



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0038186

(51)^{2019.01} A61K 39/00; C07K 16/28; A61P 35/00 (13) B

(21) 1-2020-00955

(22) 25/07/2018

(86) PCT/US2018/043632 25/07/2018

(87) WO 2019/027754 07/02/2019

(30) 62/539,687 01/08/2017 US

(45) 25/01/2024 430

(43) 25/05/2020 386

(73) ELI LILLY AND COMPANY (US)

Lilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285, United States of America

(72) FRYE, Christopher Carl (US); KALOS, Michael Dewain (US); KOTANIDES, Helen (US); SANDEFUR, Stephanie Lynn (US).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) KHÁNG THỂ KHÁNG CD137, QUY TRÌNH SẢN XUẤT VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

(57)

Sáng chế đề cập đến các kháng thể mà gắn kết với CD137 người và thể hiện hoạt tính chủ vận, và có thể hữu dụng để điều trị các khối u rắn và u huyết học một mình và kết hợp với liệu pháp hóa trị và liệu pháp xạ trị ion hóa. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến tế bào động vật có vú có khả năng biểu hiện các kháng thể này, quy trình sản xuất các kháng thể này và dược phẩm chứa các kháng thể này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực y tế. Cụ thể là, sáng chế đề cập đến các kháng thể chủ vận hướng đến CD137 người, chế phẩm chứa các kháng thể chủ vận kháng CD137 người này, và phương pháp sử dụng các kháng thể chủ vận kháng CD137 người này để điều trị các khối u rắn và các khối u huyết một mình hoặc kết hợp với liệu pháp hóa học và các liệu pháp điều trị ung thư khác.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Đã biết rằng việc tăng cường đáp ứng miễn dịch chống khối u có thể là biện pháp điều trị ung thư hữu hiệu. Về vấn đề này, CD137, còn được biết là 4-1BB, thuộc họ thụ thể TNF và đóng vai trò trong việc hoạt hóa các đáp ứng miễn dịch tế bào T như bằng cách dẫn dắt sự tăng sinh tế bào T và chức năng tác động, thúc đẩy khả năng ghi nhớ miễn dịch, và ức chế sự chết tế bào cảm ứng bởi sự hoạt hóa. Các kháng thể chủ vận hướng đích CD137 đã thể hiện triển vọng làm liệu pháp đơn trên mô hình khối u chuột (Melero. I. et al., *Nat. Med.* 3(6):682-685 (1997)), tuy nhiên, các kháng thể chủ vận hướng đích CD137 người đã không chứng minh các đáp ứng đủ để làm liệu pháp đơn hoặc liệu pháp kết hợp cho người bệnh. Về vấn đề này, cả utomilumab (mAb IgG2 chủ vận kháng CD137 hoàn toàn của người) (Fisher, T.M. et al, *Cancer Immunol. Immunother.* (2012) 61:1721-1733) và urelumab (mAb IgG4 chủ vận kháng CD137 được làm giống như của người) (Segal, N.H. *Clin. Cancer Res.* (2017) 23(8):1929-1936) đều không nhận được sự phê chuẩn để sử dụng làm liệu pháp đơn hoặc thậm chí là liệu pháp điều trị kết hợp. Thực vậy, chưa có kháng thể chủ vận hướng đích CD137 người nào được phê chuẩn để sử dụng cho việc chữa bệnh ở người.

Do đó, cần có các kháng thể khác hoàn toàn của người mà chủ vận thụ thể CD137 người và thúc đẩy đáp ứng miễn dịch chống ung thư mạnh, nhưng với biên dạng độc tính chấp nhận được. Cũng có nhu cầu về các kháng thể kháng CD137 chủ vận của người khác mà có thể kết hợp với các liệu pháp điều trị khác để điều trị bệnh ung thư. Cụ thể là, vẫn cần có các kháng thể kháng CD137 người mà thể hiện hiệu lực đủ để làm liệu pháp đơn điều trị ung thư và/hoặc liệu pháp kết hợp điều trị ung thư.

Không giới hạn ở giả thuyết bất kỳ, việc sử dụng các kháng thể chủ vận hiện tại hướng đích CD137 làm tác nhân điều trị đơn và/hoặc điều trị kết hợp đối với bệnh ung thư được tin là bị cản trở bởi các yếu tố như sức mạnh chủ vận của các kháng thể này và các sự kiện bất lợi liên quan đến miễn dịch mà do việc sử dụng chúng ở mức liều cao, tiềm ẩn hiệu lực. Cụ thể là, các kháng thể hiện tại hoặc là có hiệu lực quá mức, dẫn đến các sự kiện bất lợi, hoặc là thể hiện hiệu lực dưới tối ưu.

Các kháng thể chủ vận kháng CD137 người được mô tả ở đây là các kháng thể không có tác động qua trung gian thụ thể Fcγ hoàn toàn của người mà gắn kết CD137 người và CD137 khỉ cynomolgus, kích thích sự hoạt hóa tế bào T *in vitro*, thúc đẩy sự biểu hiện CD137 người trên bề mặt tế bào, tăng cường hoạt tính NF-kappa B, ức chế sự phát triển khối u trên các mô hình khối u ở chuột bị bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ dưới dạng liệu pháp đơn, ức chế sự ngăn chặn qua trung gian tế bào điều hòa T *in vitro*, hoạt hóa các ký hiệu gen miễn dịch, gia tăng tần suất của các tế bào T CD3⁺ trong khối u, cạnh tranh với Phôi tử-CD137 người trong việc gắn kết với CD137 người, và gắn kết với các gốc axit amin duy nhất trên CD137 người.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7.

Sáng chế đề xuất kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9. Sáng chế đề xuất kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12.

Sáng chế đề xuất kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11. Sáng chế đề xuất kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13.

Sáng chế đề xuất tế bào động vật có vú có khả năng biểu hiện kháng thể bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7.

Sáng chế đề xuất tế bào động vật có vú có khả năng biểu hiện kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11 hoặc trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13.

Sáng chế đề xuất quy trình sản xuất kháng thể bao gồm việc nuôi cấy tế bào động vật có vú có khả năng biểu hiện kháng thể và thu hồi kháng thể; trong đó kháng thể bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7.

Sáng chế đề xuất quy trình sản xuất kháng thể bao gồm việc nuôi cấy tế bào động vật có vú có khả năng biểu hiện kháng thể và thu hồi kháng thể; trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11 hoặc trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13.

Sáng chế đề xuất kháng thể được sản xuất bởi quy trình bao gồm bước nuôi cấy tế bào động vật có vú có khả năng biểu hiện kháng thể và thu hồi kháng thể; trong đó kháng thể bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7. Sáng chế đề xuất kháng thể được sản xuất bằng quy trình bao gồm bước nuôi cấy tế bào động vật có vú có khả năng biểu hiện kháng thể và thu hồi kháng thể; trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình

tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11 hoặc trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13.

Sáng chế đề xuất phân tử ADN bao gồm polynucleotit có trình tự được nêu trong SEQ ID NO:14 và một trong số SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, hoặc SEQ ID NO:17. Sáng chế đề xuất phân tử ADN bao gồm polynucleotit có trình tự được nêu trong SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, hoặc SEQ ID NO:17. Sáng chế đề xuất tế bào động vật có vú bao gồm phân tử ADN chứa polynucleotit có trình tự được nêu trong SEQ ID NO:14 và một trong số SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, hoặc SEQ ID NO:17. Sáng chế đề xuất tế bào động vật có vú chứa phân tử ADN chứa polynucleotit có trình tự được nêu trong SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, hoặc SEQ ID NO:17.

Sáng chế đề xuất được phẩm chứa kháng thể được bộc lộ ở đây và chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược được dụng. Sáng chế đề xuất được phẩm chứa kháng thể và chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược được dụng; trong đó kháng thể bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7. Sáng chế đề xuất được phẩm chứa kháng thể và chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược được dụng; trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9. Sáng chế đề xuất được phẩm chứa kháng thể và chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược được dụng; trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12. Sáng chế đề xuất được phẩm chứa kháng thể và chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược được dụng; trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11. Sáng chế đề xuất được phẩm chứa kháng thể và chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược được dụng; trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có

trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7; trong đó bệnh ung thư là ung thư

bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng CD137 người (SEQ

ID NO:1) bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7; trong đó bệnh ung thư là caxinom đường mật, caxinom tế bào vảy đầu và cổ, caxinom tuyến phổi, caxinom tế bào vảy phổi, caxinom thận tế bào sáng, hoặc caxinom tế bào vảy đầu và cổ.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9; trong đó bệnh ung thư là caxinom đường mật, caxinom tế bào vảy đầu và cổ, caxinom tuyến phổi, caxinom tế bào vảy phổi, caxinom thận tế bào sáng, hoặc caxinom tế bào vảy đầu và cổ. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12; trong đó bệnh ung thư là caxinom đường mật, caxinom tế bào vảy đầu và cổ, caxinom tuyến phổi, caxinom tế bào vảy phổi, caxinom thận tế bào sáng, hoặc caxinom tế bào vảy đầu và cổ. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11; trong đó bệnh ung thư là caxinom đường mật, caxinom tế bào vảy đầu và cổ, caxinom tuyến phổi, caxinom tế bào vảy phổi, caxinom thận tế bào sáng, hoặc caxinom tế bào vảy đầu và cổ. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13; trong đó bệnh ung thư là caxinom đường mật, caxinom tế bào vảy đầu và cổ, caxinom tuyến phổi, caxinom tế bào vảy phổi, caxinom thận tế bào sáng, hoặc caxinom tế bào vảy đầu và cổ.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với việc chiếu xạ ion hóa. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với việc chiếu xạ ion hóa. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với việc chiếu xạ ion hóa. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với việc chiếu xạ ion hóa. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với việc chiếu xạ ion hóa.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu của kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID

NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân hóa trị liệu. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân hóa trị liệu. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân hóa trị liệu. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân hóa trị liệu. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu của kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân hóa trị liệu.

Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang. Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư vú. Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư ống mật. Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư ruột kết. Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư nội mạc tử cung. Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư thực quản. Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng

trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư dạ dày. Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư đầu và cổ. Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư phổi tế bào không nhỏ. Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư tuyến tiền liệt. Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư trực tràng. Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư tuyến giáp. Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là caxinom tế bào vảy đầu và cổ. Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là caxinom tế bào thận. Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là caxinom đường mật. Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là caxinom tuyến phổi. Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là caxinom tế bào vảy phổi. Sáng chế đề xuất kháng thể được bộc lộ ở đây để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là caxinom thận tế bào sáng.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư vú. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư ống mật. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư ruột kết. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư nội mạc tử cung. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư thực quản. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư dạ dày. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất

thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư đầu và cổ. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư phổi tế bào không nhỏ. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư tuyến tiền liệt. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư trực tràng. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là ung thư tuyến giáp. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là caxinom tế bào vảy đầu và cổ. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là caxinom tế bào thận. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là caxinom đường mật. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là caxinom tuyến phổi. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là caxinom tế bào vảy phổi. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể được bộc lộ ở đây để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư là caxinom thận tế bào sáng.

Sáng chế đề xuất kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) được bộc lộ ở đây để sử dụng trong trị liệu. Sáng chế đề xuất kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) được bộc lộ ở đây để sử dụng trong trị liệu; trong đó kháng thể bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7. Sáng chế đề xuất kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) được bộc lộ ở đây để sử dụng trong trị liệu; trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11. Sáng chế đề xuất kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) được bộc lộ ở đây để sử dụng trong trị liệu; trong đó kháng thể bao

gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13.

Sáng chế đề xuất kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13.

Sáng chế đề xuất kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu

trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp.

Sáng chế đề xuất kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7; trong đó bệnh ung thư là caxinom đường mật, caxinom tế bào vảy đầu và cổ, caxinom tuyến phổi, caxinom tế bào vảy phổi, caxinom thận tế bào sáng, hoặc caxinom tế bào vảy đầu và cổ. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó

kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9; trong đó bệnh ung thư là caxinom đường mật, caxinom tế bào vảy đầu và cổ, caxinom tuyến phổi, caxinom tế bào vảy phổi, caxinom thận tế bào sáng, hoặc caxinom tế bào vảy đầu và cổ. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12; trong đó bệnh ung thư là caxinom đường mật, caxinom tế bào vảy đầu và cổ, caxinom tuyến phổi, caxinom tế bào vảy phổi, caxinom thận tế bào sáng, hoặc caxinom tế bào vảy đầu và cổ. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11; trong đó bệnh ung thư là caxinom đường mật, caxinom tế bào vảy đầu và cổ, caxinom tuyến phổi, caxinom tế bào vảy phổi, caxinom thận tế bào sáng, hoặc caxinom tế bào vảy đầu và cổ. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13; trong đó bệnh ung thư là caxinom đường mật, caxinom tế bào vảy đầu và cổ, caxinom tuyến phổi, caxinom tế bào vảy phổi, caxinom thận tế bào sáng, hoặc caxinom tế bào vảy đầu và cổ.

Sáng chế đề xuất kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với việc chiếu xạ ion hóa. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với việc chiếu xạ ion hóa. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị

bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với việc chiếu xạ ion hóa. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với việc chiếu xạ ion hóa. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với việc chiếu xạ ion hóa.

Sáng chế đề xuất kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân hóa trị liệu. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân hóa trị liệu. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân hóa trị liệu. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân hóa

trị liệu. Sáng chế đề xuất kháng thể để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân hóa trị liệu.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống

mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4,

LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7; trong đó bệnh ung thư là caxinom đường mật, caxinom tế bào vảy đầu và cổ, caxinom tuyến phổi, caxinom tế bào vảy phổi, caxinom thận tế bào sáng, hoặc caxinom tế bào vảy đầu và cổ. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9; trong đó bệnh ung thư là caxinom đường mật, caxinom tế bào vảy đầu và cổ, caxinom tuyến phổi, caxinom tế bào vảy phổi, caxinom thận tế bào sáng, hoặc caxinom tế bào vảy đầu và cổ. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12; trong đó bệnh ung thư là caxinom đường mật, caxinom tế bào vảy đầu và cổ, caxinom tuyến phổi, caxinom tế bào vảy phổi, caxinom thận tế bào sáng, hoặc caxinom tế bào vảy đầu và cổ. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11; trong đó bệnh ung thư là caxinom đường mật, caxinom tế bào vảy đầu và cổ, caxinom tuyến phổi, caxinom tế bào vảy phổi, caxinom thận tế bào sáng, hoặc caxinom tế bào vảy đầu và cổ. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13; trong đó bệnh ung thư là caxinom đường mật, caxinom tế bào vảy đầu và cổ, caxinom tuyến phổi, caxinom tế bào vảy phổi, caxinom thận tế bào sáng, hoặc caxinom tế bào vảy đầu và cổ.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong

SEQ ID NO: 7; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với việc chiếu xạ ion hóa. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với việc chiếu xạ ion hóa. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với việc chiếu xạ ion hóa. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với việc chiếu xạ ion hóa. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với việc chiếu xạ ion hóa.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể kháng CD137 người (SEQ ID NO:1) để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:6, và LCDR3 có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 7; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân hóa trị liệu. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân hóa trị liệu. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh

ung thư, trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 12; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân hóa trị liệu. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 11; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân hóa trị liệu. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 13; trong đó kháng thể được dùng đồng thời, riêng rẽ, hoặc lần lượt kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân hóa trị liệu.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) hoặc được phẩm chứa kháng thể này, trong đó kháng thể này tiếp xúc với CD137 người trên ít nhất một trong số các gốc axit amin sau: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả); tùy ý, trong đó kháng thể tiếp xúc với ít nhất hai gốc trong số các gốc này, tốt hơn là ít nhất ba gốc trong số các gốc này, tốt hơn nữa là ít nhất bốn gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất năm gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất sáu gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất bảy gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất tám gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất chín gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười một gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười hai gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười ba gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười bốn gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười lăm gốc trong số các gốc này; hoặc tốt hơn nữa là tất cả các gốc này. Sáng chế đề xuất kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) hoặc được phẩm chứa kháng thể này, trong đó kháng thể này tiếp xúc với CD137 người trên ít nhất một trong số các gốc axit amin sau: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả); tùy ý, trong đó kháng thể tiếp xúc với ít nhất hai gốc trong số các gốc này, tốt hơn là ít nhất ba gốc trong số các gốc này, tốt hơn nữa là ít nhất bốn gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất năm gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất sáu gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất bảy gốc trong số các

gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất tám gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất chín gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười một gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười hai gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười ba gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười bốn gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười lăm gốc trong số các gốc này; hoặc tốt hơn nữa là tất cả các gốc này; trong đó việc tiếp xúc được xác định bằng phép khảo sát tinh thể bằng tia X và trong đó các gốc tiếp xúc kháng thể là trong phạm vi sáu (6) angstrom hoặc nhỏ hơn.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) để điều trị bệnh ung thư hoặc để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể tiếp xúc với CD137 người trên ít nhất một trong số các gốc axit amin sau: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả); tùy ý, trong đó kháng thể tiếp xúc với ít nhất hai gốc trong số các gốc này, tốt hơn là ít nhất ba gốc trong số các gốc này, tốt hơn nữa là ít nhất bốn gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất năm gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất sáu gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất bảy gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất tám gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất chín gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười một gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười hai gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười ba gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười bốn gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười lăm gốc trong số các gốc này; hoặc tốt hơn nữa là tất cả các gốc này. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) để điều trị bệnh ung thư hoặc để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể tiếp xúc với CD137 người trên ít nhất một trong số các gốc axit amin sau: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả); tùy ý, trong đó kháng thể tiếp xúc với ít nhất hai gốc trong số các gốc này, tốt hơn là ít nhất ba gốc trong số các gốc này, tốt hơn nữa là ít nhất bốn gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất năm gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất sáu gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất bảy gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất tám gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất chín gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười một gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười hai gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười ba gốc trong số các gốc này; tốt hơn

nữa là ít nhất mười bốn gốc trong số các gốc này; tốt hơn nữa là ít nhất mười lăm gốc trong số các gốc này; hoặc tốt hơn nữa là tất cả các gốc này; trong đó việc tiếp xúc được xác định bằng phép khảo sát tinh thể bằng tia X và trong đó các gốc tiếp xúc kháng thể là trong phạm vi sáu (6) angstrom hoặc nhỏ hơn.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) hoặc được phẩm chứa kháng thể, trong đó kháng thể tiếp xúc với CD137 người ở các gốc axit amin sau: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả), và 112-116 (gồm cả). Sáng chế đề xuất kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) hoặc được phẩm chứa kháng thể, trong đó kháng thể tiếp xúc với CD137 người ở các gốc axit amin sau: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả), và 112-116 (gồm cả); trong đó việc tiếp xúc được xác định bằng phép khảo sát tinh thể bằng tia X và trong đó các gốc tiếp xúc với kháng thể là trong phạm vi sáu (6) angstrom hoặc nhỏ hơn.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) hoặc được phẩm chứa kháng thể, trong đó kháng thể tiếp xúc với CD137 người ở các gốc axit amin sau: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả), và 112-116 (gồm cả); trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp. Sáng chế đề xuất kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) hoặc được phẩm chứa kháng thể, trong đó kháng thể tiếp xúc với CD137 người ở các gốc axit amin sau: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả), và 112-116 (gồm cả); trong đó việc tiếp xúc được xác định bằng phép khảo sát tinh thể bằng tia X và trong đó các gốc tiếp xúc với kháng thể là trong phạm vi sáu (6) angstrom hoặc nhỏ hơn; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư hoặc để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể tiếp xúc với CD137 người ở các gốc axit amin sau: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả), và 112-116 (gồm cả). Sáng chế đề xuất kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư hoặc để sản xuất

thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể tiếp xúc với CD137 người ở các gốc axit amin sau: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả), và 112-116 (gồm cả); trong đó việc tiếp xúc được xác định bằng phép khảo sát tinh thể bằng tia X và trong đó các gốc tiếp xúc với kháng thể là trong phạm vi sáu (6) angstrom hoặc nhỏ hơn.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư hoặc việc sử dụng kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể tiếp xúc với CD137 người ở các gốc axit amin sau: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả), và 112-116 (gồm cả); trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp. Sáng chế đề xuất kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư hoặc việc sử dụng kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể tiếp xúc với CD137 người ở các gốc axit amin sau: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả), và 112-116 (gồm cả); trong đó việc tiếp xúc được xác định bằng phép khảo sát tinh thể bằng tia X và trong đó các gốc tiếp xúc với kháng thể là trong phạm vi sáu (6) angstrom hoặc nhỏ hơn; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) hoặc được phẩm chứa kháng thể, trong đó kháng thể không gắn kết với FcγRI người, FcγRIIa người, FcγRIIb người, FcγRIIIa(F) người, FcγRIIIa(V) người, hoặc C1q người. Sáng chế đề xuất kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư hoặc để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể không gắn kết với FcγRI người, FcγRIIa người, FcγRIIb người, FcγRIIIa(F) người, FcγRIIIa(V) người, hoặc C1q người.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) hoặc được phẩm chứa kháng thể, trong đó kháng thể không gắn kết với FcγRI người, FcγRIIa người, FcγRIIb người, FcγRIIIa(F) người, FcγRIIIa(V) người, hoặc C1q người.

người; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp. Sáng chế đề xuất kháng thể mà chủ vận CD137 người (SEQ ID NO: 1) để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư hoặc để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể không gắn kết với FcγRI người, FcγRIIa người, FcγRIIb người, FcγRIIIa(F) người, FcγRIIIa(V) người, hoặc C1q người; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1), trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ; trong đó chuỗi nặng tiếp xúc với ít nhất một gốc axit amin trong số các gốc sau đây trên CD137 người: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả), và 112-116 (gồm cả); trong đó chuỗi nhẹ tiếp xúc với ít nhất một gốc axit amin trong số các gốc sau đây trên CD137 người: 96-98 (gồm cả), 100, và 114-116 (gồm cả).

Sáng chế đề xuất kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1), trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ; trong đó chuỗi nặng tiếp xúc với ít nhất một gốc axit amin trong số các gốc sau đây trên CD137 người: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả), và 112-116 (gồm cả); trong đó chuỗi nhẹ tiếp xúc với ít nhất một gốc axit amin trong số các gốc sau đây trên CD137 người: 96-98 (gồm cả), 100, và 114-116 (gồm cả); trong đó các gốc tiếp xúc kháng thể là trong phạm vi sáu (6) angstrom hoặc nhỏ hơn, như được xác định bằng phép khảo sát tinh thể bằng tia X.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1), trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ; trong đó chuỗi nặng tiếp xúc với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả), và 112-116 (gồm cả); trong đó chuỗi nhẹ tiếp xúc với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 96-98 (gồm cả), 100, và 114-116 (gồm cả).

Sáng chế đề xuất kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1), trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ; trong đó chuỗi nặng tiếp xúc với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm

cả), và 112-116 (gồm cả); trong đó chuỗi nhẹ tiếp xúc với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 96-98 (gồm cả), 100, và 114-116 (gồm cả); trong đó các gốc tiếp xúc kháng thể là trong phạm vi sáu (6) angstrom hoặc nhỏ hơn, như được xác định bằng phép khảo sát tinh thể bằng tia X.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1), trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ; trong đó chuỗi nặng tiếp xúc với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả), và 112-116 (gồm cả); tùy ý, trong đó chuỗi nhẹ tiếp xúc với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 96-98 (gồm cả), 100, và 114-116 (gồm cả).

Sáng chế đề xuất kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1), trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ; trong đó chuỗi nặng tiếp xúc với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả), và 112-116 (gồm cả); tùy ý, trong đó chuỗi nhẹ tiếp xúc với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 96-98 (gồm cả), 100, và 114-116 (gồm cả); trong đó các gốc tiếp xúc kháng thể là trong phạm vi sáu (6) angstrom hoặc nhỏ hơn, như được xác định bằng phép khảo sát tinh thể bằng tia X.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1) để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ; trong đó chuỗi nặng tiếp xúc với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả), và 112-116 (gồm cả); tùy ý, trong đó chuỗi nhẹ tiếp xúc với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 96-98 (gồm cả), 100, và 114-116 (gồm cả); trong đó các gốc tiếp xúc kháng thể là trong phạm vi sáu (6) angstrom hoặc nhỏ hơn, như được xác định bằng phép khảo sát tinh thể bằng tia X.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1) để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ; trong đó chuỗi nặng tiếp xúc với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả), và 112-116 (gồm cả); tùy ý, trong đó chuỗi nhẹ tiếp xúc với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 96-98 (gồm cả), 100, và 114-116 (gồm cả); trong đó các gốc tiếp xúc kháng thể là trong phạm vi sáu (6) angstrom hoặc nhỏ hơn, như được xác định bằng phép khảo sát tinh thể bằng tia X.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1) để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ; trong đó chuỗi nặng tiếp xúc với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả), và 112-116 (gồm cả); tùy ý, trong đó chuỗi nhẹ tiếp xúc với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 96-98 (gồm cả), 100, và 114-116 (gồm cả); trong đó các gốc tiếp xúc với kháng thể là trong phạm vi sáu (6) angstrom hoặc nhỏ hơn, như được xác định bằng phép khảo sát tinh thể bằng tia X; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1) để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể bao gồm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ; trong đó chuỗi nặng tiếp xúc với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 55, 59, 63, 66, 72, 93-103 (gồm cả), và 112-116 (gồm cả); tùy ý, trong đó chuỗi nhẹ tiếp xúc với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 96-98 (gồm cả), 100, và 114-116 (gồm cả); trong đó các gốc tiếp xúc kháng thể là trong phạm vi sáu (6) angstrom hoặc nhỏ hơn, như được xác định bằng phép khảo sát tinh thể bằng tia X; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp .

Sáng chế đề xuất kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1), trong đó kháng thể này gắn kết ít nhất một trong số các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 97 và 115.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1), trong đó kháng thể này gắn kết với ít nhất hai trong số các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 97, 114, and 115.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1), trong đó kháng thể này gắn kết với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 97, 114, và 115.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1), trong đó kháng thể này gắn kết ít nhất một trong số các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 97 và 115; trong đó sự gắn kết được xác định bằng cách sử dụng protein CD137 đột biến của người có sự đột biến ở một hoặc nhiều trong số các gốc axit amin sau đây: 97, 114, và 115.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1), trong đó kháng thể này gắn kết với ít nhất hai trong số các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 97, 114 và 115; trong đó sự gắn kết được xác định bằng cách sử dụng protein CD137 đột biến của người có sự đột biến ở một hoặc nhiều trong số các gốc axit amin sau đây: 97, 114, và 115.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1) để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể gắn kết với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 97, 114 và 115; trong đó sự gắn kết được xác định bằng cách sử dụng protein CD137 đột biến của người có sự đột biến ở một hoặc nhiều trong số các gốc axit amin sau đây: 97, 114, và 115.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1) để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể này gắn kết với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 97, 114 và 115; trong đó sự gắn kết được xác định bằng cách sử dụng protein CD137 đột biến của người có sự đột biến ở một hoặc nhiều trong số các gốc axit amin sau đây: 97, 114, và 115.

Sáng chế đề xuất kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1) để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể gắn kết với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 97, 114 và 115; trong đó sự gắn kết được xác định bằng cách sử dụng protein CD137 đột biến của người có sự đột biến ở một hoặc nhiều trong số các gốc axit amin sau đây: 97, 114, và 115; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp .

Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể mà là chất chủ vận của CD137 người (SEQ ID NO:1) để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư, trong đó kháng thể này gắn kết với các gốc axit amin sau đây trên CD137 người: 97, 114 và 115; trong đó sự gắn

kết được xác định bằng cách sử dụng protein CD137 đột biến của người có sự đột biến ở một hoặc nhiều trong số các gốc axit amin sau đây: 97, 114, và 115; trong đó bệnh ung thư là ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư ống mật, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư trực tràng, hoặc ung thư tuyến giáp.

Sáng chế đề xuất kháng thể chủ vận CD137 hoàn toàn của người bao gồm hai hoặc nhiều dấu hiệu dưới đây: (a) kháng thể cạnh tranh với Phôi tử-CD137 người trong việc gắn kết với CD137 người; (b) kháng thể không gắn kết với FcγRI người, FcγRIIa người, FcγRIIb người, FcγRIIIa(F) người, FcγRIIIa(V) người, hoặc C1q người; (c) kháng thể gắn kết với CD137 khỉ cynomolgus; (d) kháng thể ức chế sự phát triển khối u phổi tế bào không nhỏ ở người dưới dạng liệu pháp đơn; và (e) kháng thể gia tăng tần suất của các tế bào T CD3⁺ trong khối u.

Các ví dụ không giới hạn về các tác nhân hóa trị liệu hữu dụng bao gồm 5-fluorouracil, hydroxyure, gemcitabin, methotrexat, doxorubicin, etoposid, carboplatin, cisplatin, cyclophosphamid, melphalan, dacarbazin, taxol, camptothecin, FOLFIRI, FOLFOX, docetaxel, daunorubicin, paclitaxel, oxaliplatin, và các kết hợp của chúng.

Thuật ngữ “kháng thể” như được sử dụng ở đây đề cập đến phức chất polypeptit có hai chuỗi nặng (HC) và hai chuỗi nhẹ (LC) sao cho các chuỗi nặng và các chuỗi nhẹ được liên kết với nhau bằng các liên kết disulfua; trong đó kháng thể kháng thể phân nhóm IgG.

Kháng thể theo sáng chế là phức hợp polypeptit được xử lý, không có trong tự nhiên. Phân tử ADN theo sáng chế là phân tử ADN mà chứa trình tự polynucleotit không có trong tự nhiên mã hóa polypeptit có trình tự axit amin của ít nhất một trong số các polypeptit trong kháng thể theo sáng chế.

Kháng thể theo sáng chế là kháng thể loại IgG và có các chuỗi “nặng” và các chuỗi “nhẹ” mà liên kết ngang thông qua các liên kết disulfua nội chuỗi và liên chuỗi. Mỗi chuỗi nặng gồm một HCVR tận cùng bằng N và một vùng hằng định của chuỗi nặng (“HCCR”). Mỗi chuỗi nhẹ gồm một LCVR và một vùng hằng định của chuỗi nhẹ (“LCCR”). Khi được biểu hiện trong các hệ sinh học nhất định, các kháng thể có trình tự Fc người tự nhiên được glycosyl hóa ở vùng Fc. Thông thường, sự glycosyl hóa xảy ra trong vùng Fc của kháng thể ở vị trí N-glycosyl hóa được bảo tồn cao. Các N-

glycan thường gắn vào asparagin. Các kháng thể cũng có thể được glycosyl hóa ở các vị trí khác.

Tùy ý, kháng thể kháng CD137 người được mô tả ở đây chứa phần Fc mà có nguồn gốc từ IgG1 người. IgG1 đã được biết rõ là liên kết với các protein thuộc họ thụ thể Fc-gama (Fc γ R) cũng như C1q. Việc tương tác với các thụ thể này có thể cảm ứng hoạt tính gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể (antibody-dependent cell cytotoxicity - ADCC) và hoạt tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (complement-dependent cytotoxicity - CDC). Do đó, tùy ý, kháng thể kháng CD137 người được mô tả ở đây là kháng thể đơn dòng hoàn toàn của người thiếu chức năng tác động Fc (IgG1, vô hiệu Fc). Để thu được kháng thể IgG1 vô hiệu Fc, cần có các đột biến gốc chọn lọc trong vùng CH2 của vùng Fc IgG1 của nó. Các phép thế axit amin L234A, L235E, và G237A được đưa vào Fc IgG1 để làm giảm liên kết với Fc γ RI, Fc γ RIIa, và Fc γ RIII, và các phép thế A330S và P331S được đưa vào để làm giảm sự cố định bổ thể qua trung gian C1q. Để giảm khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch khi được sử dụng theo liều ở người, các axit amin nhất định có thể cần đột biến ngược để khớp với các trình tự dòng mầm kháng thể.

Các vùng HCVR và LCVR có thể được chia tiếp thành các vùng siêu biến, được gọi là vùng xác định tính bổ trợ (CDR), đặt rải rác với các vùng mà được bảo toàn hơn, được gọi là các vùng khung (FR). Mỗi một HCVR và LCVR được tạo thành từ ba CDR và bốn FR, được sắp xếp từ đầu tận cùng amino đến đầu tận cacboxy theo thứ tự sau: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Ở đây, ba CDR của chuỗi nặng được gọi là “HCDR1, HCDR2, và HCDR3” và ba CDR của chuỗi nhẹ được gọi là “LCDR1, LCDR2, và LCDR3”. Các CDR chứa hầu hết các gốc tạo thành tương tác đặc hiệu với kháng nguyên. Đối với các mục đích của sáng chế, định nghĩa về CDR của North được sử dụng. Định nghĩa về CDR của North (North *et al.*, “A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations”, Journal of Molecular Biology, 406, 228-256 (2011)) dựa trên thuật toán phân cụm lan truyền độ tương tự với số lượng lớn các cấu trúc tinh thể.

ADN phân lập mã hóa vùng HCVR có thể được chuyển thành gen chuỗi nặng có độ dài đầy đủ bằng cách liên kết hoạt động ADN mã hóa HCVR với một phân tử ADN khác mã hóa các vùng hằng định của chuỗi nặng. Trong các trình tự của người

cũng như động vật có vú khác, các gen vùng hằng định của chuỗi nặng là đã biết trong lĩnh vực này. Các mảnh ADN bao gồm các vùng này có thể thu được, ví dụ, bằng phương pháp khuếch đại PCR chuẩn.

ADN phân lập mã hóa vùng LCVR có thể được chuyển thành gen chuỗi nhẹ có độ dài đầy đủ bằng cách liên kết hoạt động ADN mã hóa LCVR với một phân tử ADN khác mã hóa vùng hằng định của chuỗi nhẹ. Trong các trình tự của người cũng như động vật có vú khác, các gen vùng hằng định của chuỗi nhẹ là đã biết trong lĩnh vực này. Các mảnh ADN bao gồm các vùng này có thể thu được bằng phương pháp khuếch đại PCR chuẩn. Vùng hằng định của chuỗi nhẹ có thể là vùng hằng định kappa hoặc lambda. Tốt hơn nếu trong các kháng thể theo sáng chế, vùng hằng định của chuỗi nhẹ là vùng hằng định kappa.

Các polynucleotit theo sáng chế sẽ được biểu hiện trong tế bào chủ sau khi các trình tự đã được liên kết hoạt động với trình tự điều khiển việc biểu hiện. Các vector biểu hiện thường sao chép được trong sinh vật chủ dưới dạng episom hoặc dưới dạng phần không thể thiếu trong ADN nhiễm sắc thể chủ. Thông thường, các vector biểu hiện sẽ chứa các dấu chuẩn chọn lọc, ví dụ, tetracyclin, neomycin, và dihydrofolat reductaza, để cho phép phát hiện các tế bào được biến nạp bằng trình tự ADN mong muốn.

Kháng thể theo sáng chế có thể dễ dàng sản xuất được trong các tế bào động vật có vú, các ví dụ không giới hạn của tế bào này bao gồm các tế bào CHO, NS0, HEK293 hoặc COS. Các tế bào chủ được nuôi cấy bằng các kỹ thuật đã biết rõ trong lĩnh vực này.

Các vector chứa trình tự polynucleotit quan tâm (ví dụ, các polynucleotit mã hóa polypeptit của kháng thể và các trình tự điều khiển việc biểu hiện) có thể được chuyển vào tế bào chủ bằng phương pháp đã biết rõ, mà có thể thay đổi tùy thuộc vào loại tế bào chủ.

Nhiều phương pháp tinh chế protein khác nhau có thể được sử dụng và các phương pháp như vậy đã biết trong lĩnh vực này và được mô tả, chẳng hạn trong bài báo của Deutscher, *Methods in Enzymology* 182: 83-89 (1990) và Scopes, *Protein Purification: Principles and Practice*, 3rd Edition, Springer, NY (1994).

Theo các phương án khác của sáng chế, kháng thể, hoặc các axit nucleic mã hóa kháng thể, được tạo ra ở dạng phân lập. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “phân lập” để chỉ protein, peptit hoặc axit nucleic không chứa hoặc về cơ bản là không chứa các đại phân tử bất kỳ khác được phát hiện trong môi trường tế bào. “Về cơ bản là không chứa” như được sử dụng ở đây có nghĩa là protein, peptit, hoặc axit nucleic quan tâm chứa các đại phân tử có mặt với lượng nhiều hơn 80% (trên cơ sở mol), tốt hơn là nhiều hơn 90%, và tốt hơn nữa là nhiều hơn 95%.

Kháng thể theo sáng chế, hoặc dược phẩm chứa kháng thể này, có thể được dùng ngoài đường tiêu hóa, ví dụ không giới hạn về đường dùng này là dùng trong tĩnh mạch. Kháng thể theo sáng chế có thể được sử dụng đơn độc cho bệnh nhân với các chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược được dùng theo liều đơn hoặc nhiều liều. Các dược phẩm theo sáng chế theo sáng chế có thể được bào chế bằng các phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực này (ví dụ, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 22nd ed. (2012), A. Loyd et al., Pharmaceutical Press) và chứa kháng thể, như được bộc lộ ở đây, và một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược được dùng.

Các chế độ liều dùng có thể được điều chỉnh để mang lại đáp ứng mong muốn tối ưu (ví dụ, hiệu quả điều trị). Liều lượng điều trị có thể được chuẩn độ để tối ưu hóa độ an toàn và tính hiệu quả. Các phác đồ liều dùng, để dùng trong tĩnh mạch (intravenous - *i.v.*) hoặc không trong tĩnh mạch, dùng cục bộ hoặc toàn thân, hoặc kết hợp các đường dùng, thường sẽ thay đổi từ một liều bolus đơn hoặc truyền liên tục đến dùng nhiều lần trong ngày (ví dụ, cứ mỗi 4-6 giờ một lần), hoặc như được chỉ định bởi bác sĩ điều trị và tình trạng của bệnh nhân. Liều lượng và tần suất có thể được xác định bởi bác sĩ điều trị bệnh nhân.

Thuật ngữ "việc điều trị" (hoặc "điều trị" hoặc "phép điều trị") để chỉ việc làm chậm, làm gián đoạn, làm ngừng, làm thuyên giảm, dùng, giảm, hoặc đẩy lùi sự tiến triển hoặc mức độ nghiêm trọng của triệu chứng, rối loạn, tình trạng, hoặc bệnh đã có.

“Lượng hữu hiệu” là lượng kháng thể theo sáng chế hoặc dược phẩm chứa kháng thể theo sáng chế mà sẽ gây ra đáp ứng sinh học hoặc đáp ứng y học hoặc tác dụng điều trị mong muốn trên mô, toàn thân, động vật, động vật có vú hoặc người mà nhà nghiên cứu, bác sĩ, hoặc bác sĩ lâm sàng nhắm đến. Lượng hữu hiệu của kháng thể có thể thay đổi theo các yếu tố như tình trạng bệnh, độ tuổi, giới tính, và thể trọng của

cá thể, và khả năng tạo ra đáp ứng mong muốn ở cá thể của kháng thể. Lượng hữu hiệu cũng là lượng mà trong đó tác dụng độc hoặc bất lợi bất kỳ của kháng thể nhỏ hơn rất nhiều so với các tác dụng có lợi trong điều trị.

Đặc trưng hóa, tạo ra, biểu hiện, và tinh chế kháng thể

Việc sản xuất kháng thể sử dụng trình tự polynucleotit chuỗi nặng được thể hiện trong SEQ ID NO: 14, và trình tự polynucleotit chuỗi nhẹ được thể hiện trong SEQ ID NO: 17 trong các tế bào động vật có vú dẫn đến việc sản xuất hai nhóm liên quan đến sản phẩm kháng thể: (a) kháng thể có chiều dài đầy đủ (ở đây được gọi là “Kháng thể A1”) có trình tự axit amin chuỗi nặng được thể hiện trong SEQ ID NO: 10 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ được nêu trong SEQ ID NO: 11; và (b) dạng cắt bớt axit amin đơn của kháng thể (ở đây được gọi là “Kháng thể A2”) thu được từ sự phân cắt alanin đầu tận cùng N của chuỗi nhẹ, Kháng thể A2 có trình tự axit amin chuỗi nặng được thể hiện trong SEQ ID NO: 10 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ được thể hiện trong SEQ ID NO: 13. Như được sử dụng ở đây, “Kháng thể A1/2” đề cập đến sản phẩm kháng thể mà thu được từ việc sử dụng trình tự polynucleotit chuỗi nhẹ được thể hiện trong SEQ ID NO: 17 và bao gồm sự kết hợp của Kháng thể A1 (~6%) và Kháng thể A2 (~94%). Kháng thể A1 có thể được tổng hợp mà không có các lượng đáng kể của Kháng thể A2 sử dụng trình tự polynucleotit chuỗi nặng được thể hiện trong SEQ ID NO: 14 và trình tự polynucleotit chuỗi nhẹ được thể hiện trong SEQ ID NO: 15. Kháng thể A2 có thể được tổng hợp mà không có các lượng đáng kể của Kháng thể A1 sử dụng trình tự polynucleotit chuỗi nặng được thể hiện trong SEQ ID NO: 14 và trình tự polynucleotit chuỗi nhẹ được thể hiện trong SEQ ID NO: 16.

Kháng thể theo sáng chế có thể được tạo ra bằng các phương pháp đã biết bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, biểu hiện ở thể thực khuẩn. Ngoài ra, kháng thể thu được như được mô tả trên đây có thể được sàng lọc thêm bằng cách sử dụng các thử nghiệm được mô tả ở đây.

Các polypeptit của các vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ và các trình tự axit amin chuỗi nặng và chuỗi nhẹ hoàn chỉnh của các Kháng thể A1 và A2, và các trình tự nucleotit mã hóa chúng, được liệt kê trong phần có tựa đề “Trình tự axit amin và nucleotit”. Ngoài ra, các SEQ ID NO của chuỗi nhẹ, chuỗi nặng, vùng biến đổi của

chuỗi nhẹ, và vùng biến đổi của chuỗi nặng của các Kháng thể A1, A2, và A1/2 được thể hiện trên các bảng 1 & 2.

Bảng 1

SEQ ID tương ứng (Axit amin)	Kháng thể A1	Kháng thể A2
HCDR1	2	2
HCDR2	3	3
HCDR3	4	4
LCDR1	5	5
LCDR2	6	6
LCDR3	7	7
HCVR	8	8
LCVR	9	12
Chuỗi nặng	10	10
Chuỗi nhẹ	11	13

Bảng 2

SEQ ID tương ứng (ADN)	Kháng thể A1	Kháng thể A2	Kháng thể A1/2
HC	14	14	14
LC	15	16	17

Các kháng thể theo sáng chế, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các Kháng thể A1, A2 và A1/2, có thể được tạo ra và được tinh chế cơ bản như sau. Tế bào chủ thích hợp, như tế bào HEK 293 hoặc CHO, có thể được chuyển nhiễm tạm thời hoặc ổn định với hệ biểu hiện để tiết kháng thể bằng cách sử dụng tỷ lệ vector HC:LC tối ưu định trước hoặc hệ vector duy nhất mã hóa cả HC và LC. Môi trường đã làm trong, mà kháng thể đã được tiết vào đó, có thể được tinh chế bằng cách sử dụng kỹ thuật bất kỳ

trong số nhiều kỹ thuật thường dùng. Ví dụ, môi trường có thể được đưa một cách thuận tiện lên cột MabSelect (GE Healthcare), hoặc cột KappaSelect (GE Healthcare), mà đã được cân bằng bằng dung dịch đệm tương thích, như nước muối đệm bằng phosphat (độ pH=7,4). Cột có thể được rửa để loại bỏ các thành phần gắn kết không đặc hiệu. Kháng thể gắn kết có thể được rửa giải, ví dụ, bằng gradien độ pH (như dung dịch đệm Tris 20 mM độ pH=7 đến dung dịch đệm natri xitrat 10 mM độ pH = 3,0, hoặc nước muối được đệm bằng phosphat độ pH=7,4 đến dung dịch đệm glyxin 100 mM độ pH=3,0). Các phân đoạn kháng thể được phát hiện, như bằng cách hấp thụ UV hoặc SDS-PAGE, và sau đó có thể được gom lại. Việc tinh chế tiếp là tùy ý, tùy thuộc vào mục đích sử dụng. Kháng thể có thể được cô đặc và/hoặc lọc vô trùng bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường. Thể kết tụ và các multime hòa tan có thể được loại bỏ một cách hiệu quả bằng các kỹ thuật thông thường, bao gồm sắc ký loại trừ theo kích thước, sắc ký tương tác kỵ nước, sắc ký trao đổi ion, sắc ký đa phương thức, hoặc sắc ký hydroxyapatit. Sản phẩm có thể được làm lạnh đông ngay ở -70 °C hoặc có thể được đông khô.

Như được sử dụng ở đây, BMS20H4.9 đề cập đến kháng thể có chuỗi nặng được thể hiện trong SEQ ID NO: 18 và chuỗi nhẹ được thể hiện trong SEQ ID NO: 19, và đã được mô tả trong US7288638. Như được sử dụng ở đây, PF83 đề cập đến kháng thể có chuỗi nặng được thể hiện trong SEQ ID NO: 20 và chuỗi nhẹ được thể hiện trong SEQ ID NO: 21, và đã được mô tả trong US8337850.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Kháng thể A1/2 gắn kết với CD137 người

Khả năng của các kháng thể được bộc lộ ở đây trong việc gắn kết với CD137 người có thể được đo bằng ELISA. Để đo sự gắn kết với CD137 người, đĩa 96 lỗ (Nunc) được phủ bằng Fc-CD137 người (R&D Systems) qua đêm ở 4°C. Các lỗ được phong bế trong 2 giờ bằng chất đệm phong bế (PBS chứa 0,2% albumin huyết thanh bò và 0,05% Tween-20). Các lỗ được rửa ba lần bằng PBS chứa 0,05% Tween-20. Sau đó kháng thể A1/2 hoặc IgG đối chứng (100 microlít) được bổ sung vào ở các nồng độ khác nhau và được ủ ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Sau khi rửa, đĩa được ủ bằng 100 microlít thể liên hợp HRP-F(ab')₂ của dê kháng IgG người (Jackson Immuno Research Laboratories) ở nhiệt độ phòng trong 45 phút. Các đĩa được rửa và sau

đó được ủ bằng 100 microlít 3,3', 5,5'-tetra-methylbenzidin. Độ hấp thụ ở 650 nm được đọc trên máy đọc vi đĩa SpectraMax®. Nồng độ hữu hiệu bán tối đa (EC₅₀) được tính toán bằng cách sử dụng phần mềm GraphPad Prism 7.

Trong các thử nghiệm được thực hiện về cơ bản như được mô tả trên đây, Kháng thể A1/2 gắn kết với CD137 người với EC₅₀ là 0,027 nM.

Kháng thể A1/2 gắn kết với CD137 khỉ cynomolgus

Khả năng của các kháng thể được bộc lộ ở đây trong việc gắn kết với CD137 khỉ cynomolgus ở bề mặt tế bào có thể được đo bằng cách sử dụng thử nghiệm phân tích tế bào theo dòng. Tế bào ổn định biểu hiện CD137 khỉ cynomolgus được tạo ra bằng cách chuyển nhiễm ADN plasmid thụ thể Cyno-CD137 vào các tế bào 293 của người (ATCC) sử dụng chất phản ứng Lipofectamine™ 2000 (Invitrogen™) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các tế bào ổn định được chọn bằng cách sử dụng 0,5 microgram/mL puromycin trong môi trường Eagle được cải biến Dulbeco chứa 10% huyết thanh thai bò và 1% GlutaMAX™. Để phân tích tế bào theo dòng, các tế bào bám dính hợp dòng được tách riêng bằng cách sử dụng dung dịch đệm phân ly tế bào Gibco® (Life Technologies), phong bế trong dung dịch đệm FACS (nước muối đệm phosphat chứa 3% huyết thanh thai bò) trong 1 giờ ở 4°C, và sau đó được đưa vào đĩa đáy tròn 96 lỗ ở mật độ 1×10^5 tế bào/lỗ. Kháng thể A1/2, BMS20H4.9, PF83, hoặc IgG1 người đối chứng (được pha loãng trong dung dịch đệm FACS 1:4 bắt đầu ở mức 0,5 microgram/mL) được bổ sung (100 microlít) và các tế bào được nhuộm trong 1 giờ ở 4°C.

Sau khi rửa trong dung dịch đệm FACS, kháng thể đặc hiệu của dê kháng mảnh F(ab')₂ của IgG người được liên hợp với kháng thể thứ cấp R-phycoerythrin (Jackson ImmunoResearch Laboratories) được bổ sung ở mức pha loãng 1:200 và các tế bào được ủ ở 4°C trong 30 phút. Các tế bào được rửa và việc nhuộm tế bào sống/chết được thực hiện bằng cách sử dụng kit nhuộm tế bào chết đỏ xa cố định được LIVE/DEAD® (Life Technologies) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các tế bào được rửa trong dung dịch đệm FACS và được xử lý trên hệ sàng lọc IntelliCyt HTFC®. Dữ liệu phân tích tế bào theo dòng được phân tích bằng cách sử dụng phần mềm FlowJo®. Tỷ số cường độ huỳnh quang trung bình (Mean fluorescence intensity - MFI) được tính là (MFI của kháng thể thử nghiệm)/(MFI của IgG đối chứng).

Trong các thử nghiệm được thực hiện về cơ bản là như mô tả trên đây, Kháng thể A1/2 ở nồng độ 0,5 microgram/mL thể hiện tỷ số MFI cao hơn ở mức 153 so với BMS20H4.9 (tỷ số MFI là 0,94) và PF83 (tỷ số MFI là 37).

Kháng thể A1/2 gắn kết trên các tế bào người làm gia tăng sự biểu hiện CD137

Khả năng của các kháng thể được bộc lộ ở đây trong việc điều biến các mức CD137 trên bề mặt tế bào có thể được xác định như sau. Tế bào ổn định biểu hiện CD137 người được tạo ra bằng cách chuyển nhiễm ADN plasmid CD137 người vào các tế bào 293 của người (ATCC) sử dụng chất phản ứng Lipofectamine™ 2000 (Invitrogen™) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các tế bào ổn định được chọn bằng cách sử dụng 0,5 microgram/mL puromycin trong môi trường Eagle được cải biến Dulbeco chứa 10% huyết thanh thai bò và 1% GlutaMAX™. Các kháng thể CD137 bắt đầu ở mức 300 nanomol trong môi trường được ủ với các tế bào ở 37°C trong 24 giờ. Các tế bào được rửa bằng PBS, tách riêng bằng cách sử dụng dung dịch đệm phân ly tế bào Gibco®, và được nhuộm với các kháng thể CD137 giống như vậy trong dung dịch đệm lạnh (1x PBS, 1% BSA, 0,09% natri azit) trong 2 giờ. Sau khi rửa, các tế bào được nhuộm với kháng thể phát hiện của dê kháng IgG của người được liên hợp với Alexa Fluor 647 (Jackson ImmunoResearch Laboratories) trong 30 phút. Các tế bào được rửa và được đánh dấu phân biệt bằng Zombie Green Live/Dead (BioLegend) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Tất cả các tế bào được xử lý trên Fortessa X-20. Phân tích được thực hiện với phần mềm FlowJo® để tạo ra cường độ huỳnh quang trung bình (Median Fluorescence Intensity - MFI) của Alexa Fluor 647 và được hiệu chuẩn đối với các phân tử Alexa Fluor 647 của đường cong chuẩn fluorochrom hòa tan trong đường (MESF) (Bangs Laboratories). Các giá trị MESF được chuẩn hóa với các đối chứng được nhuộm không được xử lý (100%) và các đối chứng được nhuộm isotyp không được xử lý (0%).

Trong các thử nghiệm được thực hiện về cơ bản như được mô tả trên đây, Kháng thể A1/2 ở nồng độ 300 nanomol cảm ứng sự tăng (21%) ở các mức CD137 so với PF83 (12%) trong khi đó BMS20H4.9 giảm CD137 trên bề mặt tế bào khoảng 56%.

Hoạt tính của Kháng thể A1/2 trong thử nghiệm gen thông báo Luciferaza NF-kappaB

Khả năng của các kháng thể được bộc lộ ở đây trong việc hoạt hóa NF-kappaB có thể được đo như sau. Các tế bào 293-CD137 người/gen thông báo luciferaza NF-kappaB ổn định kép được tạo ra bằng cách chuyển nhiễm ADN plasmid pGL4.32[luc2P/NF-kappaB-RE/Hygro] (Promega) vào các tế bào 293 biểu hiện CD137 người bằng cách sử dụng chất phản ứng Lipofectamine™ 2000 (Life Technologies) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các tế bào ổn định được chọn bằng cách sử dụng 100 microgram/mL hygromycin và 0,5 microgram/mL puromycin trong môi trường Eagle được cải biến Dulbeco chứa 10% huyết thanh thai bò và 1% GlutaMAX™. Các tế bào được gieo cấy trong đĩa 384 lỗ ở mật độ 5×10^3 tế bào/lỗ sử dụng thiết bị phân phối chất phản ứng Thermo MultiDrop Combi (Thermo Fisher Scientific) và được nuôi cấy qua đêm ở 37°C. Kháng thể A1/2, BMS20H4.9, PF83, hoặc IgG1 người đối chứng được pha loãng trong nước muối đệm phosphat (PBS) sử dụng Hamilton STAR™ (Hamilton Company) ở các thể pha loãng 2 lần 10 điểm trong đĩa bắt đầu ở 9 micromol hoặc 1,33 micromol và được chuyển vào các tế bào. Sau đó, các tế bào được ủ với kháng thể trong 5,5 giờ ở 37°C trong 5% CO₂ và sau đó được xử lý bằng cách sử dụng hệ thử nghiệm Luciferaza ONE-Glo™ (Promega™) và thiết bị phân phối chất phản ứng Combi Thermo™ Scientific MultiDrop™. Mức độ phát quang được đo bằng cách sử dụng máy đọc vi đĩa SpectraMax® (Thiết bị phân tử) và việc phân tích dữ liệu được thực hiện bằng cách sử dụng Genedata Screener® (Genedata). Dữ liệu được chuẩn hóa như sau: % Hoạt tính = [(Giá trị lỗ-Trung bình của đối chứng tối thiểu)/(Trung bình của đối chứng tối đa-Trung bình của đối chứng tối thiểu)] x 100%.

Trong các thử nghiệm được thực hiện về cơ bản như được mô tả trên đây, Kháng thể A1/2 thể hiện hoạt tính tối đa là 78% là cao hơn PF83 (hoạt tính tối đa là 12%) và thấp hơn BMS20H4.9 (hoạt tính tối đa là 115%).

Kháng thể A1/2 thúc đẩy sự sản sinh Interferon-Gamma thu được từ tế bào T

Khả năng của các kháng thể được bộc lộ ở đây trong việc thúc đẩy sự sản sinh interferon-gamma (IFN-gamma) thu được từ tế bào T có thể được đo như sau. Các tế bào đơn nhân máu ngoại biên của người (peripheral blood mononuclear cells - PBMCs) được phân lập từ máu nguyên chất hoặc bạch cầu bằng cách ly tâm gradien mật độ Ficoll (Ficoll® Paque PLUS; GE Healthcare) và được phát triển trong môi

trường Roswell Park Memorial Institute (RPMI) (Life Technologies) với 10% huyết thanh thai bò (HyClone). Kháng thể kháng CD3 người dòng HIT3a (BD Biosciences) trong PBS được phủ lên đĩa 96 lỗ (khoảng diện tích là: 2 đến 15 nanogram/lỗ) và được ủ qua đêm ở 4°C. Sau khi hút, các lỗ được rửa bằng PBS và PBMCs người được đưa vào đĩa 96 lỗ ở mật độ $1,5 \times 10^5$ tế bào/lỗ. Kháng thể A1/2, BMS20H4.9, PF83, hoặc IgG1 người đối chứng được chuẩn bị bằng cách pha loãng theo tỷ lệ 1:4 trong RPMI chứa 10% huyết thanh thai bò ở nồng độ bắt đầu là 80 microgram/mL. Kháng thể kháng CD28 người dòng CD28.2 (BioLegend) được bổ sung vào đĩa (khoảng diện tích là 0,2 đến 2 microgram/mL) sau đó là kháng thể thử nghiệm và được ủ trong 96 giờ ở 37°C trong tủ áp 5% CO₂ được làm ẩm. Các dịch nổi được thu gom và các mức IFN-gama người được đo bằng cách sử dụng bộ kit ELISA IFN-gama người DuoSet R&D Systems®. Ngắn gọn là, kháng thể bắt giữ IFN-gama được phủ lên đĩa (4 microgram/mL) qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi hút và rửa, đĩa được phong bế trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Các dịch nổi chứa mẫu và IFN-gama chuẩn được bổ sung và ủ trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi rửa, 100 microlit kháng thể phát hiện IFN-gama được bổ sung, ủ trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng, và rửa. Streptavidin-HRP (100 microlit của thể pha loãng 1:40) được bổ sung trong 20 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi rửa, các đĩa được phát triển bằng cách bổ sung 100 microlit dung dịch cơ chất trong 20 phút sau đó bổ sung 50 microlit dung dịch chấm dứt phản ứng, và tín hiệu được đo ở bước sóng 450 nm bằng máy đọc vi đĩa SpectraMax®. Việc phân tích dữ liệu được thực hiện bằng cách sử dụng phần mềm SoftMax Pro và GraphPad Prism (GraphPad Software). Số lần cảm ứng được tính là IFN-gama trung bình của mẫu (pg/mL)/IFN-gama trung bình của hIgG1 đối chứng (pg/mL).

Trong các thử nghiệm được thực hiện về cơ bản như nêu trên, Kháng thể A1/2 làm tăng cường sự hoạt hóa cận tối ưu đối với PBMCs người bởi sự đồng kích thích CD3/CD28 như được đo bằng sự sản sinh xytokin IFN-gama. Về vấn đề này, việc xử lý với Kháng thể A1/2 ở mức 5 microgram/ml dẫn đến sự gia tăng sản sinh IFN-gama 3,8 lần là cao hơn so với PF83 (sự gia tăng chỉ 1,6 lần) và thấp hơn BMS20H4.9 (sự gia tăng là 9,4 lần).

Thử nghiệm gắn kết pha rắn Kháng thể A1/2

Sự gắn kết của Kháng thể A1/2 với C1q người có thể được đo bằng cách sử dụng thử nghiệm ELISA. Kháng thể A1/2 và các kháng thể đối chứng (IgG1 đối chứng âm) được pha loãng theo chuỗi trong PBS và được phủ lên đĩa ELISA qua đêm ở 4°C. C1q người trong dung dịch đậm casein được bổ sung ở nồng độ 10 milligram/mL và được ủ trong 2 giờ. C1q người được phát hiện bằng cách ủ các đĩa với HRP-kháng C1q người (AbD Serotec Inc., thể pha loãng 1:200) trong 1 giờ và đĩa được phát triển bằng cách sử dụng TMB (KPL, Inc.). Độ hấp thụ được đo ở 450 nm bằng máy đọc lai đa phương thức Synergy Neo2 (BioTek®).

Sự gắn kết của Kháng thể A1/2 với FcγRI, FcγRIIa(H), FcγRIIb, FcγRIIIa(F), và FcγRIIIa(V) được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm MSD (Meso Scale Diagnostics). Ngắn gọn là, các thụ thể Fcγ được phủ lên đĩa Meso Scale qua đêm và các kháng thể thử nghiệm đã pha loãng theo chuỗi được bổ sung vào đĩa và được ủ trong 2 giờ. Kháng thể A1/2 được phát hiện bằng cách sử dụng kháng thể thứ cấp kháng người (Meso Scale Diagnostics, D20TF-6) và đĩa được phát triển bằng dung dịch đệm đọc T (Read Buffer T) (Meso Scale Diagnostics, R92TC-1). Mức độ phát quang được đo trên thiết bị SECTOR Imager 2400 (Meso Scale Diagnostics) và dữ liệu được phân tích bằng cách sử dụng phần mềm GraphPad Prism 7.0.

Bảng 3

Kháng thể	FcγRI (EC ₅₀ nM)	FcγRIIa(H) (EC ₅₀ nM)	FcγRIIb (EC ₅₀ nM)	FcγRIIIa(F) (EC ₅₀ nM)	FcγRIIIa(V) (EC ₅₀ nM)	C1q người (EC ₅₀ nM)
Kháng thể A1/2	>5*	>134*	>134*	>134*	>134*	>330*
IgG1 đối chứng dương (chức năng tác động thụ thể Fc nguyên vẹn)	0,8	93,7	>134*	19	6,2	8,9

* Biểu thị nồng độ tối đa của kháng thể được thử nghiệm

Trong các thử nghiệm được thực hiện chủ yếu như được mô tả trên đây, Kháng thể A1/2 không gắn kết với FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIIa, FcγRIIIa, hoặc C1q (như được thể hiện trong Bảng 3 nêu trên). Trong các thử nghiệm khác, Kháng thể

A1/2 thể hiện là không có chức năng tác động phát hiện được trong thử nghiệm độc tính gây hại tế bào phụ thuộc kháng thể trên cơ sở tế bào và trong thử nghiệm độc tính gây hại tế bào phụ thuộc bổ thể.

Hiệu lực chống khối u của Kháng thể A1/2 trên mô hình khối u được thiết lập

Dòng tế bào khối u ung thư phổi tế bào không nhỏ (ATCC) HCC827 người được duy trì trong môi trường tương ứng của nó và được thu hoạch để cấy. Các tế bào khối u (1×10^7 tế bào trên một con chuột) được tiêm dưới da vào sườn phải của các con chuột nhắt cái NOD/SCID Gama (NSG) ở 7 tuần tuổi (Jackson Laboratories). Khi các khối u đạt đến kích cỡ khoảng 350 mm^3 đến 450 mm^3 , các con chuột được chia ngẫu nhiên vào các nhóm gồm 5 đến 8 con. Các tế bào T mở rộng của người được tạo ra bằng cách kích thích PBMCs tự nhiên của người bằng các giọt CD3/CD28 mở rộng T người Dynabeads® (Thermo Fisher Scientific) trong 9 đến 10 ngày và thu gom. PBMCs người (NY Blood Center) được điều chế bằng cách ly tâm trên Ficoll® Paque PLUS trong các ống SepMate (STEMCELL Technologies) và được thu gom. Các tế bào T mở rộng được làm rã đông và 1×10^6 tế bào được tiêm vào các con chuột nhắt. Để làm đối chứng, chỉ các tế bào khối u được cấy mà không có các tế bào T hoặc PBMCs ở một số con chuột. Việc điều trị bắt đầu ở Ngày 0 hoặc Ngày 1. Các nhóm điều trị bao gồm IgG đối chứng, BMS20H4.9, PF83, và Kháng thể A1/2. Các con chuột được dùng liều bằng cách tiêm trong màng bụng ở liều lượng kháng thể là 10 mg/kg hàng tuần trong 4 tuần. Trọng lượng cơ thể (Body weight - BW) được ghi lại hai lần một tuần và phần trăm thay đổi BW được tính bằng cách sử dụng công thức: $(\text{BW ở ngày quan sát} - \text{BW ở ngày đầu tiên}) / \text{BW ngày đầu tiên} \times 100\%$. Thể tích khối u được đo hai lần mỗi tuần bằng cách sử dụng thước đo điện tử. Thể tích khối u được tính bằng cách sử dụng công thức: $\text{Thể tích khối u (mm}^3\text{)} = \pi/6 * \text{chiều dài} * \text{chiều rộng}^2$. %T/C được tính bằng cách sử dụng công thức $100 \times \Delta T / \Delta C$ nếu $\Delta T > 0$ của giá trị trung bình nhân. ΔT = thể tích khối u trung bình của nhóm được điều trị bằng thuốc vào ngày quan sát trong nghiên cứu trừ đi thể tích khối u trung bình của nhóm được điều trị bằng thuốc vào ngày bắt đầu sử dụng liều; ΔC = thể tích khối u trung bình của nhóm đối chứng vào ngày quan sát trong nghiên cứu trừ đi thể tích khối u trung bình của nhóm đối chứng vào ngày bắt đầu sử dụng liều. Phân tích thống kê dữ liệu thể tích khối u được thực hiện bằng phương pháp phân tích số đo lặp hai chiều đối

với các phương sai theo thời gian và việc điều trị nhờ sử dụng phương thức MIXED trong phần mềm SAS (Version 9.2).

Trong các thử nghiệm được thực hiện về cơ bản như nêu trên, các con chuột được điều trị bằng Kháng thể A1/2 chứng minh sự ức chế phát triển khối u đáng kể ($T/C\% = 30,6$; $P < 0,001$) ngược lại với các con chuột được điều trị bằng PF83 ($T/C\% = 81,2$) và BMS20H4.9 ($T/C\% = 96,9$) mà thể hiện là không có sự ức chế.

Kết quả động lực/ái lực đối với Kháng thể A1, Kháng thể A2, và Kháng thể A1/2

Thiết bị Biacore T200 có thể được sử dụng để đo động lực của Fc-CD137 người đã được cố định trong việc liên kết với Kháng thể A1, Kháng thể A2, và Kháng thể A1/2. Protein Fc-CD137 ngoại bào tái tổ hợp của người (R&D Systems) được cố định bằng cách liên kết cộng hóa trị vào chip cảm biến CM5 thông qua việc kết hợp amin (GE Healthcare). Thử nghiệm kháng thể CD137 được thực hiện ở lưu lượng 30 microlit/phút trong dung dịch đệm HBS-EP+. Các mẫu được tiêm ở nồng độ khác nhau và các số đo thu được ở 25°C. Bề mặt được hồi phục sau mỗi lần tiêm mẫu bằng 10 millimol Glyxin-HCl pH=2,0 ở lưu lượng 30 microlit/phút trong 24 giờ và sau đó được làm ổn định bằng dung dịch đệm trong 10 giây. Đồ thị đáp ứng theo thời gian (Sensorgram) của nồng độ nằm trong khoảng từ 0,123 nanomol đến 30 nanomol được đánh giá bằng cách sử dụng phần mềm Biacore T200. Việc tính hằng số kết hợp (K_a) và hằng số phân ly (K_d) được dựa trên sự khớp mô hình gắn kết Langmuir 1:1. Hằng số phân ly cân bằng (K_D) hoặc hằng số ái lực gắn kết được tính toán từ tỷ lệ giữ các hằng số tốc độ động học K_d/K_a .

Trong các thử nghiệm được thực hiện về cơ bản là như mô tả trên đây, Kháng thể A1, Kháng thể A2, và Kháng thể A1/2 gắn kết với CD137 người với động lực và hằng số ái lực được minh họa trong bảng 4.

Bảng 4

Kháng thể	K_{on} (1/Ms)	K_{off} (1/s)	K_D (M)	R_{max}	χ^2
Kháng thể A2	1,33E+06	7,13E-03	5,36E-09	23,10	0,247
Kháng thể A1	1,61E+06	5,36E-03	3,33E-09	22,76	0,355
Kháng thể A1/2	1,52E+06	7,11E-03	4,67E-09	20,86	0,303

Thử nghiệm gen thông báo Luciferaza NF-kappaB so sánh Kháng thể A1, Kháng thể A2, và Kháng thể A1/2

Khả năng của các kháng thể được bộc lộ ở đây trong việc hoạt hóa NF-kappaB có thể được đo như đã nêu trên đây với sự cải biến ở chỗ các thể pha loãng kháng thể được chuẩn bị trong PBS và các thể pha loãng 2 lần 10 điểm được tạo ra trong đĩa bắt đầu ở mức 9 micromol.

Trong các thử nghiệm được thực hiện về cơ bản là như mô tả trên đây, Kháng thể A1/2 (hoạt tính tối đa là 70,5%) thể hiện hoạt tính tối đa tương tự khi so với Kháng thể A1 (hoạt tính tối đa là 63,4%) và Kháng thể A2 (hoạt tính tối đa là 72,3%).

Kháng thể A1 và Kháng thể A2 thúc đẩy sự sản sinh Interferon-Gama thu được từ tế bào T

Khả năng của các kháng thể được bộc lộ ở đây trong việc thúc đẩy sự sản sinh interferon-gama (IFN-gama) thu được từ tế bào T có thể được đo như đã được mô tả trên đây. Trong các thử nghiệm được thực hiện về cơ bản là như được mô tả ở đây, Kháng thể A1, Kháng thể A2, và Kháng thể A1/2 làm tăng cường sự hoạt hóa cận tối ưu của PBMCs người bằng việc đồng kích thích CD3/CD28 như được đo bằng sự sản xuất cytokin IFN-gama. Về vấn đề này, việc xử lý với Kháng thể A1/2 ở mức 5 microgram/mL dẫn đến sự gia tăng sản sinh IFN-gama 3,1 lần là có thể so sánh với Kháng thể A1 (sự gia tăng là 3,5 lần) và Kháng thể A2 (sự gia tăng là 3,5 lần).

Hiệu lực chống khối u của Kháng thể A1 và Kháng thể A2 trên mô hình khối u được thiết lập

Khả năng của các kháng thể được bộc lộ ở đây trong việc ức chế sự phát triển khối u ở chuột có thể được đo như đã được mô tả ở đây.

Trong các thử nghiệm được thực hiện về cơ bản là như được mô tả trên đây, Kháng thể A1, Kháng thể A2, và Kháng thể A1/2 ức chế sự phát triển khối u trong mô hình khối u được thiết lập HCC827. Việc điều trị bằng Kháng thể A1/2 (T/C% = 47,1%; $P < 0,001$) thể hiện khả năng giảm sự phát triển khối u tương tự như Kháng thể A1 (T/C% = 56,0%; $P < 0,001$) và Kháng thể A2 (T/C% = 48,7%; $P < 0,001$).

Epitop của Kháng thể A1 như được xác định bằng phép khảo sát tinh thể bằng tia X

Kháng thể A1-Fab được tinh chế từ dịch nổi tế bào 293HEK bằng cách sử dụng 12 mL chất nền ái lực CH1-IgG bắt giữ chọn lọc (CaptureSelect IgG-CH1 Affinity Matrix). SDS-PAGE và sắc ký loại trừ theo kích thước phân tích (size exclusion chromatography -SEC) được sử dụng để nhắm đến độ tinh khiết và chất lượng của Kháng thể A1-Fab được tinh chế. Vật liệu rửa giải của chất nền này là dung dịch đệm được trao đổi với nước muối đệm Tris 1X (TBS). hCD137* (*(các axit amin 22-161 của CD137 người, Δ C121S)-AAA-6His) được tinh chế từ dịch nổi 293HEK trong ba bước sử dụng các cột Ni Sepharose® Excel, cột Ni-NTA, và cột SEC. Ngắn gọn là, hai lít dịch nổi được nạp trực tiếp mà không có sự trao đổi chất đệm bất kỳ vào cột Ni Sepharose Excel. Chất rửa giải của bước này là dung dịch đệm được trao đổi với PBS và được tinh chế tiếp bằng cách sử dụng cột chảy theo trọng lực Ni-NTA. Chất rửa giải của bước này được tinh chế tiếp và dung dịch đệm được trao đổi với 1X TBS bằng cách sử dụng cột SEC điều chế. Dòng chảy từ bước Ni Sepharose Excel thứ nhất chứa lượng hCD137* đáng kể. Sau đó nó được nạp lại vào cột Ni Sepharose Excel sau đó là cột Ni-NTA và cột SEC điều chế. SDS-PAGE được sử dụng để thu gom các phân đoạn hCD137* dựa trên độ tinh khiết của chúng. Nồng độ của hCD137* là 14,5 milligram/mL và nồng độ của Kháng thể A1-Fab là 7,5 milligram/mL.

Các phức hợp Kháng thể A1-Fab:CD137* được kết hợp ở tỷ lệ mol 1:1 và sau đó được đưa vào cột lọc gel, làm cân bằng trước trong 20 milimol Tris pH=8,0, 100 milimol natri clorua. Phức hợp thu được được cô đến 12,5 miligram/mL. Sau khi lọc, phức hợp Kháng thể A1-Fab:CD137 được điều chỉnh đến tỷ lệ 1:1 với điều kiện sàng lọc tinh thể chất nền rải rác khi đưa vào các đĩa nhỏ giọt bằng cách sử dụng thiết bị xử lý chất lỏng Phoenix, ở nhiệt độ 21°C và 8°C. Các tinh thể hình lăng trụ lớn phát triển trong điều kiện duy nhất trong 4 ngày trong 1 mol Tri Natri xitrat pH=6,5 ở 21°C. Các tinh thể được thu hoạch và được bảo quản lạnh trong 20% glyxerol và điều kiện bảo chứa, được đặt lên giá và làm lạnh đông nhanh trong nitơ lỏng, sau đó sử dụng nguồn sáng cao (Advanced Photo Source), Argonne National Laboratory, các mẫu được sàng lọc bằng tia X và dữ liệu được thu gom. Dữ liệu Kháng thể A1-Fab/hCD137* được xử lý đến 2,4 Å bằng cách sử dụng bộ các chương trình CCP4 (Winn, M.D. et al. *Acta Cryst.* 2011: D67, 235-242). Tinh thể thuộc Nhóm không gian P3₁21, với các thông số tế bào a=b=124,9 Å, b=112,7 Å, $\alpha=\beta=90^\circ$ và $\gamma=120^\circ$. Cấu trúc được xác định bằng Sự thay thế phân tử (Molecular Replacement) với chương trình Phaser (McCoy, A.J. et al.

J. Appl. Cryst. 2007 40: 658-674) sử dụng cấu trúc Fab bên trong làm mô hình tra cứu. Dung dịch thay thế phân tử đối với Fab được tinh chỉnh bằng cách sử dụng Refmac (Winn, M.D. et al. *Acta. Cryst.* 2011: D67, 235-242; Murshudov, G.N. *Act. Cryst.* 2011: D67, 355-367) và Buster (Bricogne, G. et al. 2016; Buster Version 2.11.6. Cambridge, United Kingdom: Global Phasing Ltd.). Các bản đồ từ quá trình tinh chỉnh được sử dụng để xây dựng thủ công mô hình đối với CD137 bằng cách sử dụng chương trình COOT (Emsley, P. *Acta Cryst.* 2010: D66, 486-501). Hệ số R tinh chỉnh là R=17,8%, Rfree=20,5%.

Trong các thử nghiệm được thực hiện về cơ bản như được mô tả trong thử nghiệm này, phức hợp kháng thể A1-Fab:hCD137* được phân giải và epitop/paratop được minh họa trong bảng 5 dưới đây. Bảng 5 liệt kê các gốc trên Kháng thể A-Fab mà trong phạm vi 6Å của các gốc đã liệt kê trên hCD137*. Chuỗi nặng của kháng thể A1-Fab có 57 tiếp xúc (ngưỡng 6 Å) với hCD137* trong khi chuỗi nhẹ có 18 tiếp xúc (ngưỡng 6 Å).

Bảng 5

CD137 người (Epitop)	Kháng thể A1 Chuỗi nặng (Paratop)	Kháng thể A1 Chuỗi nhẹ (Paratop)
S55	Q62	--
Q59	Q62	--
D63	Q62	--
R66	F55	--
F72	F55	--
H93	T103	--
C94	T102, T103, A104, P105	--
L95	M101, T102, T103, P105, G106, T107	--
G96	L100, M101, T102, T103,	G92, N93

	P105, G106, T107	
A97	M101, T102, P105, G106, T107	G92, N93, S94, F95, L97
G98	P105	G92, N93, S94, F95
C99	P105	--
S100	I52, F55, N59, M101, P105, T107	F95
M101	S31, I52, I54, F55, M101	--
C102	F55	--
E103	T103	--
L112	T103	--
T113	T103	--
K114	M101, T102, T103, A104	D51, D54
K115	L100, M101, T102, T103, D110	F50, E56, T57
G116	M101, T102, T103	F50

Kháng thể A1/2 hoàn toàn phong bế các tương tác D137/CD137-phôi tử

Khả năng của các kháng thể được bộc lộ ở đây trong việc phong bế các tương tác CD137 người và CD137-phôi tử (dưới đây được gọi là CD137L) có thể được đo bằng thử nghiệm ELISA. Đầu tiên, thử nghiệm ELISA được sử dụng để định lượng EC₅₀ gắn kết của hCD137** (các axit amin 22-164 của CD137 người, ΔC121S)-AAA-FLAG đối với hCD137L* và Kháng thể A1/2, BMS20H4.9 và PF83. Các lỗ của đĩa

ELISA 96 lỗ Immulon® 4HBX được phủ qua đêm bằng 50 nanogram hCD137** trong 100 microlit PBS, pH=7,2 với sự khuấy nhẹ ở 4°C. Sau khi phong bế bằng 5% BSA trong PBST và rửa, chuỗi pha loãng 5 lần (392 nanomol– 0,005 nanomol) CD137L người tái tổ hợp được gắn His (ở đây được gọi là hCD137L*) (R&D Systems), (53-0,00068 nanomol) BMS20H4.9, (107-0,0014 nanomol) PF83, hoặc (53-0,00068 nanomol) Kháng thể A1/2 được bổ sung với mỗi thể pha loãng được thực hiện hai lần và được ủ với sự khuấy nhẹ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Các lỗ được xử lý bằng các kháng thể kháng CD137 sau đó được rửa và thể pha loãng 1:10000 của kháng thể dê kháng Fab liên hợp với HRP (Jackson ImmunoResearch Laboratories) được bổ sung và ủ ở nhiệt độ trong phòng theo phương thức chuẩn. Sau đó các lỗ được xử lý bằng hCD137L* được rửa và thể pha loãng 1:5000 của kháng thể chuột kháng His liên hợp với HRP (Sigma-Aldrich®) được bổ sung và các đĩa được ủ ở nhiệt độ trong phòng theo phương thức chuẩn dưới đây. Cơ chất sinh màu TMB peroxidaza và dung dịch chấm dứt phản ứng được sử dụng theo hướng dẫn của nhà sản xuất để hình dung và phát hiện các tín hiệu. Các số liệu đọc độ hấp thụ được dựng đồ thị trong phần mềm GraphPad Prism Version 6. Các giá trị EC₅₀ được tính bằng cách phân tích khớp đường cong hồi quy không tuyến tính của chức năng gắn kết đặc hiệu một điểm của phần mềm. Trong các thử nghiệm được thực hiện như được mô tả, các ái lực gắn kết (EC₅₀) với hCD137** được xác định là 0,6 nanomol đối với hCD137L, 1,4 nanomol đối với Kháng thể 1/2, 0,43 nanomol đối với BMS20H4.9, và lớn hơn 10 nanomol đối với PF83.

Khả năng của hCD137L* trong việc cạnh tranh với BMS20H4.9, PF83, và Kháng thể A1/2 để gắn kết với hCD137** có thể được xác định như sau. Đĩa ELISA Immulon 4HBX 96 lỗ được phủ qua đêm bằng 50 nanogram hCD137** trong 100 microlit PBS, pH= 7,2 với sự khuấy nhẹ ở 4°C. Sau khi phong bế (với 5% BSA trong PBST) và rửa, thể pha loãng năm lần (196 đến 0,0025 nanomol) của hCD137L* được trộn với lượng bão hòa của kháng thể được chỉ định: Kháng thể A1/2 (200 nanogram/lỗ), BMS20H4.9 (3 nanogram/lỗ), hoặc PF83 (1000 nanogram/lỗ). Sau đó các hỗn hợp được bổ sung vào các lỗ với hai bản sao và được ủ với sự khuấy nhẹ ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Sau khi rửa, đĩa được ủ với kháng thể dê kháng Fab liên hợp với HRP (thể pha loãng 1:1000, Jackson ImmunoResearch Laboratories) ở nhiệt độ trong phòng theo phương thức chuẩn. Cơ chất sinh màu TMB peroxidaza và

dung dịch chấm dứt phản ứng được sử dụng theo hướng dẫn của nhà sản xuất để hình dung và phát hiện các tín hiệu.

Phần trăm mAb mà vẫn gắn kết với CD137 được dựng đồ thị và các giá trị IC_{50} được tính bằng cách phân tích khớp đường cong hồi quy không tuyến tính sử dụng phần mềm GraphPad Prism.

Trong các thử nghiệm được thực hiện về cơ bản như mô tả trên đây, hCD137L* phong bế hoàn toàn sự gắn kết của Kháng thể A1/2 với hCD137** với IC_{50} là 0,401 nanomol. hCD137L* cũng phong bế sự gắn kết của PF83 với hCD137** với IC_{50} là 1,037 nanomol (30% tính hiệu gắn kết còn lại trên bề mặt). Không thấy có tác dụng đo được của hCD137L* đối với sự gắn kết của BMS20H4.9 với hCD137**.

Kháng thể A1/2 gắn kết với CD137 người ở các gốc axit amin đặc hiệu mà khác biệt với BMS20H4.9 và PF83

Các đột biến điểm CD137 người được đưa vào để xác định các gốc axit amin tại đó Kháng thể A1/2, BMS20H4.9, và PF83 gắn kết với CD137 người. Các thể đột biến Fc-CD137 được tạo ra bằng cách sử dụng phương thức chuẩn của bộ kit sinh đột biến hướng điểm có bán trên thị trường (Quickchange II kit, Qiagen). Các protein Fc-CD137 đột biến và kiểu đại được biểu hiện và tinh chế. Tất cả các thể đột biến được báo cáo ở đây đều có biên dạng loại trừ theo kích cỡ tương tự như biên dạng của Fc-CD137 kiểu đại (tức là các đột biến được đưa vào không làm hại đến tính nguyên vẹn về cấu trúc của protein). Để xác định tác động của sự đột biến đến sự gắn kết của các kháng thể, thử nghiệm ELISA điểm đối với Fc-CD137 kiểu đại và các thể đột biến được sử dụng. Các lỗ của đĩa ELISA 96 lỗ Immulon 4HBX được phủ qua đêm bằng 50 nanogram CD137 người-ECD-C121S-Fc hoặc các thể đột biến của nó trong 100 microlit PBS, pH=7,2 với sự khuấy nhẹ ở 4°C. Sau khi làm phong bế (bằng 5% BSA trong PBST) và rửa, chuỗi tám điểm pha loãng năm lần (100 – 0,00128 nanomol) của kháng thể được chỉ định được bổ sung và ủ với sự khuấy nhẹ ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Các lỗ được rửa và kháng thể thứ cấp liên hợp với HRP (thể pha loãng 1:10000 của kháng thể dê kháng Fab liên hợp với HRP (Jackson ImmunoResearch Laboratories) được bổ sung và ủ ở nhiệt độ trong phòng theo phương thức chuẩn. Cơ chất sinh màu TMB peroxidaza và dung dịch chấm dứt phản ứng được sử dụng theo hướng dẫn của nhà sản xuất để hình dung và phát hiện các tín hiệu. Số liệu đọc độ hấp

thụ đối với mỗi điểm nồng độ được chuẩn hóa bằng độ hấp thụ của tương tác kiểu đại. Đối với mỗi thể đột biến, giá trị trung bình của tỷ lệ chuẩn hóa đối với tám nồng độ được xác định.

Các đột biến được đưa riêng rẽ vào CD137 người (SEQ ID NO: 1) ở các vị trí: P27, N42, D63, Q67, A97, G98, S100, M101, Q104, K114, K115, R130, I132, R134. Bảng 6 chứng minh các biên dạng gắn kết của BMS20H4.9 và Kháng thể A1/2 đối với các thể đột biến được thể hiện của CD137 người. Bảng 7 chứng minh các biên dạng gắn kết của PF83 và Kháng thể A1/2 đối với các thể đột biến được thể hiện của CD137 người. Tóm lại, các bảng 6 và 7 chứng minh rằng Kháng thể A1/2 gắn kết với các gốc axit amin trên CD137 người khác biệt so với BMS20H4.9 và PF-83.

Bảng 6

	BMS20H4.9 (% gắn kết so với hCD137 kiểu đại)	Kháng thể A1/2 (% gắn kết so với hCD137 kiểu đại)
P27L*	85	100
N42S*	0	100
D63N	100	100
Q67R	100	100
Q67V	100	100
A97P	100	15
G98K	100	85
G98Q	100	100
S100T	100	100
M101R	100	100
Q104K	100	100
K114E	100	20
K115Q	100	25

*Biểu thị các vị trí mà bên ngoài epitop của Kháng thể A1/2 như được xác định bằng phép khảo sát tinh thể bằng tia X ở 6Å

Bảng 7

	Kháng thể A1/2 (% gắn kết so với hCD137 kiểu đại)	PF83 (% gắn kết so với hCD137 kiểu đại)
K115Q	25	100
R130A*	100	100
R130H*	100	100

I132V*	100	100
R134Q*	100	25

*Biểu thị các vị trí mà bên ngoài epitop của Kháng thể A1/2 như được xác định bằng phép khảo sát tinh thể bằng tia X ở 6 Å

Biểu hiện gen CD137 trên các khối u ở người

Biên dạng biểu hiện gen CD137 ở các dạng thâm nhiễm miễn dịch khối u ở người có thể được phân tích bằng cách sử dụng cơ sở dữ liệu bộ gen ung thư Atlas (The Cancer Genome Atlas - TCGA) và các phương pháp điện toán. Ngắn gọn là, tỷ lệ biểu hiện của CD137/CD3e được tính từ các kết quả TCGA RNASeq được xử lý bằng Omicssoft. Để so sánh tỷ lệ biểu hiện CD137/CD3e trong các mẫu khối u và các mô tương tự bình thường liên kế đó, kiểm định t được thực hiện và giá trị d Cohen được tính đối với mỗi loại khối u. Các loại khối u mà có giá trị $P < 0,05$ trong kiểm định t đối với tỷ lệ biểu hiện của khối u so với mô bình thường và hệ số tác dụng lớn d Cohen $> 0,8$ là có ý nghĩa thống kê. Sự khác biệt về tỷ lệ biểu hiện CD137/CD3e trong khối u so với mô bình thường được tính dưới dạng logarit của sự thay đổi số lần (log fold change- logFC).

Trong các thử nghiệm được thực hiện như được mô tả, tỷ lệ CD137/CD3 trong khối u gia tăng được thấy trên các kiểu ung thư khác nhau, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ung thư vú, ung thư ruột kết, ung thư nội mạc tử cung, ung thư bàng quang, và ung thư đầu và cổ (Bảng 8). Các khối u giàu các lympho bào CD137⁺ là các ứng viên cho liệu pháp kháng thể CD137 sử dụng Kháng thể A1, Kháng thể A2 hoặc Kháng thể A1/2.

Bảng 8

Bệnh ung thư	Tỷ lệ biểu hiện CD137/CD3 (logFC)	Giá trị P
Bàng quang	1,92	3,85E-03
Vú	2,46	3,56E-39
Caxinom đường mật	1,78	4,81E-06
Ruột kết	2,36	1,23E-19
Nội mạc tử cung	2,14	4,01E-15
Thực quản	1,07	1,71E-04
Dạ dày	1,68	9,27E-10
Đầu & cổ	1,90	8,06E-15
Caxinom tuyến phổi	1,37	2,63E-13
Caxinom tế bào vảy phổi	1,63	2,37E-13
Tuyến tiền liệt	1,04	2,73E-04
Trực tràng	1,62	1,40E-05
Tuyến giáp	1,24	2,29E-06

Kháng thể A1/2 gia tăng sự thâm nhiễm khối u tế bào T CD3⁺ *In Vivo*

Khả năng của các kháng thể được bộc lộ ở đây trong việc thay đổi sự thâm nhiễm khối u tế bào T ở các mô hình chuột được làm giống như của người có thể được xác định bằng phương pháp hóa mô miễn dịch (immunohistochemistry - IHC). Ngắn gọn là, các tế bào ung thư phổi tế bào không nhỏ L55 người (L55-CBG-2A-GFP, University of Pennsylvania) được cấy vào các con chuột NSG. Khi các khối u đạt đến kích thước 250-300 mm³, PBMCs người (8×10^6 tế bào) được tiêm và các kháng thể được dùng ở mức liều 10 milligram/kg một lần mỗi tuần trong 4 tuần. Tại cuối quá trình thử nghiệm, các khối u được thu thập trong formalin, xử lý trong parafin, cắt, và nhuộm với kháng thể kháng CD3 (Cell Signaling Technology). Hình ảnh được thu ở độ phóng đại 200X bằng cách sử dụng Aperio XT ScanScope® và được phân tích bán định lượng. Phần trăm của các tế bào dương tính với CD3 trên tổng số tế bào khối u được tính bằng cách sử dụng phần mềm Aperio ImageScope. Kết quả được so sánh bằng phương pháp ANOVA một chiều, sau đó bằng phương pháp Holm-Sidak để đa so sánh (phần mềm Systat, Sigma Plot 12.5).

Trong các thử nghiệm được thực hiện như được mô tả trên đây, Kháng thể A1/2 cảm ứng sự thâm nhiễm khối u tế bào T CD3⁺ trong các khối u được thiết lập bởi L55. Phần trăm số tế bào T CD3⁺ đáp ứng với Kháng thể A1/2 (60%) là cao hơn so với việc điều trị bằng BMS20H4.9 (18%) hoặc IgG người (27%).

Trình tự axit amin và trình tự nucleotit

SEQ ID NO: 1 (CD137 người)

MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRSLQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFS
SAGGQRTCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDC
KQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVV
CGPSPADLSPGASSVTPAPAREPGHSPQIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFSVV
KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL

SEQ ID NO: 2 (HCDR1)

KASGGTFSSYAIS

SEQ ID NO: 3 (HCDR2)

GIIPFGTANYAQKFQG

SEQ ID NO: 4 (HCDR3)

ARDLMTTAPGTYFDL

SEQ ID NO: 5 (LCDR1)

QASQDIGNSLG

SEQ ID NO: 6 (LCDR2)

FDASDLET

SEQ ID NO: 7 (LCDR3)

QQGNSFPLT

SEQ ID NO: 8 (HCVR)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGII
PIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARDLMTTAP
GTYFDLWGRGTLVTV

SEQ ID NO: 9 (LCVR của Kháng thể A1)

AIRMTQSPPSLSASVGDRVTITCQASQDIGNSLGWYQQKPGKAPKLVIFDASDL
ETGVPSRFSGSGSGTDFSLTISSLQPEDFATYYCQQGNSFPLTFGQGTRLEIK

SEQ ID NO: 10 (HC)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGGGLEWMGGII
PIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDLMTTAP
GTIFYDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 11 (LC của Kháng thể A1)

AIRMTQSPPSLSASVGDRVITITCQASQDIGNSLGWYQQKPGKAPKLVIFDASDL
ETGVPSRFGSGSGTDFSLTISSLQPEDFATYYCQQGNSFPLTFGQGTRLEIKRT
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES
VTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 12 (LCVR của Kháng thể A2)

IRMTQSPPSLSASVGDRVITITCQASQDIGNSLGWYQQKPGKAPKLVIFDASDLE
TGVPSRFGSGSGTDFSLTISSLQPEDFATYYCQQGNSFPLTFGQGTRLEIK

SEQ ID NO: 13 (LC của Kháng thể A2)

IRMTQSPPSLSASVGDRVITITCQASQDIGNSLGWYQQKPGKAPKLVIFDASDLE
TGVPSRFGSGSGTDFSLTISSLQPEDFATYYCQQGNSFPLTFGQGTRLEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV
TEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 14 (ADN của HC)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTC
GGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCAGCAGCTATGCTAT
CAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGGA
TCATCCCTATCTTTGGTACAGCAAACCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAG
TCACGATTACCGCGGACGAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGC
AGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCTGAT
GACTACGGCCCCTGGGACGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCCTGGT
CACTGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACC
CTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAA
GGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCACTGA
CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCCTCAGGACTCTACT
CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCT
ACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGA
GTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCCACCGTGCCAGCA
CCTGAAGCCGAGGGGGCACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAG
GACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGAC
GTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTATGTGGACGGCGT
GGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC

ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAAGACTGGCTGAAT
 GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCATCCTCCAT
 CGAGAAAACCATCTCCAAGGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT
 ACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGTCAGCCTG
 ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG
 AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGA
 CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATTCCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAG
 GTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA
 CAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGCAAATGA

SEQ ID NO: 15 (ADN của LC của Kháng thể A1)

ATGAGGCTGCTGCCTCTGCTGGCCCTCCTGGCCCTGTGGGGCCCAGACCCA
 GCCAGAGCCGCCATCCGGATGACCCAGTCTCCACCCTCCCTGTCTGCATCT
 GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTGGCAA
 CTCTTTAGGTTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAACTCGTGAT
 CTTTCGATGCATCAGATCTGGAAACAGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCA
 GTGGATCTGGCACAGATTTTCAGTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAGG
 ATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTAACAGTTTCCCGCTCACCTTCGG
 CCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCT
 GAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACG
 CCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACACAGAGCAGGACAGCAAG
 GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTA
 CGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCT
 CGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

SEQ ID NO: 16 (ADN của LC của Kháng thể A2)

ATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGCTGCTCTGGGTTCCAGGC
 TCCACCGGCATCCGGATGACCCAGTCTCCACCCTCCCTGTCTGCATCTGTA
 GGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTGGCAACTC
 TTTAGGTTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAACTCGTGATCTT
 CGATGCATCAGATCTGGAAACAGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTG
 GATCTGGCACAGATTTTCAGTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAGGATT
 TTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTAACAGTTTCCCGCTCACCTTCGGCC
 AAGGGACACGACTGGAGATTAAACGAAGTGTGGCCGCACCATCTGTCTTC
 ATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTG
 TGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGT
 GGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACACAGAGCAGG
 ACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAA
 GCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGG
 CCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

SEQ ID NO: 17 (ADN của LC của Kháng thể A1/2)

ATGGAGACAGACACACTCCTGCTATGGGTACTGCTGCTCTGGGTTCCAGGC
 TCCACCGGCGCCATCCGGATGACCCAGTCTCCACCCTCCCTGTCTGCATCT
 GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTGGCAA

CTCTTTAGGTTGGTATCAGCAGAAACCAGGGGAAAGCCCCTAAACTCGTGAT
 CTTTCGATGCATCAGATCTGGAAACAGGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCA
 GTGGATCTGGCACAGATTTTCAGTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAGG
 ATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTAACAGTTTCCCGCTCACCTTCGG
 CCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTT
 CATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGT
 GTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGG
 TGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAG
 GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAA
 AGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGG
 GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

SEQ ID NO: 18 (HC của BMS20H4.9)

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGGSFSGYYWSWIRQSPEKGLEWIGEIN
 HGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGP
 DWYFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP
 VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV
 DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
 VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL
 NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQQEEMTKNQVSLTCL
 VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG
 NVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 19 (LC của BMS20H4.9)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR
 ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISILEPEDFAVYYCQQRSNWPPALTFGGGT
 KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
 QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 20 (HC của PF83)

EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFSTYWISWVRQMPGKGLEWMGKIY
 PGDSYTNYSFQGGVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARGYGIFDY
 WGQGTSLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT
 VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNV
 DHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED
 PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCK
 VSNKGLPAPIEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
 DIAVEWESNGQPEMETDTLLLWVLLLVWPGSTGAIRMTQSPPSLSASVGDRVTITCQASQDIGNSL
 GWYQQKPGKAPKLVIFDASDLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC
 CQQGNSFPLTFGQGTREIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP
 REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
 NNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
 CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 21 (LC của PF83)

SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDNIGDQYAHWYQQKPGQSPVLVIYQDKNR
PSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCATYTGFGSLAVFGGGTKLT
VLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKA
GVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTE
CS

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể kháng CD137 người bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 2, HCDR2 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 6, và LCDR3 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 7, trong đó CD137 người đã nêu được xác định bằng SEQ ID NO: 1.
2. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể này không gắn kết với FcγRI người, FcγRIIa người, FcγRIIb người, FcγRIIIa(F) người, FcγRIIIa(V) người, hoặc C1q người.
3. Kháng thể theo điểm 1 hoặc 2, bao gồm:
 - (a) vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin SEQ ID NO: 9; hoặc
 - (b) vùng biến đổi của chuỗi nặng có trình tự axit amin SEQ ID NO: 8 và vùng biến đổi của chuỗi nhẹ có trình tự axit amin SEQ ID NO: 12.
4. Kháng thể theo điểm 1 hoặc 2, bao gồm:
 - (a) chuỗi nặng có trình tự axit amin SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin SEQ ID NO: 11; hoặc
 - (b) chuỗi nặng có trình tự axit amin SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin SEQ ID NO: 13.
5. Tế bào động vật có vú được phân lập biểu hiện:
 - (a) kháng thể bao gồm HCDR1 có trình tự axit amin SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 6, và LCDR3 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 7; hoặc
 - (b) kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin SEQ ID NO: 11 hoặc trình tự axit amin SEQ ID NO: 13.

6. Quy trình sản xuất kháng thể bao gồm bước nuôi cấy tế bào động vật có vú có khả năng biểu hiện kháng thể và thu hồi kháng thể này; trong đó kháng thể này bao gồm:

(a) HCDR1 có trình tự axit amin SEQ ID: 2, HCDR2 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 3, HCDR3 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 4, LCDR1 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 5, LCDR2 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 6, và LCDR3 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 7; hoặc

(b) chuỗi nặng có trình tự axit amin SEQ ID NO: 10 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin SEQ ID NO: 11 hoặc trình tự axit amin SEQ ID NO: 13.

7. Phân tử ADN bao gồm polynucleotit có trình tự SEQ ID NO:14 và một trong số các trình tự SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, hoặc SEQ ID NO:17.

8. Tế bào động vật có vú bao gồm:

(a) phân tử ADN theo điểm 7; hoặc

(b) polynucleotit có trình tự SEQ ID NO:14 và polynucleotit có trình tự là một trong số SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, hoặc SEQ ID NO:17.

9. Dược phẩm chứa kháng thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, và chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược có thể được chấp nhận.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Eli Lilly and Company
 <120> KHÁNG THỂ KHÁNG CD137, QUY TRÌNH SẢN XUẤT VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY
 <130> X21288
 <160> 21
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 232
 <212> PRT
 <213> Người hiện đại
 <400> 1

Leu Gln Asp Pro Cys Ser Asn Cys Pro Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn
 1 5 10 15

Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser
 20 25 30

Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val
 35 40 45

Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp
 50 55 60

Cys Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu
 65 70 75 80

Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp
 85 90 95

Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro
 100 105 110

Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys Ser Val Leu Val Asn Gly Thr
 115 120 125

Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro
 130 135 140

Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala Pro Ala Arg Glu Pro Gly His
 145 150 155 160

Ser Pro Gln Ile Ile Ser Phe Phe Leu Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu
 165 170 175

Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu Arg Phe Ser Val Val Lys Arg
 180 185 190

Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro
 195 200 205

Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu
 210 215 220

Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
 225 230

<210> 2
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 2

Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser
 1 5 10

<210> 3
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 3

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 4
 <211> 15
 <212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 4

Ala	Arg	Asp	Leu	Met	Thr	Thr	Ala	Pro	Gly	Thr	Tyr	Phe	Asp	Leu
1				5					10					15

<210> 5

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 5

Gln	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Gly	Asn	Ser	Leu	Gly
1				5					10	

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 6

Phe	Asp	Ala	Ser	Asp	Leu	Glu	Thr
1				5			

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 7

Gln	Gln	Gly	Asn	Ser	Phe	Pro	Leu	Thr
1				5				

<210> 8

<211> 120

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 8

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Leu Met Thr Thr Ala Pro Gly Thr Tyr Phe Asp Leu Trp
 100 105 110

Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val
 115 120

<210> 9

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 9

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Ser
 20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Val Ile

35 40 45
 Phe Asp Ala Ser Asp Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Phe Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 10
 <211> 452
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp
 <400> 10
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Leu Met Thr Thr Ala Pro Gly Thr Tyr Phe Asp Leu Trp
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu
 225 230 235 240

Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255

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

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

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

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser
 325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

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

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

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

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly Lys
450

<210> 11
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 11

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Ser
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Val Ile
35 40 45

Phe Asp Ala Ser Asp Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

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

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 12
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 12

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

Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Ser Leu
20 25 30

Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Val Ile Phe
35 40 45

Asp Ala Ser Asp Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65 70 75 80

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

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

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

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 13

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

Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asn Ser Leu
20 25 30

Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Val Ile Phe
35 40 45

Asp Ala Ser Asp Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65 70 75 80

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

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

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

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

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

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

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

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

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 14
<211> 1359
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 14
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc agctatgcta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagt gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaaactac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accgcggacg aatccacgag cacagcctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatctg 300
atgactacgg cccttgggac gtacttcgat ctctggggcc gtggcaccct ggtcactgtc 360
tcctcagcta gcaccaaggg cccatcggtc ttccccctgg caccctcctc caagagcacc 420
tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480
gtgtcgtgga actcaggcgc actgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 540

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 600
 cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagagagtt 660
 gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaagccgag 720
 ggggcaccgt cagtcttctt cttccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg 780
 acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 840
 aactggtatg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 900
 tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccaaga ctggctgaat 960
 ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc catcctccat cgagaaaacc 1020
 atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1080
 gaggagatga ccaagaacca agtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1140
 gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1200
 cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttct ctctattcca agctcaccgt ggacaagagc 1260
 aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1320
 tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggcaaatga 1359

<210> 15
 <211> 645
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 15
 atgaggctgc tgctctgct ggccctcctg gccctgtggg gccagagccc agccagagcc 60
 gccatccgga tgaccagtc tccaccctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 120
 atcacttgcc aggcgagtcg ggacattggc aactcttttag gttggtatca gcagaaacca 180
 gggaaagccc ctaaactcgt gatcttcgat gcatcagatc tggaaacagg ggtcccatca 240
 aggttcagtg gcagtggatc tggcacagat ttcagtctca ccatcagcag cctgcagcct 300
 gaggattttg caacttacta ttgtcaacag ggtaacagtt tcccgtcac cttcggccaa 360
 gggacacgac tggagattaa acgaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag

645

<210> 16

<211> 702

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 16

atggagacag acacactcct gctatgggta ctgctgctct gggttccagg ctccaccggc	60
atccggatga cccagtctcc accctccctg tctgcatctg taggagacag agtcaccatc	120
acttgccagg cgagtcagga cattggcaac tcttttaggtt ggtatcagca gaaaccaggg	180
aaagccccta aactcgtgat cttcgatgca tcagatctgg aaacaggggt cccatcaagg	240
ttcagtggca gtggatctgg cacagatttc agtctcacca tcagcagcct gcagcctgag	300
gattttgcaa cttactattg tcaacaggggt aacagtttcc cgctcacctt cggccaaggg	360
acacgactgg agattaaacg aactgtggcc gcaccatctg tcttcatctt cccgccatct	420
gatgagcagt tgaaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc tgetgaataa cttctatccc	480
agagaggcca aagtacagtg gaagggtgat aacgccctcc aatcgggtaa ctcccaggag	540
agtgtcacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgctg	600
agcaaagcag actacgagaa acacaaagtc tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg	660
agctcgcccc tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgtt ag	702

<210> 17

<211> 705

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Cấu trúc tổng hợp

<400> 17

atggagacag acacactcct gctatgggta ctgctgctct gggttccagg ctccaccggc	60
gccatccgga tgaccagtc tccaccctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	120
atcacttgcc aggcgagtca ggacattggc aactctttag gttggtatca gcagaaacca	180
gggaaagccc cttaaactcgt gatcttcgat gcatcagatc tggaacaggg ggtcccatca	240
aggttcagtg gcagtggatc tggcacagat ttcagtctca ccatcagcag cctgcagcct	300

gaggattttg caacttacta ttgtcaacag ggtaacagtt tcccgctcac cttcggccaa 360
 gggacacgac tggagattaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 420
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 660
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 705

<210> 18
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 18

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

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

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

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
 50 55 60

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

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

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
 210 215 220

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

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

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

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285

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

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
 325 330 335

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

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445

 <210> 19
 <211> 216
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> tổng hợp

 <400> 19

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

 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr 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 Arg Ser Asn Trp Pro Pro
 85 90 95

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

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

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

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

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
165 170 175

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

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

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 20
<211> 442
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> tổng hợp

<400> 20

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

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

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

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

Gln Gly 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 Gly Tyr Gly Ile Phe 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Asn Phe
 180 185 190

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

Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro
 210 215 220

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 21
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> tổng hợp

<400> 21

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

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Asp Gln Tyr Ala
 20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45

Gln Asp Lys Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
 65 70 75 80

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

Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
 100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
 115 120 125

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

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
 145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
 165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
 180 185 190

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

Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210