactcaa 1680

gcctgcactc gggaacagaa ccgcatctgc acctgcaggc ccggctggta ctgcgcgctg 1740

agcaagcagg aggggtgccg gctgtgcgcg ccgctgcgca agtgccgccc gggcttcggc 1800

gtggccagac caggaactga aacatcagac gtggtgtgca agccctgtgc cccggggacg 1860

ttctccaaca cgacttcatc cacggatatt tgcaggcccc accaaatctg taacgtggtg 1920

gccatccctg ggaatgcaag catggatgca gtctgcacgt ccacgtcccc cacccggagt 1980

atggccccag gggcagtaca cttaccccag ccagtgtcca cacgatccca acacacgcag 2040

ccaactccag aacccagcac tgctccaagc acctccttcc tgctcccaat gggccccagc 2100

cccccagctg aagggagcac tggcgactaa gcggccgc 2138

<210> 274
<211> 482
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 274

Arg Pro Arg Asn Ala Leu Leu Leu Leu Ala Asp Asp Gly Gly Phe Glu
1 5 10 15

Ser Gly Ala Tyr Asn Asn Ser Ala Ile Ala Thr Pro His Leu Asp Ala
20 25 30

Leu Ala Arg Arg Ser Leu Leu Phe Arg Asn Ala Phe Thr Ser Val Ser
35 40 45

Ser Cys Ser Pro Ser Arg Ala Ser Leu Leu Thr Gly Leu Pro Gln His
50 55 60

Gln Asn Gly Met Tyr Gly Leu His Gln Asp Val His His Phe Asn Ser
65 70 75 80

Phe Asp Lys Val Arg Ser Leu Pro Leu Leu Leu Ser Gln Ala Gly Val
85 90 95

Arg Thr Gly Ile Ile Gly Lys Lys His Val Gly Pro Glu Thr Val Tyr
100 105 110

Pro Phe Asp Phe Ala Tyr Thr Glu Glu Asn Gly Ser Val Leu Gln Val
115 120 125

Gly Arg Asn Ile Thr Arg Ile Lys Leu Leu Val Arg Lys Phe Leu Gln
130 135 140

Thr Gln Asp Asp Arg Pro Phe Phe Leu Tyr Val Ala Phe His Asp Pro
145 150 155 160

His Arg Cys Gly His Ser Gln Pro Gln Tyr Gly Thr Phe Cys Glu Lys
165 170 175

Phe Gly Asn Gly Glu Ser Gly Met Gly Arg Ile Pro Asp Trp Thr Pro
180 185 190

Gln Ala Tyr Asp Pro Leu Asp Val Leu Val Pro Tyr Phe Val Pro Asn
195 200 205

Thr Pro Ala Ala Arg Ala Asp Leu Ala Ala Gln Tyr Thr Thr Val Gly
210 215 220

Arg Met Asp Gln Gly Val Gly Leu Val Leu Gln Glu Leu Arg Asp Ala
225 230 235 240

Gly Val Leu Asn Asp Thr Leu Val Ile Phe Thr Ser Asp Asn Gly Ile
245 250 255

Pro Phe Pro Ser Gly Arg Thr Asn Leu Tyr Trp Pro Gly Thr Ala Glu
260 265 270

Pro Leu Leu Val Ser Ser Pro Glu His Pro Lys Arg Trp Gly Gln Val
275 280 285

Ser Glu Ala Tyr Val Ser Leu Leu Asp Leu Thr Pro Thr Ile Leu Asp
290 295 300

Trp Phe Ser Ile Pro Tyr Pro Ser Tyr Ala Ile Phe Gly Ser Lys Thr
305 310 315 320

Ile His Leu Thr Gly Arg Ser Leu Leu Pro Ala Leu Glu Ala Glu Pro
325 330 335

Leu Trp Ala Thr Val Phe Gly Ser Gln Ser His His Glu Val Thr Met
340 345 350

Ser Tyr Pro Met Arg Ser Val Gln His Arg His Phe Arg Leu Val His
355 360 365

Asn Leu Asn Phe Lys Met Pro Phe Pro Ile Asp Gln Asp Phe Tyr Val
370 375 380

Ser Pro Thr Phe Gln Asp Leu Leu Asn Arg Thr Thr Ala Gly Gln Pro
385 390 395 400

Thr Gly Trp Tyr Lys Asp Leu Arg His Tyr Tyr Tyr Arg Ala Arg Trp
405 410 415

Glu Leu Tyr Asp Arg Ser Arg Asp Pro His Glu Thr Gln Asn Leu Ala
420 425 430

Thr Asp Pro Arg Phe Ala Gln Leu Leu Glu Met Leu Arg Asp Gln Leu
435 440 445

Ala Lys Trp Gln Trp Glu Thr His Asp Pro Trp Val Cys Ala Pro Asp
450 455 460

Gly Val Leu Glu Glu Lys Leu Ser Pro Gln Cys Gln Pro Leu His Asn
465 470 475 480

Glu Leu

<210> 275
<211> 932
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng thể kháng hTfR số 3 (số 2 được làm giống như của người) và hSGSH

<400> 275

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

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

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

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
                325                 330                 335

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

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

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

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

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

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

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

Gly Ser Arg Pro Arg Asn Ala Leu Leu Leu Leu Ala Asp Asp Gly Gly
    450                 455                 460

Phe Glu Ser Gly Ala Tyr Asn Asn Ser Ala Ile Ala Thr Pro His Leu
465                 470                 475                 480

Asp Ala Leu Ala Arg Arg Ser Leu Leu Phe Arg Asn Ala Phe Thr Ser
                485                 490                 495

Val Ser Ser Cys Ser Pro Ser Arg Ala Ser Leu Leu Thr Gly Leu Pro
            500                 505                 510

Gln His Gln Asn Gly Met Tyr Gly Leu His Gln Asp Val His His Phe
        515                 520                 525

Asn Ser Phe Asp Lys Val Arg Ser Leu Pro Leu Leu Leu Ser Gln Ala
    530                 535                 540

Gly Val Arg Thr Gly Ile Ile Gly Lys Lys His Val Gly Pro Glu Thr
545                 550                 555                 560
```

Val Tyr Pro Phe Asp Phe Ala Tyr Thr Glu Glu Asn Gly Ser Val Leu
565 570 575

Gln Val Gly Arg Asn Ile Thr Arg Ile Lys Leu Leu Val Arg Lys Phe
580 585 590

Leu Gln Thr Gln Asp Asp Arg Pro Phe Phe Leu Tyr Val Ala Phe His
595 600 605

Asp Pro His Arg Cys Gly His Ser Gln Pro Gln Tyr Gly Thr Phe Cys
610 615 620

Glu Lys Phe Gly Asn Gly Glu Ser Gly Met Gly Arg Ile Pro Asp Trp
625 630 635 640

Thr Pro Gln Ala Tyr Asp Pro Leu Asp Val Leu Val Pro Tyr Phe Val
645 650 655

Pro Asn Thr Pro Ala Ala Arg Ala Asp Leu Ala Ala Gln Tyr Thr Thr
660 665 670

Val Gly Arg Met Asp Gln Gly Val Gly Leu Val Leu Gln Glu Leu Arg
675 680 685

Asp Ala Gly Val Leu Asn Asp Thr Leu Val Ile Phe Thr Ser Asp Asn
690 695 700

Gly Ile Pro Phe Pro Ser Gly Arg Thr Asn Leu Tyr Trp Pro Gly Thr
705 710 715 720

Ala Glu Pro Leu Leu Val Ser Ser Pro Glu His Pro Lys Arg Trp Gly
725 730 735

Gln Val Ser Glu Ala Tyr Val Ser Leu Leu Asp Leu Thr Pro Thr Ile
740 745 750

Leu Asp Trp Phe Ser Ile Pro Tyr Pro Ser Tyr Ala Ile Phe Gly Ser
755 760 765

Lys Thr Ile His Leu Thr Gly Arg Ser Leu Leu Pro Ala Leu Glu Ala
770 775 780

Glu Pro Leu Trp Ala Thr Val Phe Gly Ser Gln Ser His His Glu Val
785 790 795 800

Thr Met Ser Tyr Pro Met Arg Ser Val Gln His Arg His Phe Arg Leu
805 810 815

Val His Asn Leu Asn Phe Lys Met Pro Phe Pro Ile Asp Gln Asp Phe
820 825 830

Tyr Val Ser Pro Thr Phe Gln Asp Leu Leu Asn Arg Thr Thr Ala Gly
835 840 845

Gln Pro Thr Gly Trp Tyr Lys Asp Leu Arg His Tyr Tyr Tyr Arg Ala
850 855 860

Arg Trp Glu Leu Tyr Asp Arg Ser Arg Asp Pro His Glu Thr Gln Asn
865 870 875 880

Leu Ala Thr Asp Pro Arg Phe Ala Gln Leu Leu Glu Met Leu Arg Asp
885 890 895

Gln Leu Ala Lys Trp Gln Trp Glu Thr His Asp Pro Trp Val Cys Ala
900 905 910

Pro Asp Gly Val Leu Glu Glu Lys Leu Ser Pro Gln Cys Gln Pro Leu
915 920 925

His Asn Glu Leu
930

<210> 276
<211> 2879
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của protein dung hợp của chuỗi nặng của kháng hTfR 3 (số 2 được làm giống như của người) và hSGSH, trình tự tổng hợp

<400> 276

acgcgtgccg ccaccatggg ctggagctgg attctgctgt tcctcctgag cgtgacagca 60

ggagtgcaca gcgaggtgca actagtgcag tctggagcag aggtgaaaaa gcccggggag 120

tctctgaaga tttcctgtaa gggttctgga tacagcttta ccaactactg gctgggatgg 180

gtgcgccaga tgcccgggaa aggcctggag tggatggggg acatctaccc cggcggagac 240

taccctacat acagcgagaa gttcaaggtc caggtcacca tctcagccga caagtccatc 300

agcaccgcct acctgcagtg gagcagcctg aaggcctcgg acaccgccat gtattactgt 360

gcgagatcag gcaattacga cgaagtggcc tactggggcc aaggaaccct ggtcaccgtc 420

tcctcagcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg caccctcctc caagagcacc 480

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 540

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 600

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 660

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt 720

gagcccaaat cttgtgacaa aactcacacg tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 780

ggaggtccgt cagtcttcct cttccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 840

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 900

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 960

tacaacagca cgtaccgggt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1020

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1080

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1140

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1200

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1260

cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc 1320

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1380

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaaggat ctcgtccccg gaacgcactg 1440

ctgctcctcg cggatgacgg aggctttgag agtggcgcgt acaacaacag cgccatcgcc 1500

accccgcacc tggacgcctt ggcccgccgc agcctcctct ttcgcaatgc cttcacctcg 1560

gtcagcagct gctctcccag ccgcgccagc ctcctcactg gcctgcccca gcatcagaat 1620

gggatgtacg ggctgcacca ggacgtgcac cacttcaact ccttcgacaa ggtgcggagc 1680

ctgccgctgc tgctcagcca agctggtgtg cgcacaggca tcatcgggaa gaagcacgtg 1740

gggccggaga ccgtgtaccc gtttgacttt gcgtacacgg aggagaatgg ctccgtcctc 1800

caggtggggc ggaacatcac tagaattaag ctgctcgtcc ggaaattcct gcagactcag 1860

gatgaccggc ctttcttcct ctacgtcgcc ttccacgacc cccaccgctg tgggcactcc 1920

cagccccagt acggaacctt ctgtgagaag tttggcaacg gagagagcgg catgggtcgt 1980

atcccagact ggacccccca ggcctacgac ccactggacg tgctggtgcc ttacttcgtc 2040

cccaacaccc cggcagcccg agccgacctg gccgctcagt acaccaccgt cggccgcatg 2100

gaccaaggag ttggactggt gctccaggag ctgcgtgacg ccggtgtcct gaacgacaca 2160

ctggtgatct tcacgtccga caacggtatc cccttcccca gcggcaggac caacctgtac 2220

tggccgggca ctgctgaacc cttactggtg tcatccccgg agcacccaaa acgctggggc 2280

caagtcagcg aggcctacgt gagcctccta gacctcacgc ccaccatctt ggattggttc 2340

tcgatcccgt accccagcta cgccatcttt ggctcgaaga ccatccacct cactggccgg 2400

tccctcctgc cggcgctgga ggccgagccc ctctgggcca ccgtctttgg cagccagagc 2460

caccacgagg tcaccatgtc ctaccccatg cgctccgtgc agcaccggca cttccgcctc 2520

gtgcacaacc tcaacttcaa gatgcccttt cccatcgacc aggacttcta cgtctcaccc 2580

accttccagg acctcctgaa ccgcaccaca gctggtcagc ccacgggctg gtacaaggac 2640

ctccgtcatt actactaccg ggcgcgctgg gagctctacg accggagccg ggaccccccac 2700

gagacccaga acctggccac cgacccgcgc tttgctcagc ttctggagat gcttcgggac 2760

cagctggcca agtggcagtg ggagacccac gacccctggg tgtgcgcccc cgacggcgtc 2820

ctggaggaga agctctctcc ccagtgccag cccctccaca atgagctgta agcggccgc 2879

<210> 277
<211> 245

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin của kháng thể chuỗi đơn kháng hTfR

<400> 277

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

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

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

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

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu
130 135 140

Ser Val Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln
145 150 155 160

Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln
165 170 175

```
Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg
            180                 185                 190

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
        195                 200                 205

Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr
    210                 215                 220

Tyr Cys Ser Gln Ser Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr
225                 230                 235                 240

Lys Val Glu Ile Lys
                245
```

<210> 278
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 6

<400> 278

```
Ile Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr His Ser Ala Leu Ile Ser
1               5                   10                  15
```

<210> 279
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự axit amin 2 của CDR 2 trong chuỗi nặng của kháng thể chuột kháng hTfR số 8

<400> 279

```
Ile Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Arg Ser Ala Leu Ile Ser
1               5                   10                  15
```

Fig.1

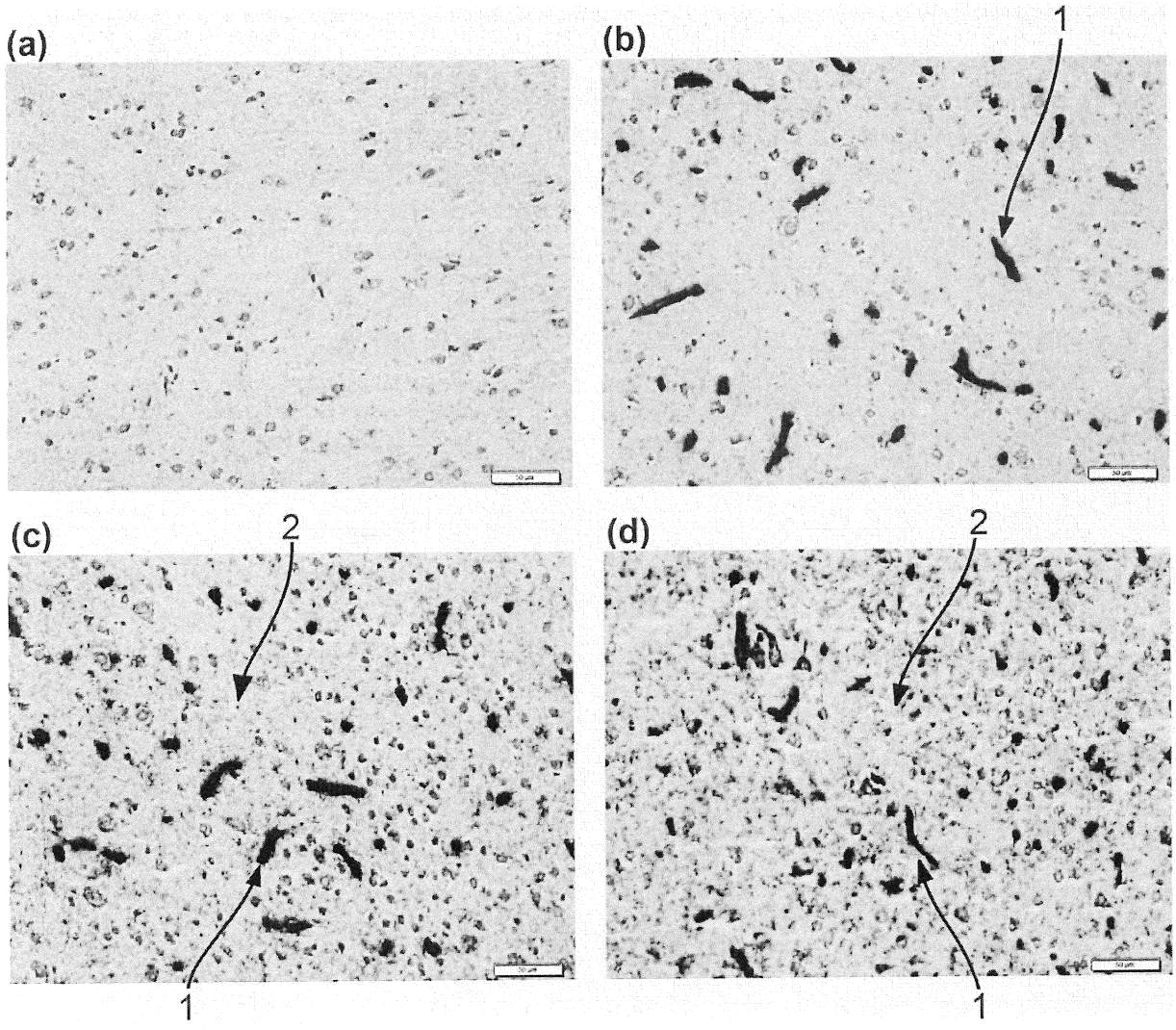


Fig.2

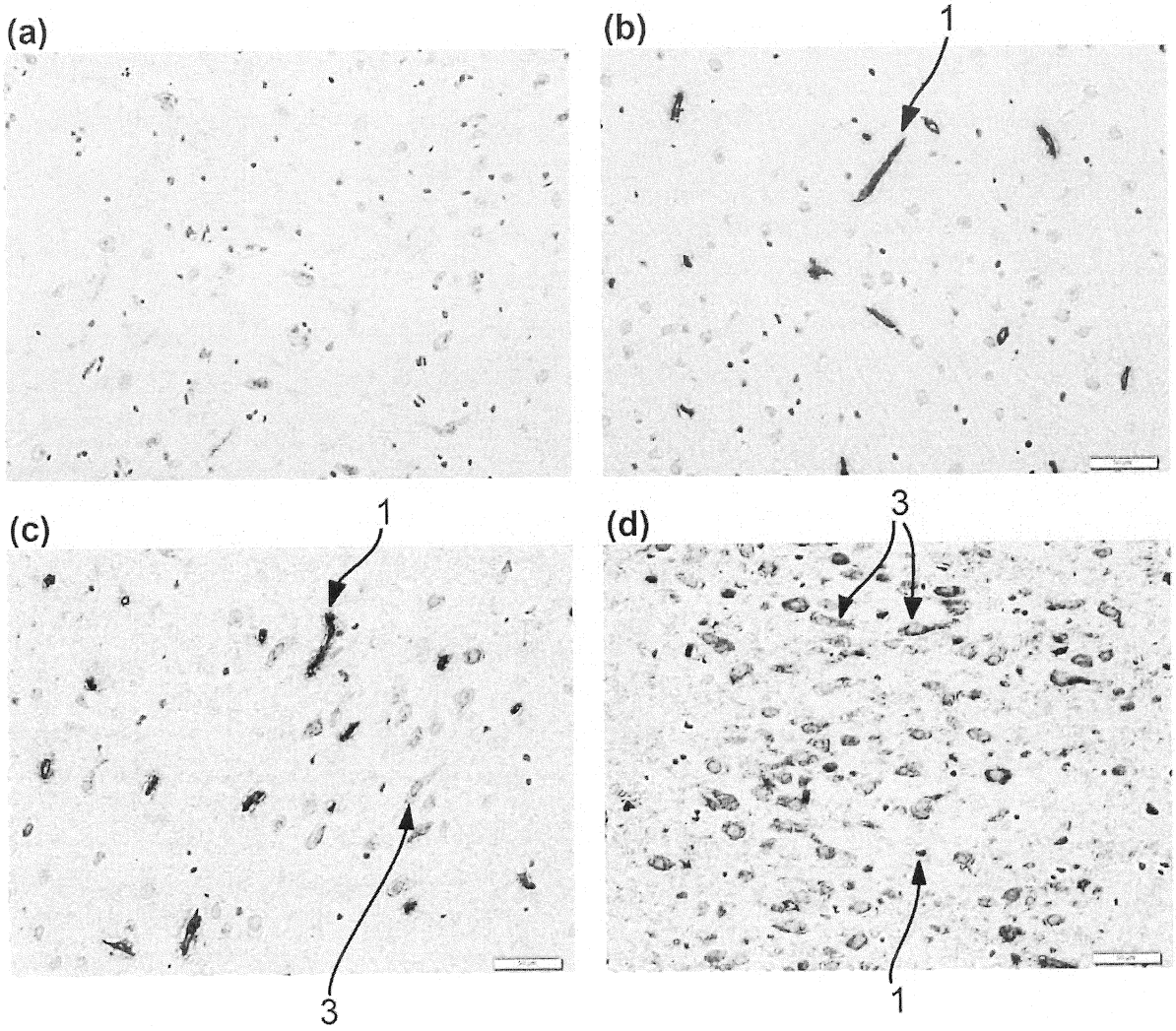


Fig.3

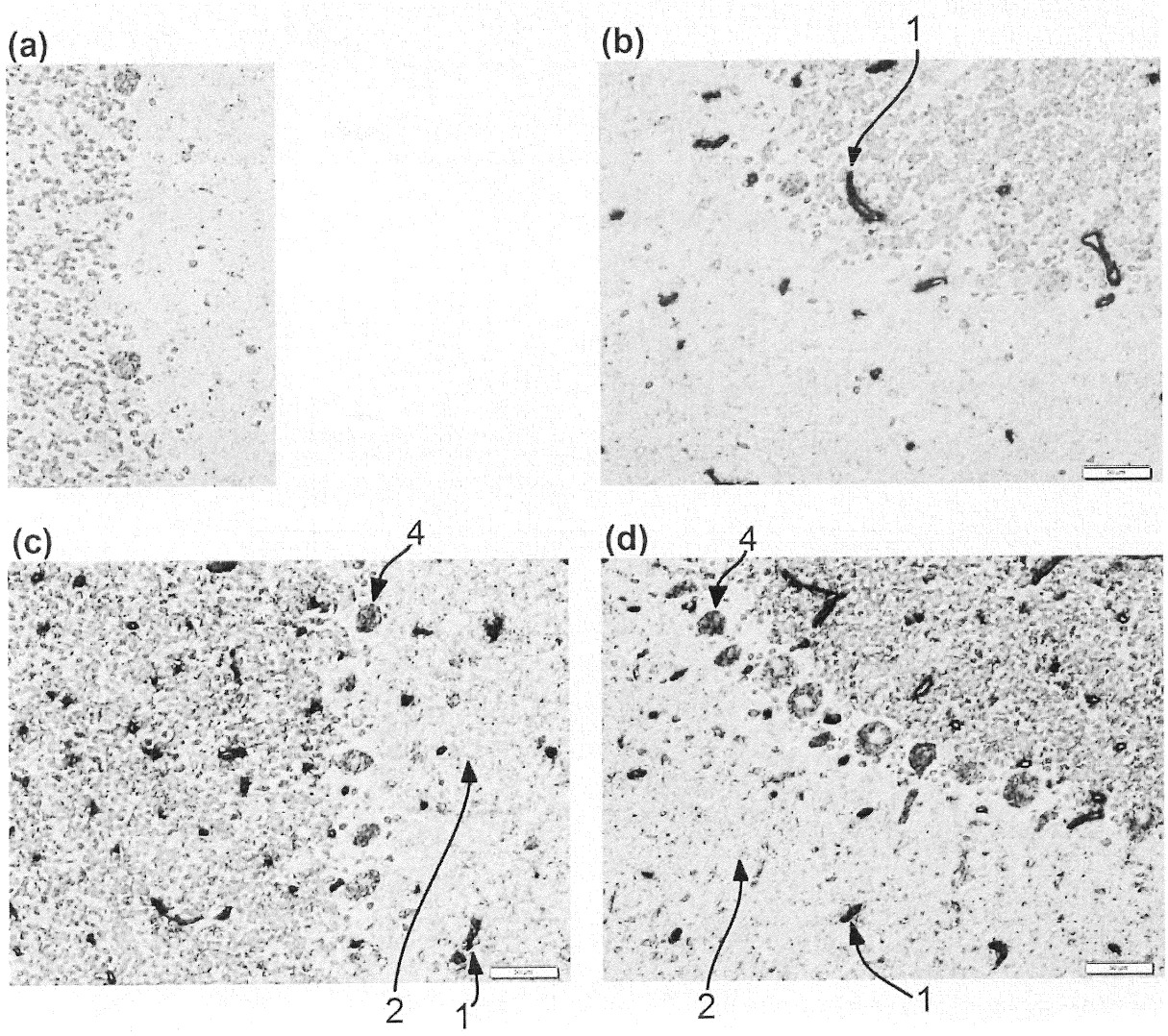


Fig.4

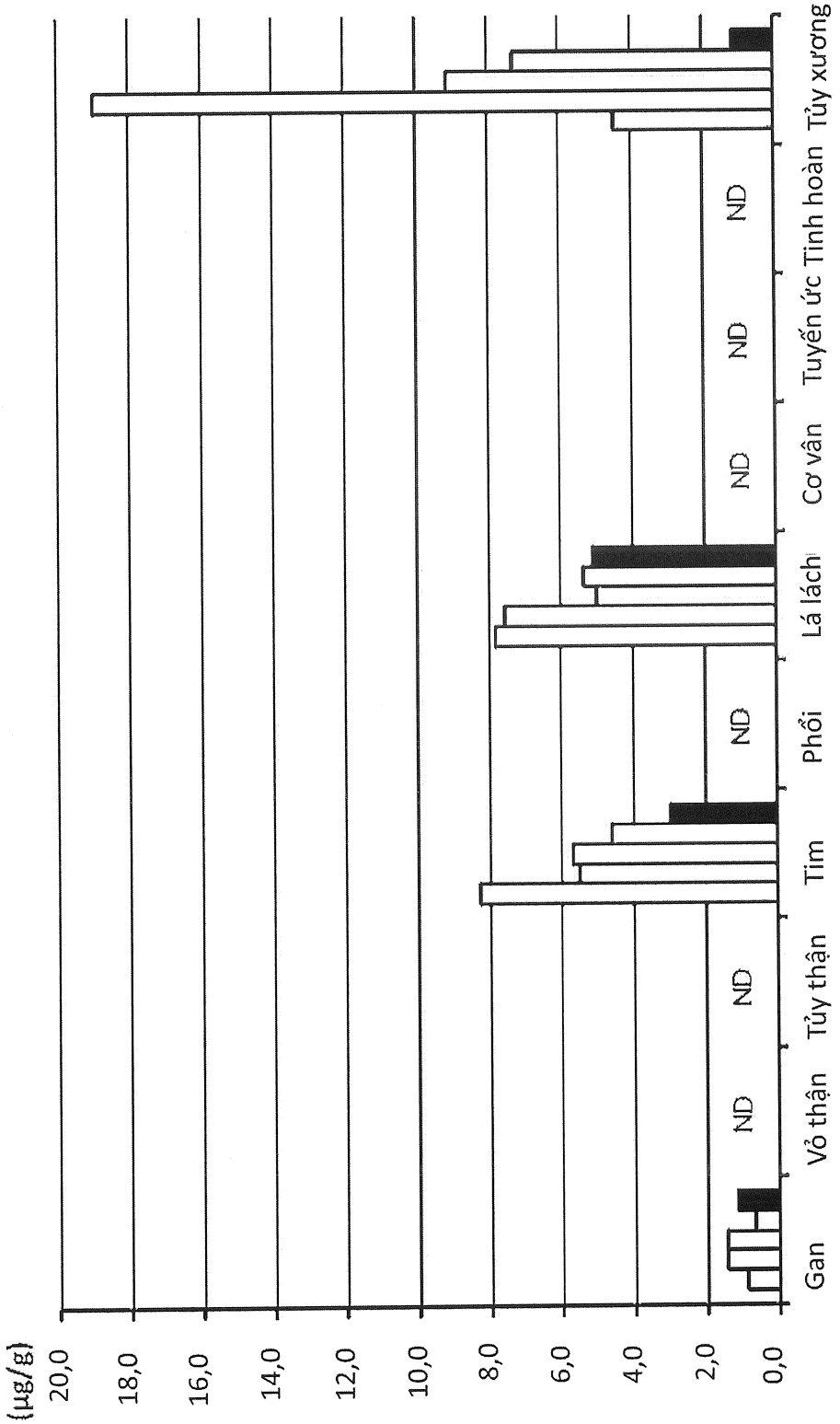

(µg/g)
20,0
18,0
16,0
14,0
12,0
10,0
8,0
6,0
4,0
2,0
0,0
ND
ND
ND
ND
ND
Gan
Vỏ thận
Tủy thận
Tim
Phổi
Lá lách
Cơ vân
Tuyến ức
Tinh hoàn
Tủy xương

Fig.5

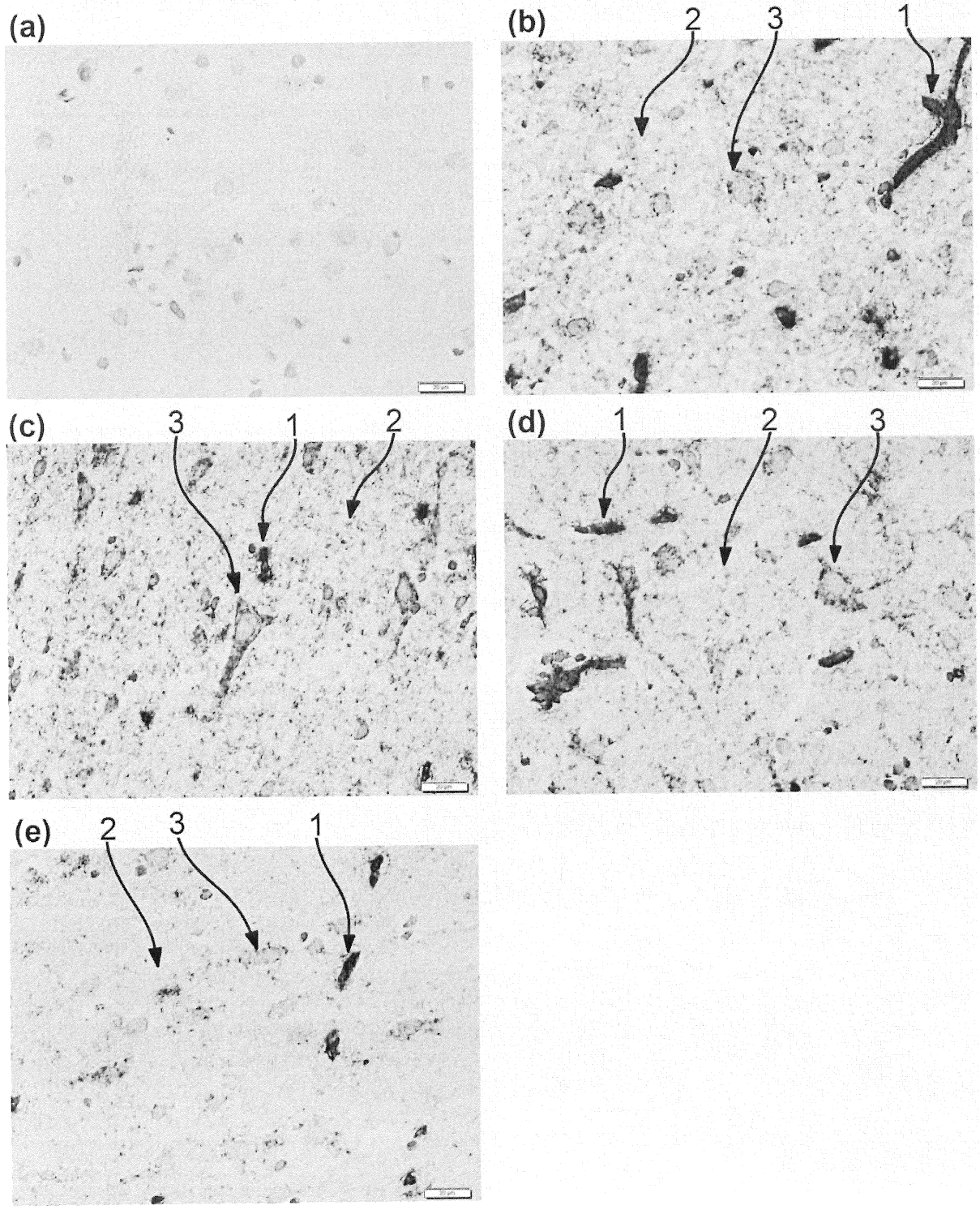


Fig.6

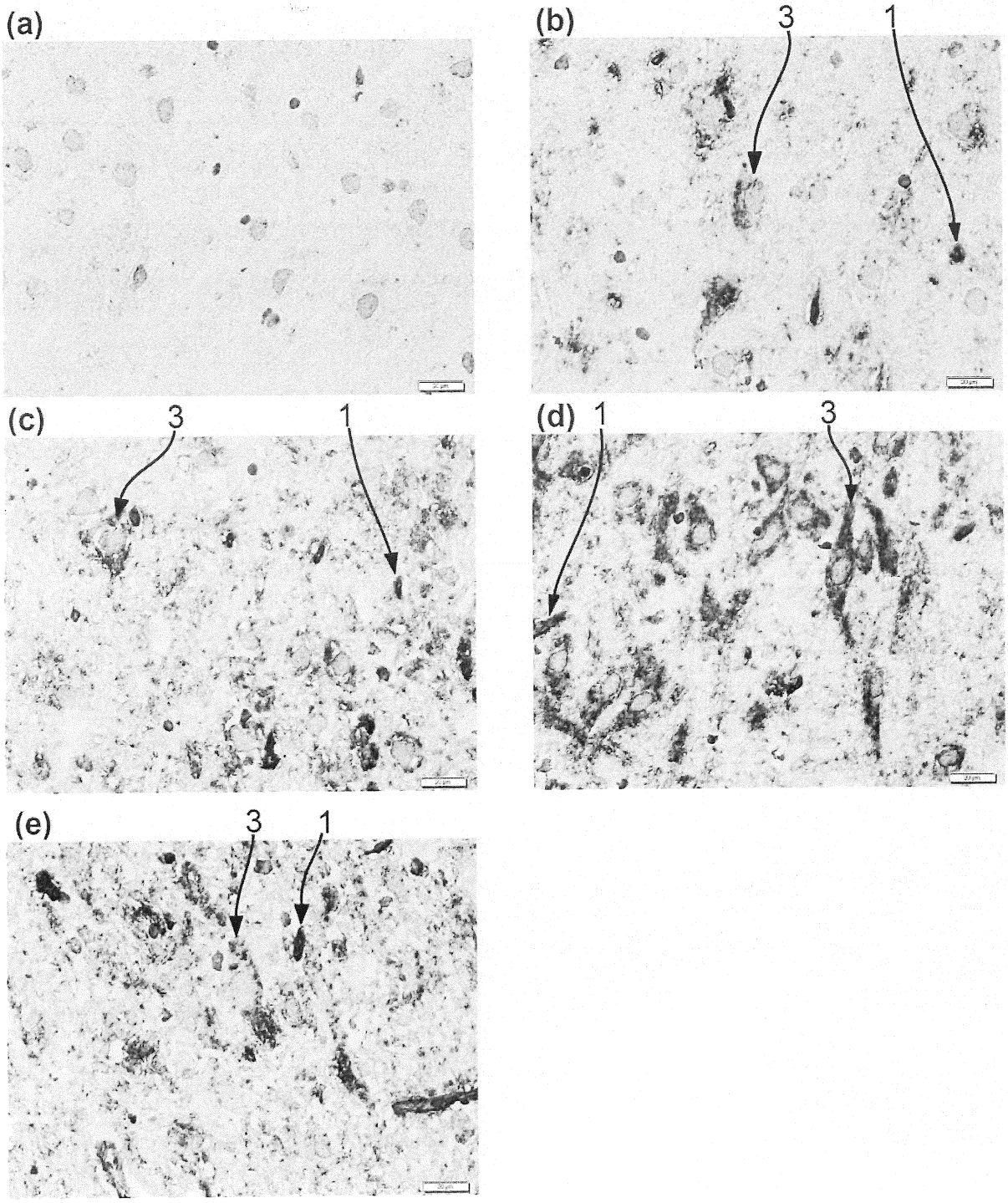


Fig.7

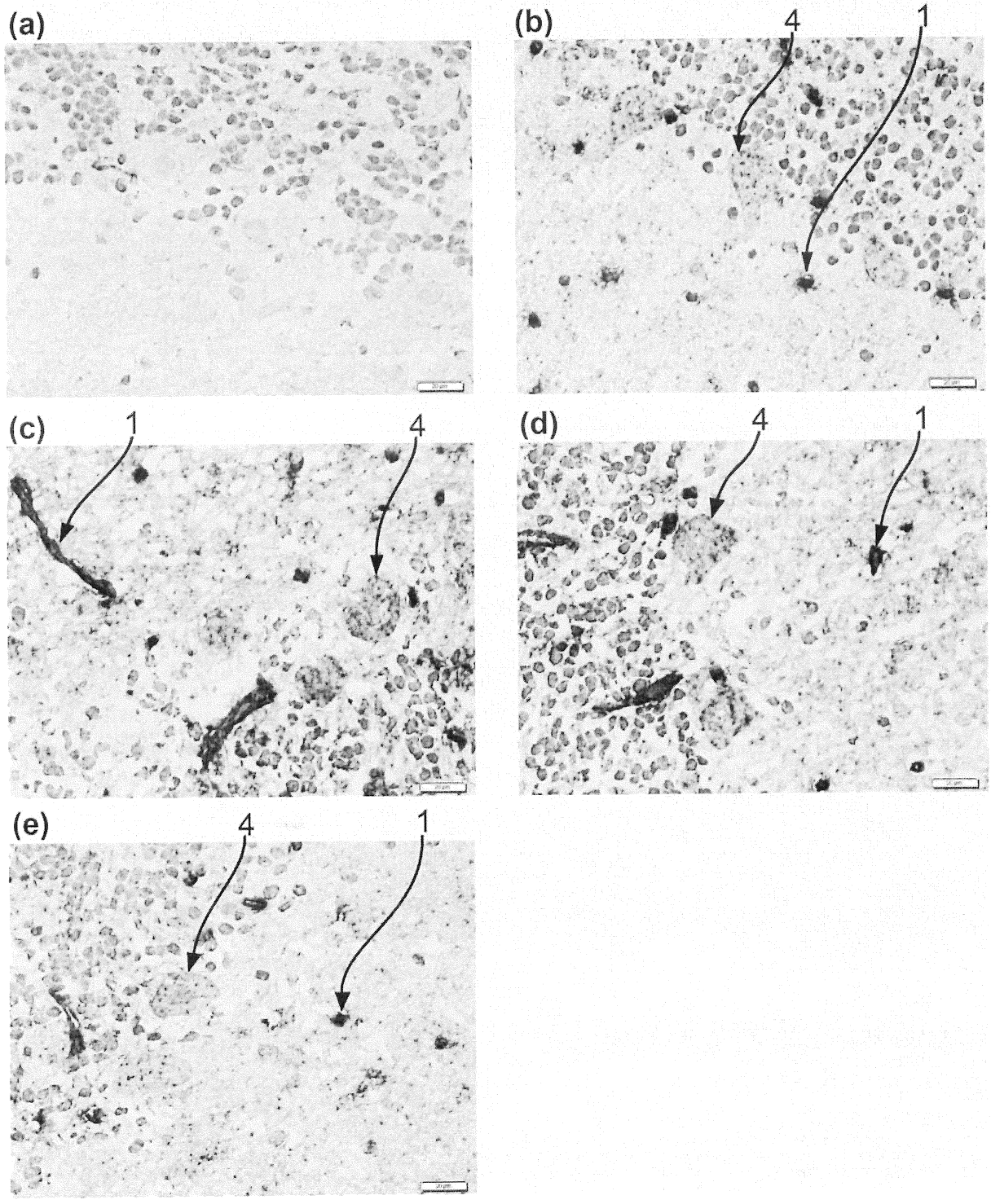


Fig.8

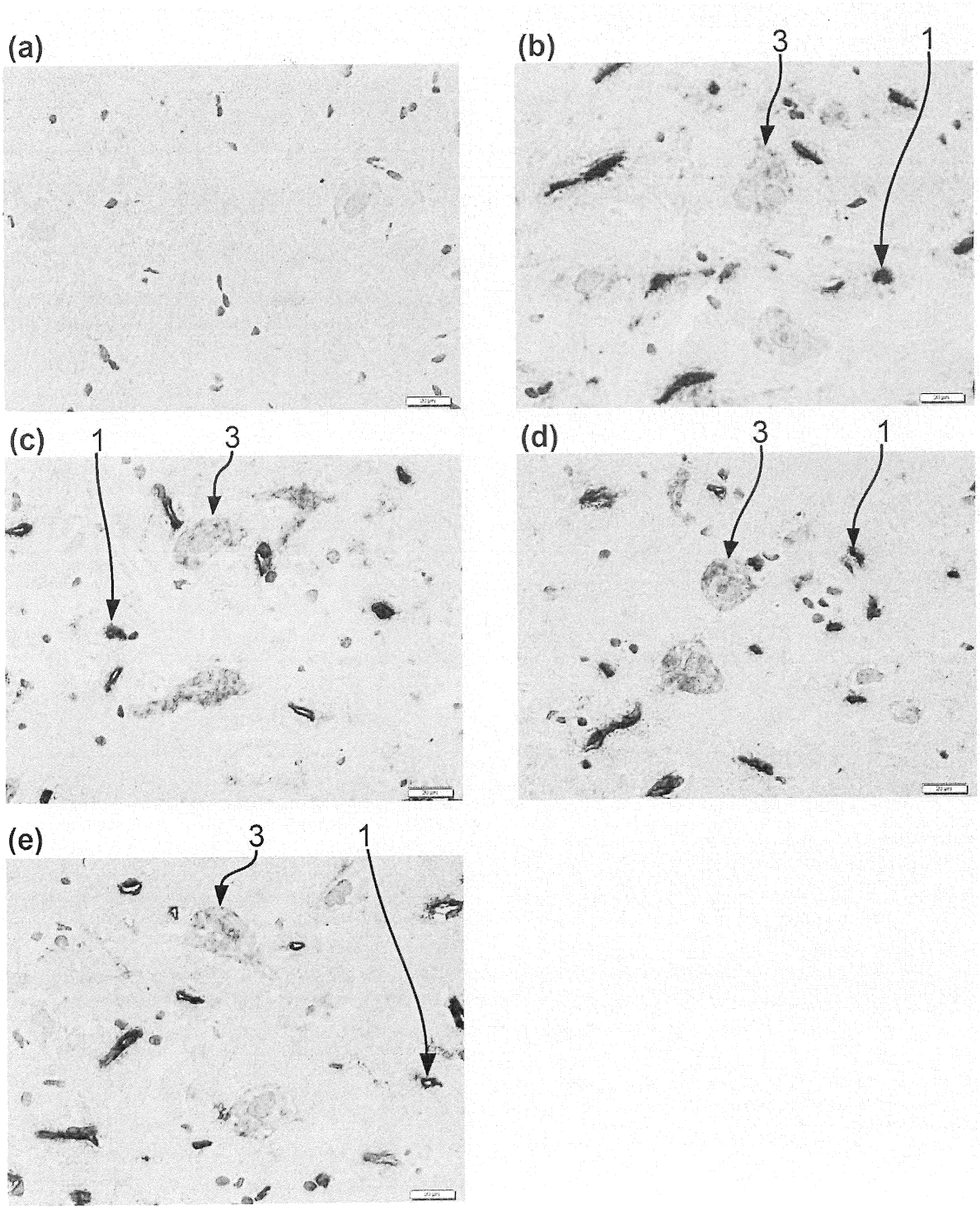


Fig.9

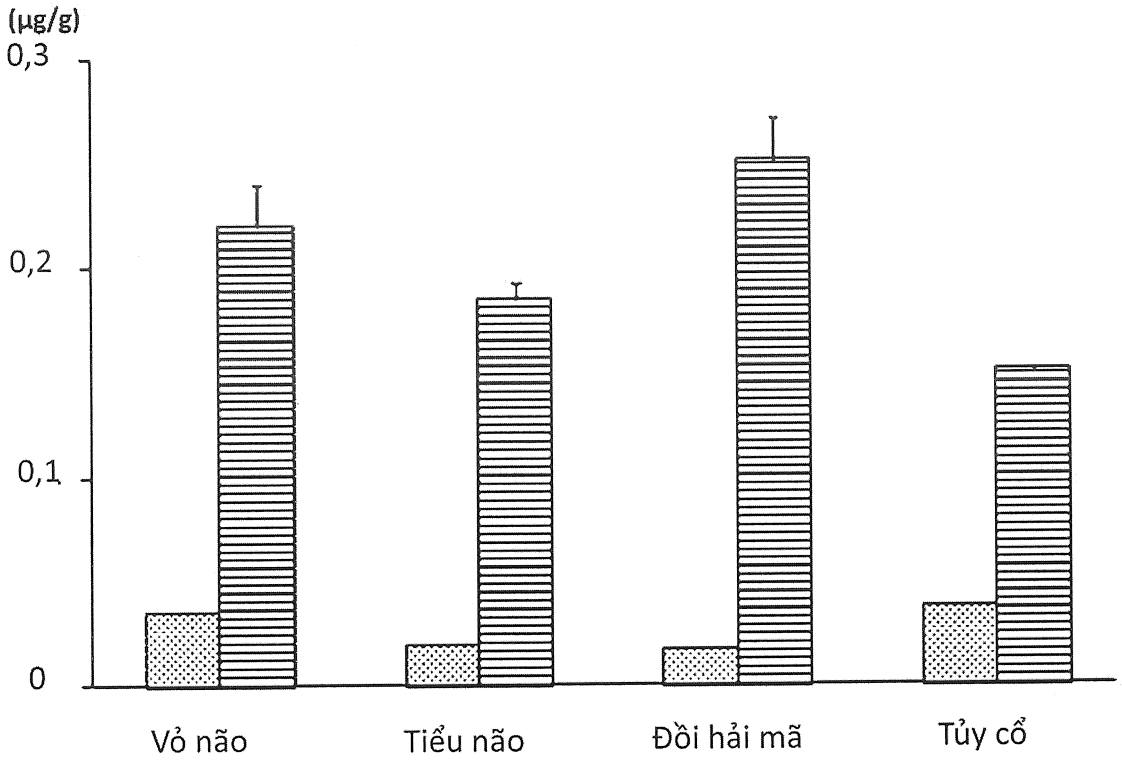
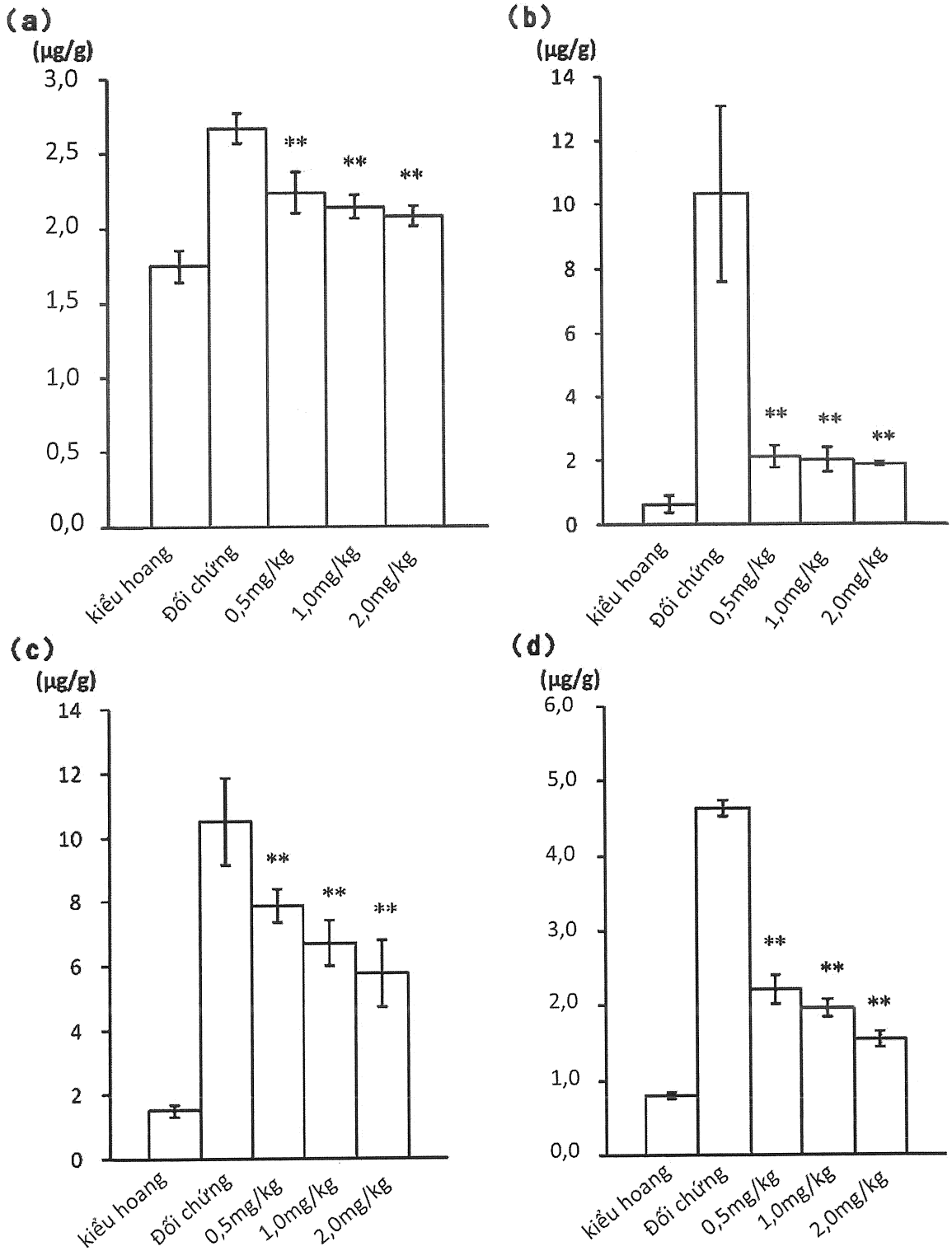


Fig.10


(a)
(µg/g)
3,0
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
**
**
**
kiểu hoang
Đối chứng
0,5mg/kg
1,0mg/kg
2,0mg/kg
(b)
(µg/g)
14
12
10
8
6
4
2
0
**
**
**
kiểu hoang
Đối chứng
0,5mg/kg
1,0mg/kg
2,0mg/kg
(c)
(µg/g)
14
12
10
8
6
4
2
0
**
**
**
kiểu hoang
Đối chứng
0,5mg/kg
1,0mg/kg
2,0mg/kg
(d)
(µg/g)
6,0
5,0
4,0
3,0
2,0
1,0
0,0
**
**
**
kiểu hoang
Đối chứng
0,5mg/kg
1,0mg/kg
2,0mg/kg