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

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

(11) **1-0039021**

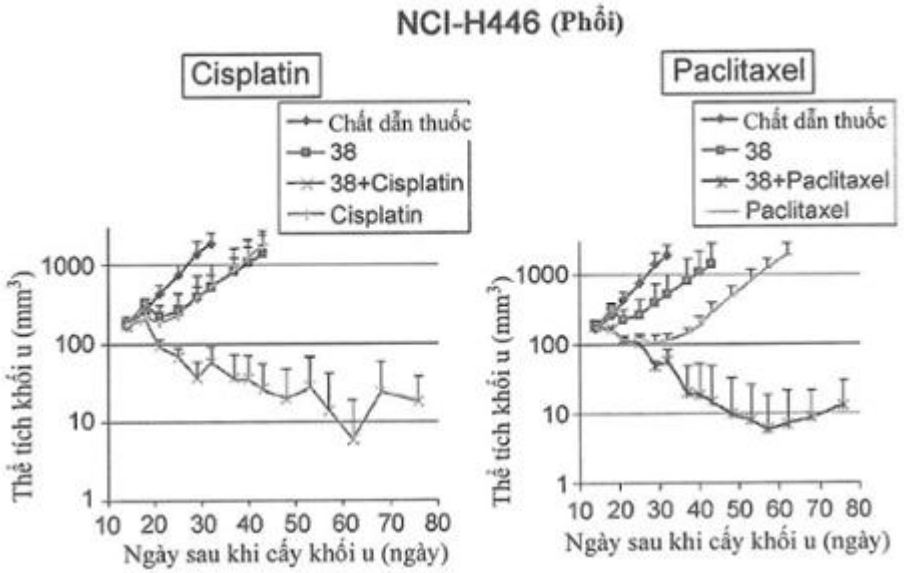
(51)[7] **A61K 39/395**; A61P 35/00; A61P 43/00; A61K 45/00

(13) **B**

(21) 1-2018-04435
(22) 24/02/2017
(86) PCT/JP2017/007033 24/02/2017
(87) WO 2017/159287 21/09/2017
(30) 2016-050095 14/03/2016 JP
(45) 25/03/2024 432
(43) 25/02/2019 371A
(73) CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA (JP)
5-1, Ukima 5-chome, Kita-ku, Tokyo 1158543, Japan
(72) KINOSHITA, Yasuko (JP); KAWAI, Yumiko (JP); TSUNENARI, Toshiaki (JP); ISHIGURO, Takahiro (JP); ENDO, Mika (JP); SANO, Yuji (JP).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) BỘ KIT BAO GỒM DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ ĐẶC HIỆU KÉP LÀM THÀNH PHẦN HOẠT TÍNH

(57) Sáng chế đề xuất chất chống ung thư chứa, làm thành phần hoạt tính, kháng thể đặc hiệu kép bao gồm miền chứa liên kết vùng biến đổi kháng thể liên kết glypican 3, miền chứa vùng biến đổi kháng thể liên kết phức hợp thụ thể tế bào T, và chuỗi L chung có thể tăng cường ái lực với hai kháng nguyên, cũng như dược phẩm chứa kháng thể đặc hiệu kép này làm thành phần hoạt tính, dược phẩm này để sử dụng kết hợp với chất chống ung thư, và bộ kit chứa dược phẩm này. Kháng thể đặc hiệu kép này là phân tử mới được tạo ra với hiệu suất cao và có hoạt tính kháng khối u mạnh cũng như độ an toàn tốt và dược động lực học rất tốt. Kháng thể đặc hiệu kép này có thể được mong đợi là áp dụng được cho nhiều loại ung thư khác nhau.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu và sử dụng chúng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các kháng thể đang được chú ý để làm dược chất do độ ổn định cao của chúng trong huyết tương và ít có phản ứng bất lợi (Tài liệu không phải patent 1 và 2). Kháng thể đã được biết đến là không những gây ra tác động liên kết kháng nguyên, tác động chủ vận, và tác động đối kháng, mà còn gây ra cả các hoạt tính gây độc tế bào qua trung gian là yếu tố đáp ứng (còn được gọi là chức năng đáp ứng) như độc tính tế bào ở tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC), thực bào ở tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCP), và độc tính tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC), và thể hiện tác dụng kháng khối u đối với các tế bào ung thư (Tài liệu không phải patent 3). ADCC là độc tính tế bào được biểu hiện bởi các tế bào đáp ứng chống lại các tế bào ung thư đích liên kết kháng thể thông qua liên kết của vùng Fc của kháng thể với thụ thể Fc nằm trên các tế bào đáp ứng như tế bào NK và đại thực bào. Phức hợp bổ thể liên kết với vị trí liên kết bổ thể có trong cấu trúc của kháng thể. CDC là độc tính tế bào thu được do sự phá hủy tế bào khi dòng nước và ion đi vào tế bào được thúc đẩy bởi sự hình thành lỗ rỗng trên màng tế bào của các tế bào liên kết kháng thể bởi các thành phần bổ thể có trong phức hợp. Nhiều kháng thể điều trị bệnh có tác dụng kháng khối u ưu việt đã được nghiên cứu phát triển dưới dạng dược chất để điều trị bệnh ung thư (Tài liệu không phải patent 4); và mặc dù đã có các kháng thể điều trị bệnh có các tác dụng ưu việt, hiệu quả điều trị bệnh đạt được bằng cách dùng các kháng thể này vẫn chưa thỏa đáng.

Để kháng thể biểu hiện ADCC, ADCP, và CDC, vùng Fc của kháng thể, thụ thể kháng thể (FcγR) có mặt trên tế bào đáp ứng như tế bào NK và đại thực bào cần phải liên kết với nhiều thành phần bổ thể khác nhau. Ở người, các dạng đồng đẳng của FcγRIa, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIIa, và FcγRIIIb được báo cáo là họ protein FcγR, và các alotyp (dị kiểu) tương ứng cũng được báo cáo (Tài liệu không phải patent 5). Trong số các dạng đồng đẳng này, FcγRIa, FcγRIIa, và FcγRIIIa mang miền được gọi là mô-típ hoạt hóa dựa trên thụ thể miễn dịch tyrosin (Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif-ITAM) trong miền nội bào, và truyền các tín hiệu hoạt hóa. Mặt khác, chỉ có FcγRIIb

mang miền gọi là mô-típ ức chế dựa trên thụ thể miễn dịch tyrosin (Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif-ITIM) trong miền nội bào, và truyền tín hiệu ức chế. Mỗi một trong số các FcγR đã được biết là truyền tín hiệu thông qua việc liên kết ngang bởi các phức hợp miễn dịch và phức hợp tương tự (Tài liệu không phải patent 6). Khi kháng thể thực sự tạo ra chức năng đáp ứng ở các tế bào ung thư, các FcγR trên màng tế bào đáp ứng tạo thành cụm ở vùng Fc của một vài kháng thể liên kết trên màng tế bào ung thư, và tín hiệu hoạt hóa được truyền bởi tế bào đáp ứng. Kết quả là tạo ra tác dụng diệt tế bào, nhưng do các FcγR chỉ liên kết ngang trong các tế bào đáp ứng nằm gần tế bào ung thư tại thời điểm đó, việc hoạt hóa tính miễn dịch được thấy là xảy ra cục bộ trong các tế bào ung thư (Tài liệu không phải patent 7).

Globulin miễn dịch có trong tự nhiên liên kết với kháng nguyên ở các vùng biến đổi của chúng, và liên kết với các thụ thể như FcγR, FcRn, FcαR, và FcεR, và các bổ thể ở các vùng không đổi của chúng. FcRn là một trong các phân tử liên kết tương tác ở vùng Fc của IgG, và do mỗi trong số các chuỗi nặng của kháng thể liên kết với một phân tử của FcRn, hai phân tử của FcRn đã được báo cáo là liên kết với một phân tử kháng thể kiểu IgG. Tuy nhiên, không giống như FcRn và phân tử tương tự, FcγR tương tác ở vùng bản lề và miền CH2 của kháng thể, và chỉ một phân tử của FcγR liên kết với một phân tử của kháng thể kiểu IgG (Tài liệu không phải patent 8). Hơn nữa, kháng thể kiểu IgG có trong tự nhiên thông thường nhận diện và liên kết với một epitop thông qua vùng biến đổi (Fab) của nó; do đó, nó có thể liên kết với chỉ một kháng nguyên. Mặt khác, nhiều kiểu protein được biết là liên quan đến bệnh ung thư và bệnh viêm, và có thể có sự nhiễu chéo giữa các protein này. Ví dụ, một vài xytokin viêm (TNF, IL1, và IL6) đã được biết là liên quan đến bệnh miễn dịch (Tài liệu không phải patent 9). Hơn nữa, việc hoạt hóa các thụ thể khác được biết như là một trong các cơ chế kháng thuốc của bệnh ung thư (Tài liệu không phải patent 10). Trong các trường hợp như vậy, các kháng thể thông thường nhận diện một epitop sẽ không thể ức chế nhiều protein.

Kháng thể (kháng thể đặc hiệu kép) liên kết với hai hoặc nhiều loại kháng nguyên có một phân tử đang được nghiên cứu để làm phân tử ức chế nhiều đích. Có thể mang lại hoạt tính liên kết cho hai kháng nguyên khác nhau (kháng nguyên thứ nhất và kháng nguyên thứ hai) bằng cách cải biến kháng thể kiểu IgG có trong tự nhiên (Tài liệu không phải patent 11). Do đó, không chỉ có sự trung hòa của hai hoặc nhiều loại kháng nguyên bằng một phân tử, mà còn có sự tăng cường hoạt tính kháng khối u do các liên kết ngang

giữa các tế bào có hoạt tính gây độc tế bào và tế bào ung thư. Ở dạng phân tử của kháng thể đặc hiệu kép, phân tử chứa vị trí liên kết kháng nguyên được bổ sung vào đầu tận N hoặc C của kháng thể (DVD-Ig và scFv-IgG), phân tử có các trình tự khác nhau đối với hai vùng Fab của kháng thể (kháng thể đặc hiệu kép chuỗi L thông thường và tế bào lai), phân tử trong đó một vùng Fab nhận diện hai kháng nguyên (IgG hai trong một), và phân tử có vị trí vòng của vùng CH3 là vị trí liên kết kháng nguyên mới (Fcab) được báo cáo tính đến nay (Tài liệu không phải patent 12 và 13). Do tất cả các kháng thể đặc hiệu kép tương tác ở các vùng Fc của chúng với FcγR, các chức năng đáp ứng của kháng thể được duy trì. Do đó, kháng thể đặc hiệu kép liên kết với kháng nguyên bất kỳ mà nó nhận diện và đồng thời liên kết với FcγR, và biểu hiện hoạt tính ADCC chống lại các tế bào biểu hiện kháng nguyên.

Nếu tất cả các kháng nguyên được nhận diện bởi kháng thể đặc hiệu kép là kháng nguyên được biểu hiện theo cách đặc hiệu ở bệnh ung thư, kháng thể đặc hiệu kép này sẽ biểu hiện hoạt tính gây độc tế bào đối với các tế bào ung thư khi nó liên kết với kháng nguyên bất kỳ. Do đó, so với dược chất kháng thể thông thường nhận diện một kháng nguyên, có thể mong đợi tác dụng kháng khối u hiệu quả hơn từ kháng thể này. Tuy nhiên, trong trường hợp kháng nguyên bất kỳ trong số các kháng nguyên được nhận diện bởi kháng thể đặc hiệu kép được biểu hiện trong các mô hoặc tế bào bình thường mà được biểu hiện trên tế bào miễn dịch, xảy ra sự phá hủy trên các mô bình thường hoặc giải phóng xytokin do liên kết ngang với FcγR (Tài liệu không phải patent 14). Kết quả là tạo ra các phản ứng rất bất lợi.

Kháng thể chuyển hướng tế bào T sử dụng tế bào T huy động độc tính tế bào làm tế bào đáp ứng làm cơ chế đem lại tác dụng kháng khối u của nó đã được biết từ những năm 1980 dưới dạng kháng thể đặc hiệu kép (Tài liệu không phải patent 15, 16, và 17). Không giống các kháng thể sử dụng tế bào NK hoặc đại thực bào huy động ADCC làm tế bào đáp ứng làm cơ chế cho tác dụng kháng khối u của chúng, kháng thể chuyển hướng tế bào T là kháng thể kháng cấu trúc siêu phân tử bất kỳ trong số các cấu trúc siêu phân tử cấu thành phức hợp thụ thể tế bào T (TCR) trên tế bào T, và cụ thể là kháng thể đặc hiệu kép bao gồm kháng thể liên kết với chuỗi CD3 epsilon và kháng thể liên kết với kháng nguyên trên tế bào ung thư đích. Tế bào T tiến gần đến tế bào ung thư thông qua sự liên kết đồng thời của chuỗi CD3 epsilon và kháng nguyên ung thư bởi kháng thể chuyển hướng tế bào T. Kết quả là, tác dụng kháng khối u chống lại các tế

bào ung thư được coi là có được thông qua hoạt tính gây độc tế bào của các tế bào T.

Catumaxomab, được biết đến là kháng thể chuyển hướng tế bào T, liên kết ở hai Fab, mỗi Fab với kháng nguyên ung thư (EpCAM) và với chuỗi CD3ε (CD3 epsilon) được biểu hiện trên tế bào T. Catumaxomab gây ra hoạt tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào T bằng cách đồng thời liên kết với kháng nguyên ung thư và CD3ε, và cảm ứng hoạt tính gây độc tế bào được điều tiết bởi tế bào trình diện kháng nguyên như tế bào NK và đại thực bào, bằng cách liên kết đồng thời với kháng nguyên ung thư và FcγR. Bằng cách sử dụng hai hoạt tính gây độc tế bào này, catumaxomab thể hiện tác dụng điều trị bệnh cao đối với bệnh cổ trướng ác tính bằng cách dùng theo đường trong màng bụng và do đó được chấp thuận ở châu Âu (Tài liệu không phải patent 18). Ngoài ra, có các trường hợp trong đó việc dùng catumaxomab theo như được báo cáo tạo ra các kháng thể có tính phản ứng với tế bào ung thư, chỉ ra rõ ràng rằng tính miễn dịch đạt được được cảm ứng (Tài liệu không phải patent 19). Từ kết quả này, kháng thể có cả hoạt tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào T và hoạt tính qua trung gian FcγR bởi các tế bào như tế bào NK hoặc đại thực bào (các kháng thể này được đề cập cụ thể là kháng thể ba chức năng) được chú ý do tác dụng kháng khối u mạnh và gây ra tính miễn dịch thu được mong đợi.

Tuy nhiên, kháng thể ba chức năng liên kết đồng thời với CD3ε và FcγR ngay cả khi không có mặt kháng nguyên ung thư và do đó liên kết ngang tế bào T biểu hiện CD3ε với tế bào biểu hiện FcγR ngay cả trong môi trường không có tế bào ung thư, dẫn đến việc sản sinh ra các xytokin khác nhau với lượng lớn. Việc cảm ứng quá trình sản sinh các xytokin khác nhau không phụ thuộc vào kháng nguyên ung thư như vậy sẽ hạn chế việc dùng kháng thể ba chức năng hiện có theo đường trong màng bụng (Tài liệu không phải patent 20). Kháng thể ba chức năng rất khó để dùng qua đường toàn thân do các phản ứng bất lợi như bão xytokin nghiêm trọng. Trên thực tế, trong thử nghiệm lâm sàng giai đoạn I về việc dùng catumaxomab qua đường toàn thân cho bệnh nhân mắc bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ, liều rất thấp là 5μg/cơ thể là liều tối đa chịu được, và việc dùng liều lớn hơn được báo cáo là gây ra các phản ứng bất lợi nghiêm trọng khác nhau (Tài liệu không phải patent 21).

Như vậy, kháng thể đặc hiệu kép có thể liên kết với cả hai kháng nguyên bằng các kỹ thuật thông thường, kháng nguyên thứ nhất là kháng nguyên ung thư (EpCAM)

và kháng nguyên thứ hai là CD3ε, đồng thời khi chúng liên kết với FcγR; và do đó, xét theo cấu trúc phân tử của chúng, không thể tránh được phản ứng bất lợi do việc đồng thời liên kết với FcγR và kháng nguyên thứ hai CD3ε gây ra.

Trong khi đó, không giống như catumaxomab, BiTE không có vị trí liên kết thụ thể Fcγ, và do đó nó không liên kết ngang các thụ thể được biểu hiện trên các tế bào T và các tế bào như tế bào NK và đại thực bào theo cách không phụ thuộc vào kháng nguyên ung thư. Do đó, đã được chứng minh là BiTE không gây ra cảm ứng xytokin không phụ thuộc vào kháng nguyên ung thư quan sát được khi dùng catumaxomab. Tuy nhiên, do BiTE là phân tử kháng thể phân tử lượng thấp đã cải biến không có vùng Fc, vấn đề là ở chỗ thời gian bán hủy trong máu của nó sau khi cho bệnh nhân dùng là ngắn hơn đáng kể so với kháng thể kiểu IgG thường được sử dụng làm kháng thể điều trị bệnh. Trên thực tế, thời gian bán hủy trong máu của BiTE dùng *in vivo* đã được báo cáo là khoảng vài giờ (Tài liệu không phải patent 22 và 23). Trong các thử nghiệm lâm sàng của blinatumomab, nó được dùng bằng cách truyền liên tục trong tĩnh mạch sử dụng bơm mini. Phương pháp dùng này không chỉ cực kỳ bất tiện cho bệnh nhân mà còn có nguy cơ tiềm ẩn về các tai nạn y tế do sự cố thiết bị hoặc tai nạn tương tự. Do đó, không thể nói rằng phương pháp dùng như vậy là phương pháp được mong đợi.

Trong những năm gần đây, việc sử dụng vùng Fc có hoạt tính liên kết FcγR giảm có thể duy trì hoạt tính kháng khối u mạnh mà BiTE có và đặc tính an toàn xuất sắc khi không gây ra bão xytokin theo cách không phụ thuộc vào kháng nguyên ung thư, và tạo ra cụm polypeptit mới có thời gian bán hủy trong máu lâu hơn (Tài liệu patent 1).

Mặt khác, khi biểu hiện kháng thể đặc hiệu kép bằng các kỹ thuật thông thường, do hai kiểu chuỗi H và hai kiểu chuỗi L được biểu hiện, có thể nhận được mười tổ hợp. Trong số chúng, chỉ có một trong các tổ hợp đã tạo ra có tính đặc hiệu liên kết quan tâm. Do đó, để thu được kháng thể đặc hiệu kép quan tâm, một kháng thể quan tâm phải được tinh chế từ mười kiểu kháng thể, việc tinh chế này rất không hiệu quả và gặp nhiều khó khăn.

Phương pháp tiết IgG theo cách ưu tiên với tổ hợp dị đime của các chuỗi H, ví dụ, tổ hợp của chuỗi H kháng kháng nguyên A và chuỗi H kháng kháng nguyên B, bằng cách đưa các thay thế axit amin vào vùng CH3 chuỗi H của IgG đã được báo cáo là phương pháp để giải quyết vấn đề này (Tài liệu patent 2, 3, 4, 5, 6, 7 và tài liệu không

phải patent 24 và 25). Phương pháp sử dụng kỹ thuật xáo trộn vật lý, tức là, "chìa khóa" và "ổ khóa", và phương pháp sử dụng kỹ thuật đẩy điện tích điện tử được báo cáo là các phương pháp như vậy.

Để thu được phân tử quan tâm với tính hiệu quả tốt hơn, các phương pháp sử dụng chuỗi L mà có thể liên kết với hai kháng nguyên khác nhau cho dù các chuỗi L có cùng trình tự axit amin được báo cáo (Tài liệu patent 8 và 9). Tuy nhiên, ái lực kháng nguyên có thể giảm nhiều bằng cách sử dụng các chuỗi L chung, và khó tìm ra được các chuỗi L chung duy trì được ái lực kháng nguyên.

Blinatumomab làm BiTE đã được chấp nhận đối với bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính (acute lymphoblastic leukemia-ALL) và cũng đang được kiểm tra trong các thử nghiệm lâm sàng đối với bệnh ung thư máu như u lympho không Hodgkin (NHL) và bệnh bạch cầu lympho mãn tính (chronic lymphocytic leukemia-CLL). Các thử nghiệm lâm sàng của AMG330, là BiTE nhằm đích CD33, cũng được bắt đầu thử nghiệm đối với bệnh bạch cầu dòng tủy cấp tính (acute myelocytic leukemia-AML). Ngoài ra, BiTE chống lại các khối u rắn đang được phát triển. AMG211, là BiTE nhằm đích CEA, AMG110, là BiTE nhằm đích EpCAM, AMG212, là BiTE nhằm đích PSMA, và các chất này đang ở trong giai đoạn thử nghiệm lâm sàng. Tuy nhiên, đáp ứng của BiTE đối với khối u rắn vẫn chưa được chứng minh (Tài liệu không phải patent 26).

Trong những năm gần đây, các chất trị liệu miễn dịch, trong số đó các chất đại diện là chất ức chế nhằm đích các phân tử điểm kiểm soát miễn dịch như CTLA-4, PD-1, và PD-L1, đã được chứng minh là có hiệu quả dược chất trong các thiết lập lâm sàng. Tuy nhiên, các dược chất này không phải là cho hiệu quả ở mọi bệnh nhân, và có nhu cầu tăng cường hơn nữa hiệu quả của dược chất. Với việc sử dụng kết hợp nhiều liệu pháp miễn dịch, sử dụng kết hợp Nivlolumab và Ipilimumab đã được thấy là thu được hiệu quả dược chất tăng cường chống lại u melamin so với việc sử dụng chỉ một mình Ipilimumab (Tài liệu không phải patent 27).

Tài liệu trích dẫn

Tài liệu patent

Tài liệu patent 1: WO2012/073985

Tài liệu patent 2: WO96/27011

Tài liệu patent 3: WO2006/106905

Tài liệu patent 4: WO2007/147901

Tài liệu patent 5: WO2009/089004

Tài liệu patent 6: WO2010/129304

Tài liệu patent 7: WO2013/065708

Tài liệu patent 8: WO98/050431

Tài liệu patent 9: WO2006/109592

Tài liệu không phải patent

Tài liệu không phải patent 1: Nat. Biotechnol. (2005) 23, 1073-1078

Tài liệu không phải patent 2: Eur J Pharm Biopharm. (2005) 59 (3), 389-396

Tài liệu không phải patent 3: Drug Des Devel Ther (2009) 3, 7-16

Tài liệu không phải patent 4: Clin Cancer Res. (2010) 16 (1), 11-20

Tài liệu không phải patent 5: Immunol. Lett. (2002) 82, 57-65

Tài liệu không phải patent 6: Nat. Rev. Immunol. (2008) 8, 34-47

Tài liệu không phải patent 7: Ann. Rev. Immunol. (1988). 6. 251-81

Tài liệu không phải patent 8: J. Bio. Chem., (20001) 276, 16469-16477

Tài liệu không phải patent 9: Nat. Biotech., (2011) 28, 502-10

Tài liệu không phải patent 10: Endocr Relat Cancer (2006) 13, 45-51

Tài liệu không phải patent 11: MAbs. (2012) Mar 1, 4(2)

Tài liệu không phải patent 12: Nat. Rev. (2010) 10, 301-316

Tài liệu không phải patent 13: Peds (2010), 23(4), 289-297

Tài liệu không phải patent 14: J. Immunol. (1999) Aug 1, 163(3), 1246-52

Tài liệu không phải patent 15: Nature (1985) 314 (6012), 628-31

Tài liệu không phải patent 16: Int J Cancer (1988) 41 (4), 609-15.

Tài liệu không phải patent 17: Proc Natl Acad Sci USA (1986) 83 (5), 1453-7

Tài liệu không phải patent 18: Cancer Treat Rev. (2010) Oct 36(6), 458-67

Tài liệu không phải patent 19: Future Oncol. (2012) Jan 8(1), 73-85

Tài liệu không phải patent 20: Cancer Immunol Immunother. (2007) 56(9), 1397-406

Tài liệu không phải patent 21: Cancer Immunol Immunother. (2007) 56 (10), 1637-44

Tài liệu không phải patent 22: Cancer Immunol Immunother. (2006) 55(5), 503-14

Tài liệu không phải patent 23: Cancer Immunol Immunother. (2009) 58(1), 95-109

Tài liệu không phải patent 24: Protein Engineering. (1996) vol.9, p.617-621

Tài liệu không phải patent 25: Nature Biotechnology. (1998) vol.16, p.677-681

Tài liệu không phải patent 26: Immunological Reviews. (2016) vol.270, p.193-208

Tài liệu không phải patent 27: N Eng J Med (2015) vol.373, p.23-34

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề cần được giải quyết bởi sáng chế

Sáng chế đạt được dựa vào các trường hợp trên đây. Mục đích của sáng chế là đề xuất chất chống ung thư chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu mang tế bào T nằm gần tế bào ung thư đích làm thành phần hoạt tính, và có thể điều trị bệnh ung thư nhờ hoạt tính gây độc tế bào của tế bào T kháng mô ung thư đích chứa tế bào biểu hiện glypican 3, và là dạng phân tử có thể được tạo ra với tính hiệu quả cao. Mục đích khác của sáng chế là đề xuất liệu pháp kết hợp bằng cách sử dụng các phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu và các dược chất khác.

Giải quyết vấn đề

Các tác giả sáng chế phát hiện ra rằng, chuỗi L chung đối với miền chứa vùng biến đổi kháng thể liên kết với glypican 3, và miền chứa vùng biến đổi kháng thể liên kết với phức hợp thụ thể tế bào T, trong đó chuỗi L chung có khả năng cải thiện ái lực đối với cả hai kháng nguyên. Việc này cho phép điều chế các dạng phân tử mà có thể được tạo ra với tính hiệu quả cao, và phát hiện thêm về phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu mới mà duy trì hoạt tính kháng khối u mạnh của kháng thể chuyển hướng tế bào T như BiTE và đặc tính an toàn ưu việt về việc không gây ra bão xytokin theo cách không phụ thuộc vào kháng nguyên ung thư, và cũng có thời gian bán hủy trong máu lâu hơn. Hơn nữa, các tác giả sáng chế phát hiện ra rằng phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu chứa chuỗi L chung hướng đích tế bào ung thư biểu hiện glypican 3 và gây

ra độc tính tế bào. Dựa trên phát hiện này, các tác giả sáng chế giải thích rằng phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế gây ra thương tổn cho mô ung thư chứa tế bào ung thư biểu hiện glypican 3. Các tác giả sáng chế bộc lộ các chất chống ung thư chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu làm thành phần hoạt tính; phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh ung thư bằng cách sử dụng kết hợp phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu và chất chống ung thư khác; phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu, chất chống ung thư, dược phẩm chứa hỗn hợp của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu và chất chống ung thư, mỗi trong số các chất này được sử dụng trong các liệu pháp kết hợp.

Cụ thể, sáng chế đề xuất các đối tượng sau đây:

[1] Chất chống ung thư chứa kháng thể đặc hiệu kép của bất kỳ một trong số từ (a) đến (c) dưới đây mà chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 làm thành phần hoạt tính:

(a) kháng thể đặc hiệu kép trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là các trình tự lần lượt có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của các vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là các trình tự lần lượt có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của các vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là các trình tự lần lượt có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của các vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223;

(b) kháng thể đặc hiệu kép trong đó vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 223; và

(c) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 385; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự

axit amin của SEQ ID NO: 402; và chuỗi L chung có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 410.

[2] Chất chống ung thư chứa kháng thể đặc hiệu kép chứa chuỗi H của kháng thể của SEQ ID NO: 385 có hoạt tính liên kết glypican 3, chuỗi H của kháng thể của SEQ ID NO: 402 có hoạt tính liên kết CD3, và chuỗi L chung của SEQ ID NO: 410, làm thành phần hoạt tính.

[3] Chất chống ung thư theo mục [1] hoặc [2], trong đó bệnh ung thư là ung thư dương tính với glypican 3.

[4] Chất chống ung thư theo mục [3], trong đó ung thư dương tính với glypican 3 là ung thư trong đó số lượng kháng nguyên glypican 3 trên bề mặt tế bào với mỗi tế bào là 100 hoặc nhiều hơn.

[5] Chất chống ung thư theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [4], trong đó bệnh ung thư là bệnh ung thư bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư thực quản, ung thư phổi, ung thư gan, ung thư buồng trứng, ung thư vú, ung thư ruột kết, ung thư thận, ung thư da, khối u cơ, ung thư tụy, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tinh hoàn, ung thư tử cung, ung thư đường mật, caxinom tế bào Merkel, ung thư bàng quang, ung thư tuyến giáp, u bao sợi thần kinh, ung thư tuyến thượng thận, ung thư hậu môn, khối u hệ thần kinh trung ương, khối u mô thần kinh nội tiết, ung thư dương vật, u phế mạc, u tuyến nước bọt, ung thư âm hộ, u tuyến ức, và ung thư ở trẻ em.

[6] Chất chống ung thư theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [5], để điều trị cho bệnh nhân mắc bệnh ung thư kháng lại việc điều trị bằng chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch.

[7] Dược phẩm để sử dụng kết hợp với chất chống ung thư khác, dược phẩm này chứa kháng thể đặc hiệu kép theo bất kỳ (a) đến (c) dưới đây mà chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, làm thành phần hoạt tính:

(a) kháng thể đặc hiệu kép trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là các trình tự lần lượt có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của các vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến

đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là các trình tự lần lượt có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của các vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là các trình tự lần lượt có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của các vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223;

(b) kháng thể đặc hiệu kép trong đó vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 223; và

(c) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 385; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 402; và chuỗi L chung có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 410.

[8] Dược phẩm chứa kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể được nêu trong SEQ ID NO: 385 có hoạt tính liên kết glypican 3, chuỗi H của kháng thể được nêu trong SEQ ID NO: 402 có hoạt tính liên kết CD3, và chuỗi L chung của kháng thể được nêu trong SEQ ID NO: 410, làm thành phần hoạt tính, trong đó dược phẩm là để sử dụng kết hợp với chất chống ung thư khác.

[9] Dược phẩm theo mục [7] hoặc [8], trong đó kháng thể đặc hiệu kép được sử dụng đồng thời với chất chống ung thư khác.

[10] Dược phẩm theo mục [7] hoặc [8], trong đó kháng thể đặc hiệu kép được sử dụng trước hoặc sau khi sử dụng chất chống ung thư khác.

[11] Dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [7] đến [10], trong đó chất chống ung thư khác này là chất hóa trị liệu, chất chủ vận hoạt hóa tế bào T, chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch, hoặc chất ức chế sự tạo mạch.

[12] Dược phẩm theo mục [11], trong đó chất hóa trị liệu là chất chống chuyển hóa, alkaloit thực vật, hoặc hợp chất platin.

[13] Dược phẩm theo mục [11], trong đó chất chủ vận hoạt hóa tế bào T là kháng thể chủ vận kháng lại TNFRSF.

[14] Dược phẩm theo mục [11], trong đó chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch là kháng thể PD1, kháng thể PDL1, kháng thể TIM3, hoặc kháng thể LAG3.

[15] Dược phẩm theo mục [11], trong đó chất ức chế sự tạo mạch là kháng thể VEGFR2.

[16] Chất gây độc tính tế bào, chất kìm hãm sự tăng sinh tế bào, chất ức chế sự tăng sinh tế bào, chất hoạt hóa đáp ứng miễn dịch, chất điều trị bệnh ung thư, hoặc chất ngăn ngừa bệnh ung thư, bao gồm dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [7] đến [15].

[17] Chất chống ung thư theo mục [1], trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 là vùng CDR1, CDR2, và CDR3 theo cách đánh số Kabat.

Sáng chế còn đề xuất:

[2-1] Chất chống ung thư chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu làm thành phần hoạt tính, chứa:

(1) miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3,

(2) miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T, và

(3) miền chứa vùng Fc có hoạt tính liên kết giảm đối với thụ thể Fcγ,

trong đó vùng biến đổi chuỗi L được bao gồm trong vùng biến đổi của (1) và vùng biến đổi của (2) có trình tự axit amin chung; trong đó phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có hoạt tính gây độc tế bào tương đương với hoặc lớn hơn so với hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đặc hiệu kép GPC3_ERY22_rCE115 chứa miền liên kết glypican 3 bao gồm SEQ ID NO: 47 và 48, và miền liên kết phức hợp thụ thể tế bào T bao gồm SEQ ID NO: 49 và 50.

[2-2] Chất chống ung thư theo mục [2-1], trong đó hoạt tính gây độc tế bào là hoạt tính gây độc tế bào phụ thuộc tế bào T.

[2-3] Chất chống ung thư theo mục [2-1] hoặc [2-2], trong đó hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T là hoạt tính liên kết đối với thụ thể tế bào T.

[2-4] Chất chống ung thư theo mục bất kỳ trong số các mục [2-1] đến [2-3], trong đó hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T là hoạt tính liên kết đối với chuỗi CD3ε.

[2-5] Chất chống ung thư theo mục bất kỳ trong số các mục [2-1] đến [2-4], trong đó vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] là vùng biến đổi kháng thể bao gồm tổ hợp bất kỳ trong số các tổ hợp của CDR1, CDR2, và CDR3 của chuỗi H được chọn từ (a1) đến (a5) dưới đây, hoặc vùng biến đổi kháng thể tương đương về mặt chức năng với chúng:

(a1) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 40;

(a2) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 197;

(a3) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 206;

(a4) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 211; và

(a5) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 215.

[2-6] Chất chống ung thư theo mục bất kỳ trong số các mục [2-1] đến [2-4], trong đó vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] là vùng biến đổi kháng thể bao gồm tổ hợp bất kỳ trong số các tổ hợp của trình tự axit amin của CDR1, CDR2, và CDR3 của chuỗi H được chọn từ (b1) đến (b15) dưới đây, hoặc vùng biến đổi kháng thể tương đương về mặt chức năng với chúng:

(b1) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 52;

(b2) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 103;

(b3) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 122;

(b4) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 128;

(b5) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2,

và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 129;

(b6) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 132;

(b7) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 142;

(b8) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 144;

(b9) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 164;

(b10) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 168;

(b11) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 421;

(b12) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 424;

(b13) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 426;

(b14) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 429; và

(b15) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 430.

[2-7] Chất chống ung thư theo mục bất kỳ trong số các mục [2-1] đến [2-4], trong đó vùng biến đổi kháng thể của (1) và (2) trong mục [2-1] là vùng biến đổi kháng thể bao gồm tổ hợp bất kỳ trong số các tổ hợp của CDR1, CDR2, và CDR3 của chuỗi H được chọn từ (c1) đến (c19) sau đây, hoặc các vùng biến đổi kháng thể tương đương về mặt chức năng với chúng:

(c1) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 40; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến

đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 52;

(c2) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 40; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 421;

(c3) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 40; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 426;

(c4) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 40; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 429;

(c5) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 40; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 430;

(c6) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 197; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 128;

(c7) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 206; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1,

CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 142;

(c8) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 206; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 144;

(c9) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 206; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 164;

(c10) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 206; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 168;

(c11) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 211; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 142;

(c12) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 211; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 144;

(c13) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 211; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 164;

(c14) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 211; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 168;

(c15) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 215; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 103;

(c16) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 215; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 122;

(c17) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 215; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 129;

(c18) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 215; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 132; và

(c19) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 215; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 424.

[2-8] Chất chống ung thư theo mục bất kỳ trong số các mục [2-5] đến [2-7], trong đó

CDR1, CDR2, và CDR3 là vùng CDR1, CDR2, và CDR3 dựa trên cách đánh số theo Kabat.

[2-9] Chất chống ung thư theo mục bất kỳ trong số các mục [2-1] đến [2-4], trong đó vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] là vùng biến đổi kháng thể bao gồm vùng biến đổi bất kỳ trong số các vùng biến đổi của chuỗi H được chọn từ (a1) đến (a5) dưới đây, hoặc vùng biến đổi kháng thể tương đương về mặt chức năng với chúng:

(a1) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 40;

(a2) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 197;

(a3) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 206;

(a4) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 211; và

(a5) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 215.

[2-10] Chất chống ung thư theo mục bất kỳ trong số các mục [2-1] đến [2-4], trong đó vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] là vùng biến đổi kháng thể bất kỳ trong số các vùng biến đổi của chuỗi H được chọn từ (b1) đến (b15) dưới đây, hoặc vùng biến đổi kháng thể tương đương về mặt chức năng với chúng:

(b1) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 52;

(b2) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 103;

(b3) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 122;

(b4) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 128;

(b5) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 129;

(b6) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 132;

(b7) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 142;

(b8) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 144;

(b9) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 164;

(b10) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 168;

(b11) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 421;

(b12) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 424;

(b13) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 426;

(b14) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 429; và

(b15) vùng biến đổi của chuỗi H có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 430.

[2-11] Chất chống ung thư theo mục bất kỳ trong số các mục [2-1] đến [2-4], trong đó vùng biến đổi kháng thể của (1) và (2) trong mục [2-1] là vùng biến đổi kháng thể bao gồm tổ hợp bất kỳ trong số các tổ hợp của vùng biến đổi của chuỗi H được chọn từ (c1) đến (c19) dưới đây, hoặc các vùng biến đổi kháng thể tương đương về mặt chức năng với chúng:

(c1) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 40; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 52;

(c2) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 40; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 421;

(c3) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 40; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 426;

(c4) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 40; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 429;

(c5) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 40; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 430;

(c6) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 197; và vùng biến

đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 128;

(c7) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 206; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 142;

(c8) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 206; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 144;

(c9) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 206; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 164;

(c10) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 206; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 168;

(c11) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 211; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 142;

(c12) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 211; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 144;

(c13) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 211; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 164;

(c14) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 211; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 168;

(c15) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 103;

(c16) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 122;

(c17) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 129;

(c18) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 132; và

(c19) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215; và vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] mà có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 424.

[2-12] Chất chống ung thư theo mục bất kỳ trong số các mục [2-1] đến [2-11], trong đó chuỗi L chung theo mục [1] là chuỗi L chung bao gồm tổ hợp bất kỳ trong số các tổ hợp của CDR1, CDR2, và CDR3 được chọn từ (d1) đến (d11) dưới đây, hoặc chuỗi L chung tương đương về mặt chức năng với chúng:

(d1) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 53;

(d2) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(d3) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 299;

(d4) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 301;

(d5) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 302;

(d6) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 304;

(d7) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 306;

(d8) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 307;

(d9) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 309;

(d10) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 310; và

(d11) CDR1, CDR2, và CDR3 giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 319.

[2-13] Chất chống ung thư theo mục bất kỳ trong số các mục [2-1] đến [2-11], trong đó vùng biến đổi chuỗi L của [2-1] là vùng biến đổi của trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin của chuỗi L được chọn từ (d1) đến (d11) dưới đây:

(d1) chuỗi L bao gồm trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 53;

(d2) chuỗi L bao gồm trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(d3) chuỗi L bao gồm trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 299;

(d4) chuỗi L bao gồm trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 301;

(d5) chuỗi L bao gồm trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 302;

(d6) chuỗi L bao gồm trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 304;

(d7) chuỗi L bao gồm trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 306;

(d8) chuỗi L bao gồm trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 307;

(d9) chuỗi L bao gồm trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 309;

(d10) chuỗi L bao gồm trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 310; và

(d11) chuỗi L bao gồm trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 319.

[2-14] Chất chống ung thư theo mục bất kỳ trong số các mục [2-1] đến [2-4], trong đó vùng biến đổi kháng thể của (1) và (2) theo mục [2-1] và vùng biến đổi của chuỗi L chung là vùng biến đổi kháng thể bao gồm tổ hợp bất kỳ trong số các tổ hợp của CDR1, CDR2, và CDR3 của chuỗi H và CDR1, CDR2, và CDR3 của chuỗi L được chọn từ (e1) đến (e25) dưới đây, hoặc các vùng biến đổi kháng thể tương đương về mặt chức năng với chúng:

(e1) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 197; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 128; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 53;

(e2) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 197; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 128; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 299;

(e3) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 197; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1,

CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 128; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 310;

(e4) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 197; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 128; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 319;

(e5) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 142; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(e6) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 144; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(e7) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 164; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(e8) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(e9) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 211; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 142; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(e10) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 211; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 142; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 299;

(e11) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 211; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 144; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(e12) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 211; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến

đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 164; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(e13) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 211; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(e14) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 215; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 103; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 53;

(e15) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 215; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 103; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 299;

(e16) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 215; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 103; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit

amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 301;

(e17) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 215; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 103; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 302;

(e18) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 215; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 103; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 304;

(e19) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 215; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 103; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 306;

(e20) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 215; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 103; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 307;

(e21) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được

nêu trong SEQ ID NO: 215; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 103; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 309;

(e22) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 215; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 122; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 53;

(e23) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 215; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 129; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 53;

(e24) CDR1, CDR2, và CDR3 có trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 215; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 132; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 53; và

(e25) CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 215; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 424; và CDR1, CDR2, và CDR3 được

bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 53.

[2-15] Chất chống ung thư theo mục bất kỳ trong số các mục [2-1] đến [2-4], trong đó vùng biến đổi kháng thể của (1) và (2) theo mục [2-1] và vùng biến đổi của chuỗi L chung là vùng biến đổi kháng thể bao gồm tổ hợp bất kỳ trong số các tổ hợp của các vùng biến đổi được chọn từ (f1) đến (f26) dưới đây, hoặc các vùng biến đổi kháng thể tương đương về mặt chức năng với chúng:

(f1) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 197; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 128; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 53;

(f2) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 197; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 128; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 299;

(f3) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 197; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 128; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 310;

(f4) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 197; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 128; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 319;

(f5) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 142; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(f6) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 144; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(f7) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 164; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(f8) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(f9) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 211; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 142; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(f10) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1)

trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 211; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 142; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 299;

(f11) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 211; vùng biến đổi của chuỗi H có trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 144; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(f12) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 211; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 164; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(f13) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 211; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(f14) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 103; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 53;

(f15) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215; vùng

biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 103; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 299;

(f16) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin là SEQ ID NO: 215; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin là SEQ ID NO: 103; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 301;

(f17) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 103; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 302;

(f18) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 103; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 304;

(f19) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin là SEQ ID NO: 215; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin là SEQ ID NO: 103; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 306;

(f20) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 103; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu

trong SEQ ID NO: 307;

(f21) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 103; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 309;

(f22) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 122; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 53;

(f23) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [2-1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 129; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 53;

(f24) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 132; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 53;

(f25) vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (1) trong mục [1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215; vùng biến đổi của chuỗi H được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của (2) trong mục [1] và giống với trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 424; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung và giống với trình tự axit amin của vùng biến đổi được nêu trong SEQ ID NO: 53; và

(f26) phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu mà liên kết với epitop xếp chồng lên với từng epitop trên glypican 3 và phức hợp thụ thể tế bào T được liên kết bởi phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo bất kỳ trong số (f1) đến (f25), và có chuỗi L chung.

[2-16] Chất chống ung thư theo mục bất kỳ trong số các mục [2-1] đến [2-15], trong đó vùng Fc của (3) trong mục [2-1] là vùng Fc có đột biến axit amin ở axit amin bất kỳ trong số các axit amin cấu thành vùng Fc của SEQ ID NO: 23 đến 26 (IgG1 đến IgG4).

[2-17] Chất chống ung thư theo [2-16], trong đó vùng Fc của (3) trong mục [2-1] là vùng Fc có đột biến của ít nhất một axit amin được chọn từ các vị trí axit amin sau được chỉ rõ theo cách đánh số EU:

vị trí 220, vị trí 226, vị trí 229, vị trí 231, vị trí 232, vị trí 233, vị trí 234, vị trí 235, vị trí 236, vị trí 237, vị trí 238, vị trí 239, vị trí 240, vị trí 264, vị trí 265, vị trí 266, vị trí 267, vị trí 269, vị trí 270, vị trí 295, vị trí 296, vị trí 297, vị trí 298, vị trí 299, vị trí 300, vị trí 325, vị trí 327, vị trí 328, vị trí 329, vị trí 330, vị trí 331, và vị trí 332.

[2-18] Chất chống ung thư theo [2-16], trong đó vùng Fc của (3) trong mục [2-1] là vùng Fc bao gồm ít nhất một axit amin được chọn từ các axit amin sau được chỉ rõ bằng cách đánh số theo EU:

Arg ở vị trí axit amin 234, Ala hoặc Arg ở vị trí axit amin 235, Lys ở vị trí axit amin 239, và Ala ở vị trí axit amin 297.

[2-19] Chất chống ung thư theo mục bất kỳ trong số các mục [2-16] đến [2-18], trong đó vùng Fc của (3) trong mục [1] còn bao gồm đột biến axit amin để thúc đẩy sự hình thành vùng Fc dị đime.

[2-20] Chất chống ung thư theo mục [2-19], trong đó vùng Fc dị đime là tổ hợp trình tự axit amin của (g1) hoặc (g2) dưới đây:

(g1) tổ hợp của trình tự axit amin giống với vùng Fc của vùng không đổi chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 57, và trình tự axit amin giống với vùng Fc của vùng không đổi chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 58; và

(g2) tổ hợp của trình tự axit amin giống với vùng Fc của vùng không đổi chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62, và trình tự axit amin giống với vùng Fc của vùng không đổi chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61.

[2-21] Chất chống ung thư theo mục bất kỳ trong số các mục [2-1] đến [2-20], trong đó phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu là kháng thể đặc hiệu kép.

[2-22] Chất chống ung thư chứa kháng thể đặc hiệu kép của bất kỳ trong số (h1) đến (h25) dưới đây làm thành phần hoạt tính:

(h1) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 424 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 53;

(h2) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 103 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 53;

(h3) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 103 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 299;

(h4) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 103 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62;

và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 301;

(h5) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 103 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 302;

(h6) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 103 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 304;

(h7) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 103 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 306;

(h8) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 103 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 307;

(h9) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong

SEQ ID NO: 215 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 103 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 309;

(h10) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 122 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 53;

(h11) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 129 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 53;

(h12) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 215 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 132 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 53;

(h13) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 197 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO:

128 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 299;

(h14) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 197 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 128 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 310;

(h15) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 197 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 128 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 319;

(h16) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 197 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 128 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 53;

(h17) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 211 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 142 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 299;

(h18) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican

3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 211 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 142 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(h19) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 211 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 144 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(h20) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 206 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 144 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(h21) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 206 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 142 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(h22) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 206 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm

vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 164 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(h23) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 206 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 168 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 223;

(h24) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 211 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 164 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 223; và

(h25) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 211 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 61; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T mà bao gồm vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 168 và vùng không đổi có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 60 hoặc 62; và chuỗi L của kháng thể chung có trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 223.

Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất chất chống ung thư chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu mà chứa các miền sau đây làm thành phần hoạt tính:

(3-1) miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3;

(3-2) miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T;

trong đó vùng biến đổi của chuỗi L có trong vùng biến đổi theo (3-1) và (3-2) có trình tự axit amin sử dụng chung. Sáng chế cũng đề cập đến chất chống ung thư chứa, làm thành phần hoạt tính, miền (3-1), cụ thể hơn là miền bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3, và được bao gồm trong phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu. Sáng chế còn đề cập đến chất chống ung thư chứa, làm thành phần hoạt tính, miền theo (3-2), cụ thể hơn là miền bao gồm vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T, và được bao gồm trong phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu. Mô tả chi tiết về miền theo (3-1) và (3-2) có thể bao gồm các miền được mô tả theo các mục từ [2-1] đến [2-22] nêu trên. Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có thể là kháng thể đặc hiệu kép. Hơn nữa, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu có thể còn bao gồm miền chứa vùng Fc, và vùng Fc có thể có hoạt tính liên kết thụ thể Fcγ giảm. Mô tả chi tiết về miền chứa vùng Fc có thể bao gồm các miền được mô tả theo các mục từ [2-1] đến [2-22] nêu trên. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến chất chống ung thư chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu và chất mang dược dụng. Chất chống ung thư có thể gây ra độc tính tế bào, độc tính tế bào này có thể là độc tính tế bào phụ thuộc tế bào T, và chất này có thể để sử dụng cho bệnh nhân có nhu cầu sử dụng phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu.

Sáng chế cũng đề xuất chất chống ung thư chứa, làm thành phần hoạt tính, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với epitop xếp chồng lên và/hoặc cạnh tranh với các epitop trên mỗi glypican 3 và phức hợp thụ thể tế bào T được liên kết bởi phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo bất kỳ trong số (e1) đến (e25) của mục [2-14] nêu trên, và phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với epitop xếp chồng lên và/hoặc cạnh tranh với các epitop trên mỗi glypican 3 và phức hợp thụ thể tế bào T được liên kết bởi phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo bất kỳ trong số (f1) đến (f25) của mục [2-15].

Đối với (g1) và (g2) của mục [2-20] nêu trên, trong số hai vùng Fc, vùng Fc theo (g1) có thể được bao gồm trong chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng Fc theo (g2) có thể được bao gồm trong chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T; hoặc vùng Fc theo (g1) có thể được bao gồm trong chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T và vùng Fc theo (g2) có thể được bao gồm trong chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3.

Sáng chế cũng đề xuất chất chống ung thư chứa, làm thành phần hoạt tính, kháng

thể đặc hiệu kép liên kết với epitop xếp chồng lên và/hoặc cạnh tranh với các epitop trên mỗi glypican 3 và phức hợp thụ thể tế bào T được liên kết bởi kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể được nêu trong SEQ ID NO: 385 có hoạt tính liên kết glypican 3, chuỗi H của kháng thể được nêu trong SEQ ID NO: 402 có hoạt tính liên kết CD3, và chuỗi L kháng thể chung được nêu trong SEQ ID NO: 410.

Sáng chế còn đề xuất:

[4-1] Dược phẩm chứa chất chống ung thư khác làm thành phần hoạt tính, dược phẩm này được sử dụng kết hợp với kháng thể đặc hiệu kép của bất kỳ một trong số (a) đến (c) dưới đây:

(a) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223;

(b) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 223; và

(c) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 385; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính

liên kết CD3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 402; và kháng thể chuỗi L chung có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 410.

[4-2] Dược phẩm theo [4-1], trong đó chất chống ung thư khác được sử dụng đồng thời với kháng thể đặc hiệu kép.

[4-3] Dược phẩm theo [4-1], trong đó chất chống ung thư khác được sử dụng trước hoặc sau khi sử dụng kháng thể đặc hiệu kép.

[4-4] Dược phẩm để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh ung thư, chứa kết hợp của kháng thể đặc hiệu kép của bất kỳ một trong số (a) đến (c) dưới đây và chất chống ung thư khác:

(a) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223;

(b) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 223; và

(c) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 385; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính

liên kết CD3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 402; và kháng thể chuỗi L chung có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 410.

[4-5] Dược phẩm theo [4-4], là chế phẩm kết hợp.

[4-6] Dược phẩm theo [4-4], trong đó kháng thể đặc hiệu kép và chất chống ung thư khác được sử dụng riêng rẽ.

[4-7] Dược phẩm theo [4-6], trong đó kháng thể đặc hiệu kép và chất chống ung thư khác được sử dụng đồng thời hoặc lần lượt.

[4-8] Dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [4-1] đến [4-7], trong đó chất chống ung thư khác là chất hóa trị liệu, chất chủ vận hoạt hóa tế bào T, chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch, hoặc chất ức chế sự tạo mạch.

[4-9] Dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [4-1] đến [4-8], để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh ung thư bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư thực quản, ung thư phổi, ung thư gan, ung thư buồng trứng, ung thư vú, ung thư ruột kết, ung thư thận, ung thư da, khối u cơ, ung thư tụy, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tinh hoàn, ung thư tử cung, ung thư đường mật, caxinom tế bào Merkel, ung thư bàng quang, ung thư tuyến giáp, u bao sợi thần kinh, ung thư tuyến thượng thận, ung thư hậu môn, khối u hệ thần kinh trung ương, khối u mô thần kinh nội tiết, ung thư dương vật, u phế mạc, u tuyến nước bọt, ung thư âm hộ, u tuyến ức, và ung thư ở trẻ em.

[4-10] Chất gây độc tính tế bào, chất ngăn chặn sự tăng sinh tế bào, chất ức chế sự tăng sinh tế bào, chất hoạt hóa đáp ứng miễn dịch, chất điều trị bệnh ung thư, hoặc chất ngăn ngừa bệnh ung thư, chứa dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [4-1] đến [4-9].

Sáng chế còn đề xuất:

[4-11] Hỗn hợp gồm kháng thể đặc hiệu kép của bất kỳ trong số từ (a) đến (c) dưới đây và chất chống ung thư khác:

(a) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1,

CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223;

(b) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 223; và

(c) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 385; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 402; và kháng thể chuỗi L chung có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 410.

[4-12] Hỗn hợp theo [4-11], trong đó kháng thể đặc hiệu kép được sử dụng đồng thời với chất chống ung thư khác.

[4-13] Hỗn hợp theo [4-11], trong đó kháng thể đặc hiệu kép được sử dụng trước hoặc sau khi sử dụng chất chống ung thư khác.

[4-14] Hỗn hợp theo mục bất kỳ trong số các mục [4-11] đến [4-13], trong đó chất chống ung thư khác là chất hóa trị liệu, chất chủ vận kích hoạt tế bào T, chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch, hoặc chất ức chế sự tạo mạch.

[4-15] Hỗn hợp theo mục bất kỳ trong số các mục [4-11] đến [4-14], để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh ung thư bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư thực quản, ung thư phổi, ung thư gan, ung thư buồng trứng, ung thư

vú, ung thư ruột kết, ung thư thận, ung thư da, khối u cơ, ung thư tụy, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tinh hoàn, ung thư tử cung, ung thư đường mật, caxinom tế bào Merkel, ung thư bàng quang, ung thư tuyến giáp, u bao sợi thần kinh, ung thư tuyến thượng thận, ung thư hậu môn, khối u hệ thần kinh trung ương, khối u mô thần kinh nội tiết, ung thư dương vật, u phế mạc, u tuyến nước bọt, ung thư âm hộ, u tuyến ức, và ung thư ở trẻ em.

[4-16] Chất gây độc tính tế bào, chất ngăn chặn sự tăng sinh tế bào, chất ức chế sự tăng sinh tế bào, chất hoạt hóa đáp ứng miễn dịch, chất điều trị bệnh ung thư, hoặc chất ngăn ngừa bệnh ung thư, chứa hỗn hợp theo mục bất kỳ trong số các mục từ [4-11] đến [4-15].

Sáng chế còn đề xuất:

[4-17] Phương pháp gây độc tính tế bào, để ngăn chặn sự tăng sinh tế bào, để ức chế sự tăng sinh tế bào, để hoạt hóa đáp ứng miễn dịch, để điều trị bệnh ung thư, hoặc để ngăn ngừa bệnh ung thư ở cá thể, phương pháp bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu của kháng thể đặc hiệu kép theo bất kỳ trong số (a) đến (c) dưới đây và lượng hữu hiệu của chất chống ung thư khác:

(a) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223;

(b) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168; và

vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 223; và

(c) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 385; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 402; và kháng thể chuỗi L chung có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 410.

[4-18] Phương pháp gây độc tính tế bào, để ngăn chặn sự tăng sinh tế bào, để ức chế sự tăng sinh tế bào, để hoạt hóa đáp ứng miễn dịch, để điều trị bệnh ung thư, hoặc để ngăn ngừa bệnh ung thư ở cá thể với việc sử dụng kết hợp kháng thể đặc hiệu kép theo bất kỳ trong số (a) đến (c) dưới đây, bao gồm bước cho cá thể sử dụng lượng hữu hiệu của chất chống ung thư khác:

(a) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223;

(b) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với

trình tự axit amin của SEQ ID NO: 223; và

(c) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 385; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 402; và kháng thể chuỗi L chung có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 410.

[4-19] Phương pháp gây độc tính tế bào, để ngăn chặn sự tăng sinh tế bào, để ức chế sự tăng sinh tế bào, để hoạt hóa đáp ứng miễn dịch, để điều trị bệnh ung thư, hoặc để ngăn ngừa bệnh ung thư ở cá thể với việc sử dụng kết hợp chất chống ung thư khác, bao gồm bước cho cá thể sử dụng lượng hữu hiệu của kháng thể đặc hiệu kép theo bất kỳ trong số (a) đến (c) dưới đây:

(a) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223;

(b) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 223; và

(c) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 385; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 402; và kháng thể chuỗi L chung có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 410.

[4-20] Phương pháp tăng cường tác dụng gây độc tính tế bào, ngăn chặn sự tăng sinh tế bào, ức chế sự tăng sinh tế bào, hoạt hóa đáp ứng miễn dịch, điều trị bệnh ung thư, hoặc ngăn ngừa bệnh ung thư ở cá thể bởi kháng thể đặc hiệu kép theo bất kỳ trong số (a) đến (c) dưới đây, bao gồm bước cho cá thể sử dụng lượng hữu hiệu của chất chống ung thư khác:

(a) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223;

(b) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 223; và

(c) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican

3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 385; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 402; và kháng thể chuỗi L chung có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 410.

[4-21] Phương pháp tăng cường tác dụng gây độc tính tế bào, ngăn chặn sự tăng sinh tế bào, ức chế sự tăng sinh tế bào, hoạt hóa đáp ứng miễn dịch, điều trị bệnh ung thư, hoặc ngăn ngừa bệnh ung thư ở cá thể bởi chất chống ung thư khác, bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu của kháng thể đặc hiệu kép theo bất kỳ trong số (a) đến (c) dưới đây:

(a) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223;

(b) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 223; và

(c) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và có mức đồng nhất ít nhất

80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 385; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 402; và kháng thể chuỗi L chung có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 410.

[4-22] Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ [4-17] đến [4-21], trong đó kháng thể đặc hiệu kép và chất chống ung thư khác được sử dụng riêng rẽ.

[4-23] Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ [4-17] đến [4-22], trong đó kháng thể đặc hiệu kép và chất chống ung thư khác được sử dụng đồng thời hoặc lần lượt.

[4-24] Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ [4-17] đến [4-23], trong đó chất chống ung thư khác là chất hóa trị liệu, chất chủ vận hoạt hóa tế bào T, chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch, hoặc chất ức chế sự tạo mạch.

[4-25] Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ [4-17] đến [4-24], trong đó bệnh ung thư là bệnh ung thư bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư thực quản, ung thư phổi, ung thư gan, ung thư buồng trứng, ung thư vú, ung thư ruột kết, ung thư thận, ung thư da, khối u cơ, ung thư tụy, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tinh hoàn, ung thư tử cung, ung thư đường mật, caxinom tế bào Merkel, ung thư bàng quang, ung thư tuyến giáp, u bao sợi thần kinh, ung thư tuyến thượng thận, ung thư hậu môn, khối u hệ thần kinh trung ương, khối u mô thần kinh nội tiết, ung thư dương vật, u phế mạc, u tuyến nước bọt, ung thư âm hộ, u tuyến ức, và ung thư ở trẻ em.

Sáng chế còn đề xuất:

[4-26] Bộ kit bao gồm:

(A) dược phẩm chứa kháng thể đặc hiệu kép theo bất kỳ trong số (a) đến (c) dưới đây;

(B) vật chứa; và

(C) hướng dẫn sử dụng hoặc nhãn chỉ ra rằng kháng thể đặc hiệu kép và ít nhất một loại chất chống ung thư khác được sử dụng kết hợp cho cá thể để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh ung thư ở cá thể;

(a) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là

các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223;

(b) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 223; và

(c) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 385; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 402; và chuỗi L chung của kháng thể có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 410.

[4-27] Bộ kit bao gồm:

(A) chất chống ung thư khác;

(B) vật chứa; và

(C) hướng dẫn sử dụng hoặc nhãn chỉ ra rằng chất chống ung thư khác và dược phẩm chứa ít nhất một loại kháng thể đặc hiệu kép trong số (a) đến (c) dưới đây được sử dụng kết hợp cho cá thể để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh ung thư ở cá thể;

(a) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó CDR1, CDR2, và

CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223;

(b) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 223; và

(c) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 385; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 402; và chuỗi L chung của kháng thể có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 410.

[4-28] Bộ kit bao gồm:

(A) dược phẩm chứa kháng thể đặc hiệu kép của bất kỳ một trong số (a) đến (c) dưới đây:

(a) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được

bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223;

(b) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 223; và

(c) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 385; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 402; và chuỗi L chung của kháng thể có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 410;

(B) vật chứa; và

(C) chất chống ung thư khác.

[4-29] Bộ kit theo mục bất kỳ trong số các mục từ [4-26] đến [4-28], trong đó kháng thể đặc hiệu kép được sử dụng đồng thời với chất chống ung thư khác.

[4-30] Bộ kit theo mục bất kỳ trong số các mục từ [4-26] đến [4-28], trong đó kháng thể đặc hiệu kép được sử dụng trước hoặc sau khi sử dụng chất chống ung thư khác.

[4-31] Bộ kit theo mục bất kỳ trong số các mục từ [4-26] đến [4-30], trong đó chất chống ung thư khác là chất hóa trị liệu, chất chủ vận kích hoạt tế bào T, chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch, hoặc chất ức chế sự tạo mạch.

[4-32] Bộ kit theo mục bất kỳ trong số các mục từ [4-26] đến [4-31], trong đó bệnh ung

thư là ung thư bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư thực quản, ung thư phổi, ung thư gan, ung thư buồng trứng, ung thư vú, ung thư ruột kết, ung thư thận, ung thư da, khối u cơ, ung thư tụy, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tinh hoàn, ung thư tử cung, ung thư đường mật, caxinom tế bào Merkel, ung thư bàng quang, ung thư tuyến giáp, u bao sợi thần kinh, ung thư tuyến thượng thận, ung thư hậu môn, khối u hệ thần kinh trung ương, khối u mô thần kinh nội tiết, ung thư dương vật, u phế mạc, u tuyến nước bọt, ung thư âm hộ, u tuyến ức, và ung thư ở trẻ em.

Sáng chế còn đề xuất:

[4-33] Phương pháp gây phá hủy tế bào ung thư hoặc mô khối u chứa tế bào ung thư, hoặc phương pháp ức chế sự tăng sinh của tế bào ung thư hoặc sự phát triển của mô khối u chứa tế bào ung thư, bằng cách cho tế bào ung thư tiếp xúc với kháng thể đặc hiệu kép của bất kỳ một trong số (a) đến (c) dưới đây và chất chống ung thư khác;

(a) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223;

(b) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 223; và

(c) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican

3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 385; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 402; và chuỗi L chung của kháng thể có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 410.

[4-34] Phương pháp đánh giá liệu kháng thể đặc hiệu kép và chất chống ung thư khác có gây phá hủy tế bào ung thư hoặc mô khối u chứa tế bào ung thư, hoặc ức chế sự tăng sinh của tế bào ung thư hoặc sự phát triển của mô khối u chứa tế bào ung thư hay không, bằng cách cho tế bào ung thư tiếp xúc với kháng thể đặc hiệu kép của bất kỳ một trong số (a) đến (c) dưới đây và chất chống ung thư khác;

(a) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223;

(b) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 223; và

(c) kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3, trong đó kháng thể đặc hiệu kép

có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 385; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 402; và chuỗi L chung của kháng thể có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 410.

[4-35] Phương pháp theo mục [4-33] hoặc [4-34], trong đó chất chống ung thư khác là chất hóa trị liệu, chất chủ vận hoạt hóa tế bào T, chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch, hoặc chất ức chế sự tạo mạch.

[4-36] Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ [4-33] đến [4-35], trong đó tế bào ung thư là tế bào ung thư bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, ung thư thực quản, ung thư phổi, ung thư gan, ung thư buồng trứng, ung thư vú, ung thư ruột kết, ung thư thận, ung thư da, khối u cơ, ung thư tụy, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tinh hoàn, ung thư tử cung, ung thư đường mật, caxinom tế bào Merkel, ung thư bàng quang, ung thư tuyến giáp, u bao sợi thần kinh, ung thư tuyến thượng thận, ung thư hậu môn, khối u hệ thần kinh trung ương, khối u mô thần kinh nội tiết, ung thư dương vật, u phế mạc, u tuyến nước bọt, ung thư âm hộ, u tuyến ức, và ung thư ở trẻ em.

Sáng chế còn đề xuất:

[5-1] Dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [7] đến [12] và [4-1] đến [4-9], để làm tăng và/hoặc duy trì sự biểu hiện của chuỗi CD3ε ở cá thể so với khi sử dụng một mình kháng thể đặc hiệu kép theo mục bất kỳ trong số các mục [7] (a) đến (c) hoặc chất chống ung thư khác.

[5-2] Dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [7] đến [12] và [4-1] đến [4-9], để mở rộng quần thể tế bào T trong cá thể so với khi sử dụng một mình kháng thể đặc hiệu kép theo mục bất kỳ trong số các mục [7] (a) đến (c) hoặc chất chống ung thư khác.

[5-3] Dược phẩm theo mục [5-2], trong đó quần thể tế bào T là quần thể tế bào T đã hoạt hóa.

[5-4] Dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [7] đến [12] và [4-1] đến [4-9], để làm tăng sự biểu hiện của xytokin và/hoặc chemokin ở cá thể so với khi sử dụng một mình kháng thể đặc hiệu kép theo mục bất kỳ trong số các mục [7] (a) đến (c) hoặc chất chống ung thư khác.

[5-5] Dược phẩm theo mục [5-4], trong đó xytokin và/hoặc chemokin là một hoặc nhiều xytokin và/hoặc chemokin được chọn từ nhóm bao gồm IFNγ, IL2, IL6, IL7, IL8, IL10, IL17A, TNF, CXCL9, và CXCL10.

[5-6] Dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [7] đến [12] và [4-1] đến [4-9], để làm tăng sự biểu hiện của gen có liên quan đến sự chết tế bào ở cá thể so với khi sử dụng một mình kháng thể đặc hiệu kép theo mục bất kỳ trong số các mục [7] (a) đến (c) hoặc chất chống ung thư khác.

[5-7] Dược phẩm theo mục [5-6], trong đó gen có liên quan đến sự chết tế bào là một hoặc nhiều gen được chọn từ nhóm bao gồm TNFSF10, FAS, FASL, caspaza 8, và caspaza 7.

[5-8] Dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [7] đến [12] và [4-1] đến [4-9], để ức chế gen có liên quan đến sự thúc đẩy chu trình tế bào ở cá thể so với khi sử dụng một mình kháng thể đặc hiệu kép theo mục bất kỳ trong số các mục [7] (a) đến (c) hoặc chất chống ung thư khác.

[5-9] Dược phẩm theo mục [5-8], trong đó gen có liên quan đến sự thúc đẩy chu trình tế bào là một hoặc nhiều gen được chọn từ nhóm bao gồm PCNA, CCNA2, và CDK4.

[5-10] Dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [7] đến [12] và [4-1] đến [4-9], để làm tăng sự biểu hiện của gen có liên quan đến sự ức chế chu trình tế bào ở cá thể so với khi sử dụng một mình kháng thể đặc hiệu kép theo mục bất kỳ trong số các mục [7] (a) đến (c) hoặc chất chống ung thư khác.

[5-11] Dược phẩm theo mục [5-10], trong đó gen có liên quan đến sự ức chế chu trình tế bào là p21.

[5-12] Dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [7] đến [12] và [4-1] đến [4-9], để làm tăng gen đánh dấu bạch cầu ở cá thể so với khi sử dụng một mình kháng thể đặc hiệu kép theo mục bất kỳ trong số các mục [7] (a) đến (c) hoặc chất chống ung thư khác.

[5-13] Dược phẩm theo mục [5-12], trong đó gen đánh dấu bạch cầu là CD45.

[5-14] Dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [7] đến [12] và [4-1] đến [4-9], để làm tăng gen đánh dấu tế bào T và/hoặc gen đánh dấu sự hoạt hóa tế bào T ở cá thể so với khi sử dụng một mình kháng thể đặc hiệu kép theo mục bất kỳ trong số các mục [7] (a) đến (c) hoặc chất chống ung thư khác.

[5-15] Dược phẩm theo mục [5-14], trong đó gen đánh dấu tế bào T và/hoặc gen đánh dấu sự hoạt hóa tế bào T là một hoặc nhiều gen đánh dấu tế bào T và/hoặc gen đánh dấu sự hoạt hóa tế bào T được chọn từ nhóm bao gồm CD3, CD4, CD8a, GZB, PRF1, và IFNγ.

[5-16] Dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [7] đến [12] và [4-1] đến [4-9], để làm tăng sự biểu hiện của gen điểm kiểm soát miễn dịch ở cá thể so với khi sử dụng một mình kháng thể đặc hiệu kép theo mục bất kỳ trong số các mục [7] (a) đến (c) hoặc chất chống ung thư khác.

[5-17] Dược phẩm theo mục [5-16], trong đó gen kiểm soát miễn dịch là một hoặc nhiều gen kiểm soát miễn dịch được chọn từ nhóm bao gồm PD-L1, PD-1, TIM3, LAG3, và CTLA4.

Ở mỗi mục trong số các mục từ [4-1] đến [4-36] ở trên, "chất chống ung thư khác" chỉ chất chống ung thư chứa chất khác với kháng thể đặc hiệu kép được nêu trong mỗi mục làm thành phần hoạt tính. Cụ thể, thuật ngữ "chất chống ung thư" đơn giản là chỉ ra rằng sáng chế theo mỗi mục được chỉ rõ là các sáng chế trong đó chất chống ung thư khác là chất chống ung thư chứa chất khác với kháng thể đặc hiệu kép làm thành phần hoạt tính, và sáng chế không bị giới hạn ở các sáng chế trong đó kháng thể đặc hiệu kép được sử dụng làm chất chống ung thư. Ví dụ, ngay cả khi mỗi sáng chế theo mục [4-1] đến [4-36] nêu ra thuật ngữ "chất chống ung thư khác", sáng chế còn bao gồm các phương án trong đó không có chất chống ung thư khác ngoài "chất chống ung thư khác" được sử dụng, và trong trường hợp này, sáng chế bao gồm các phương án trong đó kháng thể đặc hiệu kép được sử dụng làm chất tăng cường, thuốc kết hợp, tá dược, hoặc tương tự đối với chất chống ung thư khác.

Hiệu quả của sáng chế

Sáng chế tạo ra phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu mới có các dạng phân tử có thể được tạo ra với hiệu quả cao, duy trì hoạt tính kháng khối u mạnh bởi BiTE và đặc tính an toàn vượt trội khi không gây ra sự cảm ứng bão xytokin không phụ thuộc vào kháng nguyên ung thư và dạng tương tự, và có thời gian bán hủy trong máu lâu hơn. Chất chống ung thư chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế làm thành phần hoạt tính và các liệu pháp kết hợp sử dụng phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu và chất chống ung thư khác hướng đích các mô ung thư chứa tế bào ung thư

biểu hiện glypican 3 để gây độc tính tế bào, và có thể điều trị hoặc ngăn ngừa các bệnh ung thư khác nhau. Sáng chế giúp cho phương pháp điều trị được mong đợi không những có độ an toàn cao mà còn làm giảm gánh nặng vật lý, và rất thuận tiện cho bệnh nhân trở nên khả thi.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1-1 là đồ thị thể hiện hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể 38 khi các dòng tế bào thu được từ nhiều loại ung thư khác nhau được sử dụng làm tế bào đích.

Fig. 1-2 là đồ thị thể hiện hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể 38 khi các dòng tế bào thu được từ nhiều loại ung thư khác nhau được sử dụng làm tế bào đích (tiếp tục của Fig. 1-1).

Fig. 1-3 là đồ thị thể hiện hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể 38 khi các dòng tế bào thu được từ nhiều loại ung thư khác nhau được sử dụng làm tế bào đích (tiếp tục của Fig. 1-2).

Fig. 2 là đồ thị thể hiện hoạt tính kháng khối u của kháng thể 38 chống lại các khối u ghép ngoại lai thu được từ nhiều loại ung thư khác nhau ở mẫu cấy ghép tế bào T của người.

Fig. 3 là đồ thị thể hiện hoạt tính kháng khối u của kháng thể 39 và 40 chống lại khối u ghép ngoại lai PC-10 ở mẫu cấy ghép tế bào T của người.

Fig. 4 là đồ thị thể hiện hoạt tính kháng khối u của kháng thể 30, 31, 32, và 33 chống lại khối u ghép ngoại lai SK-HEP-1/hGPC3 (SK-pca31a) ở mẫu cấy ghép tế bào T của người.

Fig. 5 là đồ thị thể hiện hoạt tính kháng khối u của kháng thể 38 chống lại khối u ghép ngoại lai PC-10 ở mẫu chuột NOG được làm cho tương thích với người.

Fig. 6 là đồ thị thể hiện hoạt tính kháng khối u của kháng thể 38, và kháng thể kháng GPC3 của người, kháng thể kháng CTLA-4 của chuột, kháng thể kháng PD-1 của chuột, hoặc kháng thể kháng PD-L1 của chuột chống lại khối u cùng gen LLC1/hGPC3 ở mẫu chuột được biến đổi gen CD3εδγ của người.

Fig. 7 là đồ thị thể hiện hoạt tính kháng khối u thu được từ dạng đơn hoặc dạng kết hợp của kháng thể, và capecitabin, cisplatin, hoặc paclitaxel chống lại khối u ghép ngoại lai MKN45 ở mẫu cấy ghép tế bào T của người.

Fig. 8 là đồ thị thể hiện hoạt tính kháng khối u thu được từ dạng đơn hoặc dạng kết hợp của kháng thể, và cisplatin hoặc paclitaxel chống lại khối u ghép ngoại lai NCI-H446 ở mẫu cấy ghép tế bào T của người.

Fig. 9 là đồ thị thể hiện hoạt tính kháng khối u thu được từ dạng đơn hoặc dạng kết hợp của kháng thể 38, và kháng thể kháng TIM-3 của chuột, kháng thể kháng LAG-3 của chuột, kháng thể kháng CD137 của chuột, hoặc kháng thể kháng VEGFR2 ở chuột chống lại khối u cùng gen Hepa1-6/hGPC3 ở mẫu chuột biến đổi gen CD3εδγ của người.

Fig. 10 là đồ thị thể hiện hoạt tính kháng khối u thu được từ dạng đơn hoặc dạng kết hợp của kháng thể 38 và kháng thể kháng CD137 của chuột chống lại khối u cùng gen LLC1/hGPC3 ở mẫu chuột biến đổi gen CD3εδγ của người.

Fig. 11 là đồ thị thể hiện hoạt tính kháng khối u thu được từ dạng đơn hoặc dạng kết hợp của kháng thể 38, và kháng thể kháng PD-1 của chuột hoặc kháng thể kháng PD-L1 chống lại khối u cùng gen Hepa1-6/hGPC3 ở mẫu chuột biến đổi gen CD3ε của người.

Fig. 12 thể hiện biểu đồ của a: ERY22 và b: ERY27.

Fig. 13 là biểu đồ thể hiện hoạt tính gây độc tế bào của GPC3_ERY22_rCE115 và GPC3_ERY27_hCE115 khi NCI-H446 được sử dụng làm tế bào đích. Hình thoi đặc (♦) và hình tam giác đặc (▲) lần lượt chỉ ra hoạt tính gây độc tế bào của GPC3_ERY22_rCE115 và GPC3_ERY27_hCE115.

Fig. 14 là biểu đồ thể hiện hoạt tính gây độc tế bào của GPC3_ERY22_rCE115 và GPC3_ERY27_hCE115 khi PC-10 được sử dụng làm tế bào đích. Hình thoi đặc (♦) và hình tam giác đặc (▲) lần lượt chỉ ra hoạt tính gây độc tế bào của GPC3_ERY22_rCE115 và GPC3_ERY27_hCE115.

Fig. 15 là biểu đồ thể hiện hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể được tối ưu hóa khi sử dụng NCI-H446 làm tế bào đích.

Fig. 16 là biểu đồ thể hiện hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể được tối ưu hóa khi sử dụng NCI-H446 làm tế bào đích.

Fig. 17 là biểu đồ thể hiện hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể được tối ưu hóa khi sử dụng NCI-H446 làm tế bào đích.

Fig. 18 là biểu đồ thể hiện hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể được tối ưu hóa khi sử dụng NCI-H446 làm tế bào đích.

Fig. 19 là biểu đồ thể hiện hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể được tối ưu hóa khi sử dụng NCI-H446 làm tế bào đích.

Fig. 20 là biểu đồ thể hiện hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể được tối ưu hóa khi sử dụng NCI-H446 làm tế bào đích.

Fig. 21 thể hiện tác dụng kháng khối u *in vivo* của kháng thể được tối ưu hóa khi sử dụng PC-10 làm tế bào đích.

Fig. 22 thể hiện tác dụng kháng khối u *in vivo* của kháng thể được tối ưu hóa khi sử dụng NCI-H446 làm tế bào đích.

Fig. 23 thể hiện mối liên hệ giữa các gốc axit amin cấu thành vùng Fc của IgG1, IgG2, IgG3, và IgG4, và hệ đánh số theo Kabat EU (trong bản mô tả này còn được gọi là EU INDEX).

Fig. 24-1 thể hiện các trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng và việc đánh số chúng theo Kabat *et al.*

Fig. 24-2 thể hiện các trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng và việc đánh số chúng theo Kabat *et al.*

Fig. 25 thể hiện trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ và việc đánh số chúng theo Kabat *et al.*

Fig. 26A biểu diễn cấu trúc của ADN bộ gen chứa các gen Cd3ε, Cd3δ, và Cd3γ của chuột (1), vectơ biến đổi gen Cd3 của chuột được tạo cấu trúc bằng cách làm biến đổi dòng vô tính nhiễm sắc thể nhân tạo của vi khuẩn (bacterial artificial chromosome-BAC) chứa toàn bộ vùng gen (2), cấu trúc của ADN bộ gen trong đó các trình tự loxP và Rox được cài xen ở vị trí đích bằng cách sử dụng vectơ nêu trên (3), và cấu trúc của alen thiếu gen Cd3ε, Cd3δ, và Cd3γ được tạo ra bởi các tác động của Cre và Dre recombinaza (4).

Fig. 26B biểu diễn cấu trúc của dòng vô tính chứa các gen CD3ε, CD3δ, và CD3γ của người (a); catxet biến đổi 5' (b) và catxet biến đổi 3' (c), cả hai trong số các catxet này đều là để biến đổi dòng vô tính BAC; và vectơ dẫn vùng gen CD3 của người được

tạo cấu trúc thông qua các biến đổi sử dụng các công cụ ở trên (d).

Fig. 27 là các ví dụ đại diện của các phương pháp phân tích PCR được thực hiện để thiết lập các tế bào ES biến đổi gen Cd3 của chuột.

Fig. 28 là ví dụ đại diện của các phương pháp phân tích PCR về kiểu gen của dòng tế bào ES thu được bằng cách đưa vào tế bào ES biến đổi gen Cd3 của chuột vectơ dẫn vùng gen CD3 của người cùng với vectơ biểu hiện Cre và Dre vectơ biểu hiện. Fig. 28A là ví dụ đại diện về kết quả PCR phát hiện ra khiếm khuyết của vùng gen Cd3 của chuột.

Fig. 28B là ví dụ đại diện về kết quả PCR phát hiện ra sự mở đầu của vùng gen CD3 của người.

Fig. 29 là hình ảnh qua kính hiển vi của tuyến ức gom từ mỗi trong số các dòng đã thiết lập của chuột được thay thế gen CD3 của người, chuột thiếu gen Cd3, chuột kiểu dại, và chuột được đưa gen CD3ε của người vào. Tuyến ức được cắt ra từ con đực 12 đến 13 tuần tuổi được thể hiện kiểu gen tương ứng.

Fig. 30 thể hiện kết quả của phép đo khối lượng mô của lá lách và tuyến ức gom từ mỗi trong số các dòng đã thiết lập của chuột được thay thế gen CD3 của người, chuột thiếu gen Cd3, chuột kiểu dại, và chuột được đưa gen CD3ε của người vào. Tỷ lệ khối lượng mô với khối lượng cơ thể được tính, và giá trị thu được cho từng cá thể được vẽ đồ thị bằng chấm đen và giá trị trung bình được thể hiện bằng các cột.

Fig. 31 thể hiện kết quả của phép kiểm tra bằng RT-PCR sự biểu hiện của mỗi trong số các phân tử CD3 và mỗi trong số các gen Cd3 của chuột trong mỗi trong số các dòng đã thiết lập của chuột được thay thế gen CD3 của người, chuột thiếu gen Cd3, chuột kiểu dại, và chuột được đưa gen CD3ε của người (hCD3ε Tg) vào. Trong số các dòng đã thiết lập của chuột được thay thế gen CD3 của người, các tín hiệu đặc hiệu với hCD3ε, hCD3δ, và hCD3γ được phát hiện trong các dòng 1C3 và 8I12. Các tín hiệu không được phát hiện trong các dòng 3B1 và 2A4.

Fig. 32 là các ví dụ đại diện về phương pháp nhuộm màu mô miễn dịch đối với CD3 được thực hiện trên tuyến ức (A) và lá lách (B) của mỗi trong số dòng đã thiết lập của chuột được thay thế gen CD3 của người (1C3, 8I12, và 4HH3). Ở cả hai loại mô, sự nhuộm màu được quan sát chỉ ở vùng tế bào T như ở chuột kiểu dại. Ngoài ra, sự nhuộm

màu không được quan sát thấy ở chuột thiếu gen Cd3, và điều này cho thấy rằng sự nhuộm màu ở chuột được thay thế gen CD3 của người là do sự biểu hiện của gen CD3 của người được đưa vào.

Fig. 33 thể hiện kết quả đại diện của phép phân tích bằng FACS tỷ số độ nhiều của tế bào T trưởng thành trong tuyến ức của mỗi trong số dòng đã thiết lập của chuột được thay thế gen CD3 của người.

Fig. 34 thể hiện kết quả của phép đo nồng độ IgG1 và IgE huyết thanh đặc hiệu ovoalbumin (OVA) của gà trong mỗi dòng đã thiết lập của chuột được thay thế gen CD3 của người được gây miễn dịch với OVA. Nồng độ IgG1 và IgE huyết thanh đặc hiệu OVA đối với mỗi cá thể được thể hiện dưới dạng đồ thị thanh. Số lượng bên dưới đồ thị thanh này chỉ số nhận dạng riêng.

Fig. 35-1 thể hiện kết quả của phép phân tích ARN toàn diện các mô khối u khi Paclitaxel và kháng thể 38 được sử dụng kết hợp.

Fig. 35-2 thể hiện kết quả của phép phân tích ARN toàn diện các mô khối u khi Paclitaxel và kháng thể 38 được sử dụng kết hợp (tiếp tục của Fig. 35-1).

Fig. 35-3 thể hiện kết quả của phép phân tích ARN toàn diện các mô khối u khi Paclitaxel và kháng thể 38 được sử dụng kết hợp (tiếp tục của Fig. 35-2).

Fig. 35-4 thể hiện kết quả của phép phân tích ARN toàn diện các mô khối u khi Capecitabine và kháng thể 38 được sử dụng kết hợp.

Fig. 35-5 thể hiện kết quả của phép phân tích ARN toàn diện các mô khối u khi Capecitabine và kháng thể 38 được sử dụng kết hợp (tiếp tục của Fig. 35-4).

Fig. 35-6 thể hiện kết quả của phép phân tích ARN toàn diện các mô khối u khi Capecitabine và kháng thể 38 được sử dụng kết hợp (tiếp tục của Fig. 35-5).

Fig. 36-1 thể hiện kết quả của phép phân tích lympho bào thâm nhiễm khối u của phép phân tích lympho bào thâm nhiễm khối u (TIL) của các mô khối u khi Paclitaxel và kháng thể 38 được sử dụng kết hợp.

Fig. 36-2 thể hiện kết quả của phép phân tích lympho bào thâm nhiễm khối u (TIL) của các mô khối u khi Cisplatin và kháng thể 38 được sử dụng kết hợp.

Mô tả chi tiết sáng chế

Định nghĩa dưới đây được đưa ra để giúp cho việc hiểu rõ sáng chế.

Kháng thể

Trong bản mô tả, "kháng thể" dùng để chỉ globulin miễn dịch tự nhiên hoặc globulin miễn dịch được sản xuất bằng cách tổng hợp một phần hoặc hoàn toàn. Kháng thể có thể được phân lập từ các nguồn tự nhiên như huyết tương và huyết thanh có trong tự nhiên, hoặc dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy của tế bào lai sản sinh kháng thể. Theo một cách khác, kháng thể có thể được tổng hợp một phần hoặc hoàn toàn bằng cách sử dụng các kỹ thuật như tái tổ hợp gen. Các kháng thể được ưu tiên bao gồm, ví dụ, kháng thể thuộc isotyp globulin miễn dịch hoặc lớp con thuộc isotyp này. Các globulin miễn dịch người đã biết bao gồm các kháng thể thuộc chín lớp (isotyp) sau: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, IgD, IgE, và IgM. Trong số các isotyp này, kháng thể theo sáng chế có thể bao gồm IgG1, IgG2, IgG3, và IgG4.

Phương pháp sản xuất kháng thể có hoạt tính liên kết mong đợi đã được biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Dưới đây là ví dụ mô tả phương pháp sản xuất kháng thể (kháng thể kháng GPC3) liên kết với Glypican-3 (sau đây, còn được gọi là GPC3), thuộc họ thụ thể neo GPI (Int J Cancer. (2003) 103(4), 455-65). Kháng thể liên kết với phức hợp thụ thể tế bào T cũng có thể được sản xuất theo ví dụ được mô tả dưới đây.

Kháng thể kháng GPC3 có thể thu được dưới dạng kháng thể đa dòng hoặc đơn dòng bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết. Kháng thể kháng GPC3 được ưu tiên tạo ra là kháng thể đơn dòng có nguồn gốc từ động vật có vú. Các kháng thể đơn dòng có nguồn gốc từ động vật có vú bao gồm kháng thể được tạo ra bởi tế bào lai hoặc tế bào chủ được chuyển nhiễm bằng vectơ biểu hiện mang gen kháng thể bằng kỹ thuật thiết kế di truyền.

Tế bào lai sản sinh kháng thể đơn dòng có thể được sản xuất bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết, ví dụ, như được mô tả dưới đây. Cụ thể là, động vật có vú được gây miễn dịch bằng các phương pháp gây miễn dịch thông thường bằng cách sử dụng protein GPC3 làm kháng nguyên làm nhạy. Các tế bào miễn dịch thu được được dung hợp với các tế bào gốc đã biết bằng các phương pháp dung hợp tế bào thông thường. Sau đó, các tế bào lai sản sinh kháng thể kháng GPC3 có thể được chọn lọc bằng cách sàng lọc tế bào sản sinh kháng thể đơn dòng bằng cách sử dụng các phương pháp sàng lọc thông

thường.

Cụ thể, kháng thể đơn dòng được tạo ra như được nêu dưới đây. Trước tiên, gen GPC3 có trình tự nucleotit được bộc lộ trong số nộp lưu RefSeq NM_001164617.1 (SEQ ID NO: 1) có thể được biểu hiện để sản sinh protein GPC3 được thể hiện trong số nộp lưu RefSeq NP_001158089.1 (SEQ ID NO: 2), được sử dụng làm kháng nguyên làm nhạy để tạo ra kháng thể. Tức là, trình tự gen mã hóa GPC3 được cài xen vào vectơ biểu hiện đã biết, và các tế bào chủ thích hợp được chuyển nhiễm bằng vectơ này. Protein GPC3 người mong muốn được tinh chế từ tế bào chủ hoặc các dịch nổi trên bề mặt nuôi cấy của chúng bằng các phương pháp đã biết. Ví dụ, để tạo ra GPC3 tan được từ dịch nổi trên bề mặt nuôi cấy, axit amin ở các vị trí từ 564 đến 580 mà tạo ra vùng kỵ nước tương ứng với trình tự neo GPI được sử dụng để neo GPC3 trên màng tế bào được xóa từ trình tự polypeptit của GPC3 của SEQ ID NO: 2, và sau đó protein thu được được biểu hiện thay vì protein GPC3 của SEQ ID NO: 2. Theo một cách khác, có thể sử dụng protein GPC3 tự nhiên đã tinh chế làm kháng nguyên làm nhạy.

Protein GPC3 đã tinh chế có thể được sử dụng làm kháng nguyên làm nhạy để sử dụng để gây miễn dịch cho động vật có vú. Peptit một phần của GPC3 cũng có thể được sử dụng làm kháng nguyên làm nhạy. Trong trường hợp này, peptit một phần cũng có thể thu được bằng cách tổng hợp hóa học từ trình tự axit amin của GPC3 người. Hơn nữa, chúng cũng có thể thu được bằng cách kết hợp một phần gen GPC3 vào vectơ biểu hiện và biểu hiện nó. Ngoài ra, chúng cũng có thể thu được bằng cách phân hủy protein GPC3 bằng cách sử dụng proteaza, nhưng vùng và kích cỡ của peptit GPC3 được sử dụng làm peptit một phần không bị giới hạn cụ thể ở phương án cụ thể. Dùng làm vùng được ưu tiên, trình tự bất kỳ từ trình tự axit amin tương ứng với các axit amin ở các vị trí từ 524 đến 563, hoặc tốt hơn là trình tự bất kỳ từ trình tự axit amin tương ứng với các axit amin ở các vị trí 537 đến 563 trong trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2 có thể được chọn lọc. Tốt hơn là, trình tự bất kỳ có thể được chọn từ trình tự axit amin của vùng không chứa trình tự axit amin tương ứng với các axit amin ở các vị trí từ 550 đến 663 trong trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2. Tốt hơn là, trình tự bất kỳ có thể được chọn từ trình tự axit amin tương ứng với các vị trí từ 544 đến 553, và tốt hơn nữa là, trình tự bất kỳ có thể được chọn từ trình tự axit amin tương ứng với các vị trí từ 546 đến 551 trong trình tự axit amin của SEQ ID NO: 2. Số lượng axit amin cấu thành peptit để được sử dụng làm kháng nguyên làm nhạy ít nhất là năm hoặc nhiều hơn, hoặc tốt hơn

là ví dụ, sáu hoặc nhiều hơn, hoặc bảy hoặc nhiều hơn. Cụ thể hơn là, peptit gồm có 8 đến 50 gốc hoặc tốt hơn là 10 đến 30 gốc có thể được sử dụng làm kháng nguyên làm nhạy.

Đối với kháng nguyên làm nhạy, theo một cách khác, có thể sử dụng protein dung hợp được tạo ra bằng cách dung hợp polypeptit hoặc peptit một phần mong muốn của protein GPC3 với polypeptit khác. Ví dụ, mảnh Fc của kháng thể và thẻ peptit tốt hơn là được sử dụng để tạo ra protein dung hợp để được sử dụng làm kháng nguyên làm nhạy. Các vectơ dùng để biểu hiện protein dung hợp này có thể được xây dựng bằng cách dung hợp trong khung gen mã hóa hai hoặc nhiều mảnh polypeptit mong muốn và cài xen gen dung hợp vào vectơ biểu hiện như được mô tả trên đây. Phương pháp sản xuất protein dung hợp được mô tả trong Molecular Cloning 2nd ed. (Sambrook, J *et al.*, Molecular Cloning 2nd ed., 9.47-9.58 (1989) Cold Spring Harbor Lab. Press). Phương pháp tạo ra GPC3 được sử dụng làm kháng nguyên làm nhạy, và phương pháp gây miễn dịch sử dụng GPC3 được mô tả cụ thể trong WO 2003/000883, WO 2004/022754, và WO 2006/006693.

Không có giới hạn cụ thể về động vật có vú được gây miễn dịch bằng kháng nguyên làm nhạy. Tuy nhiên, tốt hơn là chọn lọc động vật có vú bằng cách xem xét khả năng tương thích của chúng với các tế bào gốc được sử dụng để dung hợp tế bào. Nhìn chung, loài gặm nhấm như chuột nhắt, chuột cống, và chuột hamster, thỏ, và khỉ được ưu tiên sử dụng.

Các động vật nêu trên được gây miễn dịch bằng kháng nguyên làm nhạy bằng các phương pháp đã biết. Các phương pháp gây miễn dịch thường được thực hiện bao gồm, ví dụ, tiêm trong màng bụng hoặc dưới da kháng nguyên làm nhạy vào động vật có vú. Cụ thể là, kháng nguyên làm nhạy được pha loãng theo tỷ lệ thích hợp với PBS (Nước muối đệm phosphat), nước muối sinh lý, hoặc dạng tương tự. Nếu muốn, chất bổ trợ thông thường như chất bổ trợ hoàn chỉnh Freund được trộn với kháng nguyên, và hỗn hợp được nhũ hóa. Sau đó, kháng nguyên làm nhạy được dùng cho động vật có vú một vài lần ở khoảng cách từ 4 đến 21 ngày. Các chất mang thích hợp có thể được sử dụng trong quá trình gây miễn dịch bằng kháng nguyên làm nhạy. Cụ thể là, khi peptit một phần có phân tử lượng thấp được sử dụng làm kháng nguyên làm nhạy, đôi khi mong muốn ghép cặp peptit của kháng nguyên làm nhạy với protein mang như albumin hoặc hemoxyanin lỗ khóa hình sao (keyhole limpet hemocyanin) để gây miễn dịch.

Theo cách khác, tế bào lai sản sinh kháng thể mong muốn có thể được tạo ra bằng cách sử dụng phương pháp gây miễn dịch ADN như được nêu dưới đây. Phương pháp gây miễn dịch ADN là phương pháp gây miễn dịch mang lại sự kích thích miễn dịch bằng cách biểu hiện kháng nguyên làm nhạy ở động vật được gây miễn dịch nhờ dùng ADN vectơ được xây dựng để cho phép biểu hiện gen mã hóa protein kháng nguyên ở động vật này. So với phương pháp gây miễn dịch thông thường trong đó kháng nguyên protein được dùng cho động vật cần được gây miễn dịch, phương pháp gây miễn dịch ADN được mong đợi là tốt hơn ở chỗ:

- sự kích thích miễn dịch có thể được tạo ra trong khi vẫn giữ được cấu trúc của protein màng như GPC3; và
- không cần phải tinh chế kháng nguyên để gây miễn dịch.

Để tạo ra kháng thể đơn dòng theo sáng chế bằng cách sử dụng phương pháp gây miễn dịch ADN, trước tiên, ADN biểu hiện protein GPC3 được dùng cho động vật cần được gây miễn dịch. ADN mã hóa GPC3 có thể được tổng hợp bằng các phương pháp đã biết như PCR. ADN thu được được cài xen vào vectơ biểu hiện thích hợp, và sau đó nó được dùng cho động vật cần được gây miễn dịch. Các vectơ biểu hiện được ưu tiên sử dụng bao gồm, ví dụ, các vectơ biểu hiện có bán trên thị trường như pcDNA3.1. Các vectơ này có thể được dùng cho sinh vật bằng cách sử dụng các phương pháp thông thường. Ví dụ, phương pháp gây miễn dịch ADN được thực hiện bằng cách sử dụng súng bắn gen để đưa các hạt vàng được phủ vectơ biểu hiện vào tế bào trong cơ thể động vật cần được gây miễn dịch. Kháng thể nhận diện GPC3 cũng có thể được sản xuất bằng các phương pháp được mô tả trong WO 2003/104453.

Sau khi gây miễn dịch cho động vật có vú như được mô tả trên đây, hiệu giá của kháng thể liên kết GPC3 được xác nhận là tăng lên trong huyết thanh. Sau đó, tế bào miễn dịch được gom từ động vật có vú, và sau đó được đưa qua bước dung hợp tế bào. Cụ thể là, các tế bào lách được ưu tiên sử dụng làm tế bào miễn dịch.

Tế bào u tủy của động vật có vú được sử dụng làm tế bào cần được dung hợp với tế bào miễn dịch nêu trên. Tế bào u tủy tốt hơn là chứa yếu tố chỉ thị chọn lọc thích hợp để sàng lọc. Yếu tố chỉ thị chọn lọc mang lại các đặc tính cho tế bào về khả năng sống (hoặc chết) của chúng trong điều kiện nuôi cấy đặc hiệu. Thiếu hụt hypoxanthin-guanin phosphoribosyltransferaza (sau đây được viết tắt là thiếu hụt HGPRT) và thiếu hụt

thymidin kinaza (sau đây được viết tắt là thiếu hụt TK) đã được biết là các yếu tố chỉ thị chọn lọc. Tế bào có thiếu hụt HGPRT hoặc thiếu hụt TK có độ nhạy hypoxanthin-aminopterin-thymidin (sau đây được viết tắt là độ nhạy HAT). Các tế bào nhạy HAT không thể tổng hợp ADN trong môi trường chọn lọc HAT, và vì thế bị tiêu diệt. Tuy nhiên, khi các tế bào được dung hợp với tế bào bình thường, chúng có thể tiếp tục tổng hợp ADN bằng cách sử dụng con đường khôi phục của tế bào bình thường, và do đó chúng có thể phát triển thậm chí trong môi trường chọn lọc HAT.

Tế bào thiếu hụt HGPRT và tế bào thiếu hụt TK có thể được chọn lọc trong môi trường chứa 6-thioguanin, 8-azaguanin (sau đây được viết tắt là 8AG), hoặc 5'-bromodeoxyuridin, một cách tương ứng. Tế bào bình thường bị tiêu diệt do chúng kết hợp các chất tương tự pyrimidin này vào ADN của chúng. Trong khi đó, các tế bào thiếu hụt các enzym này có thể sống sót trong môi trường chọn lọc này, do chúng không thể kết hợp các chất tương tự pyrimidin này. Ngoài ra, yếu tố chỉ thị chọn lọc được đề cập đến là kháng G418 được tạo ra bằng gen kháng neomyxin mang tính kháng đối với kháng sinh 2-deoxystreptamin (chất tương tự gentamyxin). Các kiểu tế bào u tủy khác nhau thích hợp để dung hợp tế bào là đã biết.

Ví dụ, tế bào u tủy bao gồm các tế bào sau có thể được ưu tiên sử dụng:

P3(P3x63Ag8.653) (J. Immunol. (1979) 123 (4), 1548-1550);

P3x63Ag8U.1 (Current Topics in Microbiology and Immunology (1978)81, 1-7);

NS-1 (C. Eur. J. Immunol. (1976)6 (7), 511-519);

MPC-11 (Cell (1976) 8 (3), 405-415);

SP2/0 (Nature (1978) 276 (5685), 269-270);

FO (J. Immunol. Methods (1980) 35 (1-2), 1-21);

S194/5.XX0.BU.1 (J. Exp. Med. (1978) 148 (1), 313-323);

R210 (Nature (1979) 277 (5692), 131-133), v.v.

Việc dung hợp tế bào giữa tế bào miễn dịch và tế bào u tủy chủ yếu được tiến hành bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết, ví dụ, phương pháp của Kohler và Milstein *et al.* (Methods Enzymol. (1981) 73: 3-46).

Cụ thể hơn, việc dung hợp tế bào có thể được tiến hành, ví dụ, trong môi trường

nuôi cấy thông thường khi có mặt chất thúc đẩy dung hợp tế bào. Các chất thúc đẩy dung hợp bao gồm, ví dụ, polyetylen glycol (PEG) và virut Sendai (HVJ). Nếu cần, chất bổ trợ như dimetyl sulfoxit cũng được bổ sung để cải thiện hiệu quả dung hợp.

Tỷ lệ giữa tế bào miễn dịch và tế bào u tủy có thể được xác định tùy sự thận trọng của mỗi người, tốt hơn là, ví dụ, một tế bào u tủy cho mỗi một đến mười tế bào miễn dịch. Môi trường nuôi cấy được sử dụng để dung hợp tế bào bao gồm, ví dụ, môi trường thích hợp cho sự phát triển của dòng tế bào u tủy, như môi trường RPMI1640 và môi trường MEM, và môi trường nuôi cấy thông thường khác được sử dụng cho kiểu nuôi cấy tế bào này. Ngoài ra, chất bổ sung huyết thanh như huyết thanh bào thai bê (FCS) có thể được ưu tiên bổ sung vào môi trường nuôi cấy.

Để dung hợp tế bào, lượng được xác định trước của tế bào miễn dịch và tế bào u tủy nêu trên được trộn kỹ trong môi trường nuôi cấy trên đây. Sau đó, dung dịch PEG (ví dụ, phân tử lượng trung bình nằm trong khoảng từ 1000 đến 6000) được làm ấm trước đến nhiệt độ khoảng 37°C được bổ sung vào đó ở nồng độ thường từ 30% đến 60% (trọng lượng/ thể tích). Hỗn hợp này được trộn nhẹ để tạo ra tế bào dung hợp mong muốn (tế bào lai). Sau đó, môi trường nuôi cấy thích hợp nêu trên được bổ sung dần dần vào tế bào, và hỗn hợp này được ly tâm nhiều lần để loại bỏ dịch nổi trên bề mặt. Do đó, chất dung hợp tế bào và chất tương tự mà bất lợi cho sự phát triển tế bào lai có thể được loại bỏ.

Tế bào lai thu được từ đó có thể được chọn lọc bằng cách nuôi cấy sử dụng môi trường chọn lọc thông thường, ví dụ, môi trường HAT (môi trường nuôi cấy chứa hypoxanthin, aminopterin, và thymidin). Tế bào khác với tế bào lai mong muốn (tế bào không được dung hợp) có thể bị tiêu diệt bằng cách tiếp tục nuôi cấy trong môi trường HAT nêu trên trong khoảng thời gian vừa đủ. Thông thường, khoảng thời gian này là một vài ngày đến một vài tuần. Sau đó, tế bào lai sản sinh kháng thể mong muốn có thể được sàng lọc và tách dòng riêng rẽ bằng phương pháp pha loãng giới hạn thông thường.

Các tế bào lai thu được từ đó có thể được chọn lọc bằng cách sử dụng môi trường chọn lọc dựa trên yếu tố chỉ thị chọn lọc mà có ở u tủy sử dụng để dung hợp tế bào. Ví dụ, tế bào thiếu hụt HGPRT hoặc TK có thể được chọn lọc bằng cách nuôi cấy sử dụng môi trường HAT (môi trường nuôi cấy chứa hypoxanthin, aminopterin, và thymidin). Cụ thể là, khi tế bào u tủy nhạy HAT được sử dụng để dung hợp tế bào, các tế bào dung

hợp thành công với tế bào bình thường có thể tăng sinh một cách có chọn lọc trong môi trường HAT. Các tế bào khác với tế bào lai mong muốn (tế bào không được dung hợp) có thể bị tiêu diệt bằng cách tiếp tục nuôi cấy trong môi trường HAT nêu trên trong khoảng thời gian vừa đủ. Cụ thể là, tế bào lai mong muốn có thể được chọn lọc bằng cách nuôi cấy trong thời gian thường từ một vài ngày đến một vài tuần. Sau đó, tế bào lai sản sinh kháng thể mong muốn có thể được sàng lọc và tách dòng riêng rẽ bằng các phương pháp pha loãng giới hạn thông thường.

Kháng thể mong muốn có thể tốt hơn là được chọn lọc và tách dòng riêng rẽ bằng các phương pháp sàng lọc đã biết dựa trên phản ứng kháng nguyên/kháng thể. Ví dụ, kháng thể đơn dòng liên kết GPC3 có thể liên kết với GPC3 được biểu hiện trên bề mặt tế bào. Kháng thể đơn dòng này có thể được sàng lọc bằng cách phân loại tế bào hoạt hóa huỳnh quang (FACS). FACS là hệ thống đánh giá khả năng liên kết của kháng thể với bề mặt tế bào bằng cách phân tích các tế bào tiếp xúc với kháng thể huỳnh quang bằng cách sử dụng chùm tia laze, và xác định lượng huỳnh quang phát ra từ các tế bào riêng rẽ.

Để sàng lọc tế bào lai sản sinh kháng thể đơn dòng theo sáng chế bằng FACS, trước tiên, các tế bào biểu hiện GPC3 được chuẩn bị. Các tế bào được ưu tiên sử dụng để sàng lọc là tế bào động vật có vú trong đó GPC3 được biểu hiện theo cách ép buộc. Để làm đối chứng, hoạt tính của kháng thể là liên kết với GPC3 bề mặt tế bào có thể được phát hiện theo cách chọn lọc bằng cách sử dụng tế bào động vật có vú không chuyển nhiễm làm tế bào chủ. Cụ thể, tế bào lai sản sinh kháng thể đơn dòng kháng GPC3 có thể được phân lập bằng cách chọn lọc các tế bào lai sản sinh kháng thể mà liên kết với các tế bào bị ép buộc biểu hiện GPC3, nhưng không liên kết với các tế bào chủ.

Theo một cách khác, hoạt tính của kháng thể là liên kết với tế bào biểu hiện GPC3 đã được cố định có thể được đánh giá dựa trên nguyên tắc của ELISA. Ví dụ, tế bào biểu hiện GPC3 được cố định vào các lỗ của đĩa ELISA. Dịch nổi trên bề mặt nuôi cấy của các tế bào lai được tiếp xúc với các tế bào được cố định trong các lỗ, và các kháng thể liên kết với tế bào được cố định này được phát hiện. Khi kháng thể đơn dòng có nguồn gốc từ chuột nhắt, kháng thể liên kết với tế bào có thể được phát hiện bằng cách sử dụng kháng thể kháng globulin miễn dịch của chuột nhắt. Tế bào lai sản sinh kháng thể mong muốn có khả năng liên kết kháng nguyên được chọn lọc bằng kỹ thuật sàng lọc trên đây, và chúng có thể được tách dòng bằng phương pháp pha loãng giới hạn hoặc phương

pháp tương tự.

Tế bào lai sản sinh kháng thể đơn dòng được tạo ra từ đó có thể được cấy chuyển trong môi trường nuôi cấy thông thường, và được bảo quản trong nitơ lỏng trong một thời gian dài.

Các tế bào lai nêu trên được nuôi cấy bằng phương pháp thông thường, và kháng thể đơn dòng mong muốn có thể được tạo ra từ dịch nổi trên bề mặt nuôi cấy. Theo một cách khác, các tế bào lai được sử dụng và phát triển trong động vật có vú tương thích, và kháng thể đơn dòng được tạo ra từ dịch cổ trướng. Phương pháp tạo kháng thể đơn dòng mong muốn từ dịch nổi trên bề mặt nuôi cấy thích hợp để tạo ra kháng thể có độ tinh khiết cao.

Kháng thể được mã hóa bằng gen kháng thể được tách dòng từ tế bào sản sinh kháng thể như tế bào lai trên đây cũng có thể được ưu tiên sử dụng. Gen kháng thể đã tách dòng được cài xen vào vectơ thích hợp, và vectơ này được đưa vào vật chủ để biểu hiện kháng thể được mã hóa bởi gen này. Phương pháp phân lập gen kháng thể, cài xen gen vào vectơ, và chuyển nhiễm tế bào chủ đã được thiết lập trong tài liệu của, ví dụ, Vandamme *et al.* (Eur. J. Biochem. (1990) 192(3), 767-775). Phương pháp sản xuất kháng thể tái tổ hợp cũng được biết như được mô tả dưới đây.

Ví dụ, ADN bổ trợ (cDNA) mã hóa vùng biến đổi (vùng V) của kháng thể kháng GPC3 được tạo ra từ các tế bào lai biểu hiện kháng thể kháng GPC3. Nhằm mục đích này, trước tiên ARN tổng được chiết từ tế bào lai. Các phương pháp được sử dụng để chiết ARN thông tin từ tế bào bao gồm, ví dụ:

- phương pháp siêu ly tâm guanidin (Biochemistry (1979) 18(24), 5294-5299), và
- phương pháp AGPC (Anal. Biochem. (1987) 162(1), 156-159)

ARN thông tin đã được chiết có thể được tinh chế bằng cách sử dụng bộ kit tinh chế ARN thông tin (GE Healthcare Bioscience) hoặc công cụ tương tự. Theo cách khác, bộ kit dùng để chiết ARN thông tin tổng trực tiếp từ tế bào, như bộ kit tinh chế ARN thông tin QuickPrep (GE Healthcare Bioscience), cũng có thể mua được trên thị trường. ARN thông tin có thể được tạo ra từ tế bào lai bằng cách sử dụng bộ kit như vậy. ADN bổ trợ mã hóa vùng V của kháng thể có thể được tổng hợp từ ARN thông tin đã được tạo ra bằng cách sử dụng transcriptaza ngược. ADN bổ trợ có thể được tổng hợp bằng cách sử dụng bộ kit tổng hợp ADN bổ trợ sợi thứ nhất Transcriptaza ngược AMV

(Seikagaku Co.) hoặc bộ kit tương tự. Hơn nữa, bộ kit khuếch đại ADN bổ trợ SMART RACE (Clontech) và phương pháp 5'-RACE dựa trên PCR (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1988) 85(23), 8998-9002; Nucleic Acids Res. (1989) 17(8), 2919-2932) có thể được sử dụng một cách thích hợp để tổng hợp và khuếch đại ADN bổ trợ. Trong quy trình tổng hợp ADN bổ trợ này, vị trí enzym giới hạn thích hợp được mô tả dưới đây có thể được đưa vào cả hai đầu của ADN bổ trợ.

Mảnh ADN bổ trợ quan tâm được tinh chế từ sản phẩm PCR thu được, và sau đó mảnh này được nối với vectơ ADN. Vectơ tái tổ hợp được xây dựng từ đó, và được đưa vào *E. coli* hoặc tế bào như vậy. Sau khi chọn lọc khuẩn lạc, vectơ tái tổ hợp mong muốn có thể được tạo ra từ *E. coli* tạo khuẩn lạc. Sau đó, việc liệu rằng vectơ tái tổ hợp có trình tự nucleotit của ADN bổ trợ quan tâm hay không được thử nghiệm bằng phương pháp đã biết như phương pháp kết thúc mạch dideoxy nucleotit.

Phương pháp 5'-RACE sử dụng đoạn mồi để khuếch đại gen vùng biến đổi được sử dụng một cách thuận lợi để phân lập gen mã hóa vùng biến đổi này. Trước tiên, thư viện ADN bổ trợ 5'-RACE được xây dựng bằng cách tổng hợp ADN bổ trợ sử dụng ARN được chiết từ các tế bào lai để làm mẫu. Bộ kit có thể mua được trên thị trường như bộ kit khuếch đại ADN bổ trợ SMART RACE được sử dụng một cách thích hợp để tổng hợp thư viện ADN bổ trợ 5'-RACE.

Gen kháng thể được khuếch đại bằng PCR bằng cách sử dụng thư viện ADN bổ trợ 5'-RACE đã được tạo ra làm mẫu. Đoạn mồi dùng để khuếch đại gen kháng thể chuột nhắt có thể được thiết kế dựa trên trình tự gen kháng thể đã biết. Trình tự nucleotit của đoạn mồi thay đổi phụ thuộc vào lớp con globulin miễn dịch. Do đó, tốt hơn nếu lớp con này được xác định trước bằng cách sử dụng bộ kit có thể mua được trên thị trường như bộ kit isotyp hóa kháng thể đơn dòng chuột nhắt Iso Strip (Roche Diagnostics).

Cụ thể, ví dụ, đoạn mồi cho phép khuếch đại gen mã hóa chuỗi nặng γ1, γ2a, λ2b, và γ3 và chuỗi nhẹ κ và λ có thể được sử dụng để phân lập gen mã hóa IgG chuột nhắt. Nhìn chung, đoạn mồi bắt cặp với vị trí vùng không đổi gần với vùng biến đổi được sử dụng làm đoạn mồi phía đầu 3' để khuếch đại gen vùng biến đổi IgG. Trong khi đó, đoạn mồi gắn với bộ kit xây dựng thư viện ADN bổ trợ 5' RACE được sử dụng làm đoạn mồi phía đầu 5'.

Sản phẩm PCR được khuếch đại từ đó được sử dụng để tái tạo cấu trúc globulin

miễn dịch gồm có tổ hợp của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ. Kháng thể mong muốn có thể được chọn lọc bằng cách sử dụng hoạt tính liên kết GPC3 của globulin miễn dịch đã được tái tạo cấu trúc làm chỉ báo. Ví dụ, khi mục đích là phân lập kháng thể kháng GPC3, được ưu tiên hơn nếu việc liên kết của kháng thể với GPC3 là đặc hiệu. Kháng thể liên kết GPC3 có thể được sàng lọc, ví dụ, theo các bước sau:

(1) cho tế bào biểu hiện GPC3 tiếp xúc với kháng thể chứa vùng V được mã hóa bởi ADN bổ trợ được phân lập từ tế bào lai;

(2) phát hiện sự liên kết của kháng thể với tế bào biểu hiện GPC3; và

(3) chọn lọc kháng thể liên kết với tế bào biểu hiện GPC3.

Phương pháp phát hiện sự liên kết của kháng thể với tế bào biểu hiện GPC3 là đã biết. Cụ thể là, sự liên kết của kháng thể với tế bào biểu hiện GPC3 có thể được phát hiện bằng kỹ thuật được mô tả trên đây như FACS. Các mẫu đã được cố định của tế bào biểu hiện GPC3 được sử dụng một cách thích hợp để đánh giá hoạt tính liên kết của kháng thể.

Phương pháp sàng lọc kháng thể được ưu tiên mà sử dụng hoạt tính liên kết làm chỉ báo cũng bao gồm phương pháp đãi có sử dụng vectơ thể thực khuẩn. Phương pháp sàng lọc sử dụng vectơ thể thực khuẩn có lợi khi gen kháng thể được phân lập từ thư viện lớp con chuỗi nặng và chuỗi nhẹ từ quần thể tế bào biểu hiện kháng thể đa dòng. Gen mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có thể được liên kết bởi trình tự thành phần liên kết thích hợp để tạo ra Fv chuỗi đơn (scFv). Thể thực khuẩn trình diện scFv trên bề mặt của chúng có thể được tạo ra bằng cách cài xen gen mã hóa scFv vào vectơ thể thực khuẩn. Thể thực khuẩn được cho tiếp xúc với kháng nguyên quan tâm. Sau đó, ADN mã hóa scFv có hoạt tính liên kết quan tâm có thể được phân lập bằng cách gom các thể thực khuẩn liên kết với kháng nguyên. Quá trình này có thể được lặp lại nếu cần để làm giàu scFv có hoạt tính liên kết mong muốn.

Sau khi phân lập ADN bổ trợ mã hóa vùng V của kháng thể kháng GPC3 quan tâm, ADN bổ trợ được tiêu hủy bằng enzym giới hạn nhận diện các vị trí giới hạn được đưa vào cả hai đầu của ADN bổ trợ. Enzym giới hạn được ưu tiên nhận biết và phân tách trình tự nucleotit xuất hiện trong trình tự nucleotit của gen kháng thể ở tần suất thấp. Hơn nữa, vị trí giới hạn cho enzym mà tạo ra đầu dính kết tốt hơn là được đưa vào vectơ để cài xen mảnh được tiêu hủy bản sao duy nhất vào theo hướng chính xác. ADN bổ trợ

mã hóa vùng V của kháng thể kháng GPC3 được tiêu hủy như được mô tả trên đây, và ADN này được cài xen vào vectơ biểu hiện thích hợp để xây dựng vectơ biểu hiện kháng thể. Trong trường hợp này, nếu gen mã hóa vùng không đổi kháng thể (vùng C) và gen mã hóa vùng V nêu trên được dung hợp trong khung, thu được kháng thể khảm. Trong bản mô tả, "kháng thể khảm" có nghĩa là gốc của vùng không đổi khác với gốc của vùng biến đổi. Do đó, ngoài kháng thể khảm không đồng nhất chuột nhắt/người, kháng thể dị khảm người/ người cũng được bao gồm trong kháng thể khảm theo sáng chế. Vectơ biểu hiện kháng thể khảm có thể được xây dựng bằng cách cài xen gen vùng V nêu trên vào vectơ biểu hiện đã có vùng không đổi. Cụ thể là, ví dụ, trình tự nhận diện cho enzym giới hạn cắt bỏ gen vùng V nêu trên có thể được đặt một cách thích hợp ở phía đầu 5' của vectơ biểu hiện mang ADN mã hóa vùng không đổi kháng thể mong muốn (vùng C). Vectơ biểu hiện kháng thể khảm được xây dựng bằng cách dung hợp trong khung hai gen được tiêu hủy bằng cùng một tổ hợp của các enzym giới hạn.

Để tạo ra kháng thể đơn dòng kháng GPC3, gen kháng thể được cài xen vào vectơ biểu hiện sao cho gen được biểu hiện dưới sự kiểm soát của vùng điều hòa biểu hiện. Vùng điều hòa biểu hiện để biểu hiện kháng thể bao gồm, ví dụ, gen tăng cường và gen khởi đầu. Hơn nữa, trình tự tín hiệu thích hợp có thể được gắn vào đầu tận cùng amin sao cho kháng thể được biểu hiện được tiết ra bên ngoài các tế bào. Trong các ví dụ tham khảo được mô tả dưới đây, peptit có trình tự axit amin MGWSCIILFLVATATGVHS (SEQ ID NO: 3) được sử dụng làm trình tự tín hiệu. Trong khi đó, trình tự tín hiệu thích hợp khác có thể được gắn. Polypeptit được biểu hiện được phân tách ở đầu tận cùng carboxyl của trình tự nêu trên, và polypeptit thu được được tiết ra bên ngoài các tế bào làm polypeptit trưởng thành. Sau đó, tế bào chủ thích hợp được chuyển nhiễm bằng vectơ biểu hiện, và thu được tế bào tái tổ hợp biểu hiện ADN mã hóa kháng thể kháng GPC3.

ADN mã hóa chuỗi nặng (chuỗi H) và chuỗi nhẹ (chuỗi L) của kháng thể được cài xen vào các vectơ biểu hiện khác nhau một cách riêng rẽ để biểu hiện gen kháng thể. Phân tử kháng thể có chuỗi H và L có thể được biểu hiện bằng cách đồng chuyển nhiễm cùng một tế bào chủ bằng vectơ mà gen chuỗi H và chuỗi L được cài xen vào đó một cách tương ứng. Theo cách khác, tế bào chủ có thể được chuyển nhiễm bằng một vectơ biểu hiện đơn lẻ mà ADN mã hóa chuỗi H và L được cài xen vào đó (xem WO 94/11523).

Có nhiều tổ hợp tế bào chủ/vectơ biểu hiện đã biết khác nhau để tạo ra kháng thể

bằng cách đưa gen kháng thể đã được phân lập vào vật chủ thích hợp. Tất cả các hệ biểu hiện này đều có thể áp dụng được vào quá trình phân lập miền bao gồm vùng biến đổi kháng thể theo sáng chế. Các tế bào nhân chuẩn thích hợp được sử dụng làm tế bào chủ bao gồm tế bào động vật, tế bào thực vật, và tế bào nấm. Cụ thể là, tế bào động vật bao gồm, ví dụ, các tế bào sau đây.

(1) tế bào động vật có vú: tế bào CHO, COS, u tủy, thận chuột lang con (BHK), HeLa, Vero, hoặc tế bào tương tự;

(2) tế bào động vật lưỡng cư: Xenopus oocytes, hoặc tế bào tương tự; và

(3) tế bào côn trùng: sf9, sf21, Tn5, hoặc tế bào tương tự.

Ngoài ra, dưới dạng tế bào thực vật, hệ biểu hiện gen kháng thể sử dụng tế bào có nguồn gốc từ giống *Nicotiana* như *Nicotiana tabacum* là đã biết. Tế bào được nuôi cấy thể chai có thể được sử dụng một cách thích hợp để biến nạp tế bào thực vật.

Hơn nữa, các tế bào sau có thể được sử dụng dưới dạng tế bào nấm:

Nấm men: chi *Saccharomyces* như *Saccharomyces cerevisiae*, và chi *Pichia* như *Pichia pastoris*; và

Nấm sợi: chi *Aspergillus* như *Aspergillus niger*.

Hơn nữa, hệ biểu hiện gen kháng thể sử dụng tế bào nhân sơ cũng đã được biết. Ví dụ, khi sử dụng tế bào vi khuẩn, tế bào *E. coli*, tế bào *Bacillus subtilis*, và tế bào tương tự có thể được sử dụng một cách thích hợp trong sáng chế. Vectơ biểu hiện mang gen kháng thể quan tâm được đưa vào các tế bào này bằng cách chuyển nhiễm. Các tế bào được chuyển nhiễm được nuôi cấy *in vitro*, và kháng thể mong muốn có thể được tạo ra từ quá trình nuôi cấy các tế bào được chuyển nhiễm.

Ngoài các tế bào chủ nêu trên, động vật chuyển gen cũng có thể được sử dụng để tạo ra kháng thể tái tổ hợp. Tức là, kháng thể có thể thu được từ động vật mà gen mã hóa kháng thể quan tâm được đưa vào. Ví dụ, gen kháng thể có thể được xây dựng dưới dạng gen dung hợp bằng cách cài xen trong khung vào gen mã hóa protein được tạo ra theo cách đặc hiệu trong sữa. β-casein dê hoặc dạng tương tự có thể được sử dụng, ví dụ, làm protein được tiết ra trong sữa. Các mảnh ADN chứa gen đã được dung hợp được cài xen vào với gen kháng thể được đưa vào phôi thai dê, và sau đó phôi này được đưa vào dê cái. Các kháng thể mong muốn có thể thu được dưới dạng protein được dung hợp với protein sữa từ sữa được sản sinh bởi dê chuyển gen sinh ra từ dê nhận phôi thai (hoặc thế hệ con của nó). Ngoài ra, để làm tăng thể tích sữa chứa kháng thể mong muốn được

sản sinh bởi dê chuyển gen, các hormon có thể được dùng cho dê chuyển gen nếu cần (Ebert, K. M. *et al.*, Bio/Technology (1994) 12 (7), 699-702).

Khi phân tử liên kết kháng nguyên được mô tả ở đây được dùng cho người, miền có nguồn gốc từ kháng thể tái tổ hợp di truyền mà đã được cải biến theo phương pháp nhân tạo để làm giảm tính kháng nguyên khác loại kháng người và dạng tương tự, có thể được sử dụng một cách thích hợp làm miền chứa phân tử liên kết kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi kháng thể. Kháng thể tái tổ hợp di truyền này bao gồm, ví dụ, kháng thể được làm cho tương thích với người. Các kháng thể được cải biến này được sản xuất một cách thích hợp bằng các phương pháp đã biết.

Vùng biến đổi kháng thể được sử dụng để tạo ra miền của phân tử liên kết kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi kháng thể được mô tả ở đây thường được tạo ra bởi ba vùng quyết định bổ thể (CDR) được tách biệt bởi bốn vùng khung (FR). CDR là vùng mà về cơ bản là xác định tính đặc hiệu liên kết của kháng thể. Trình tự axit amin của CDR có tính đa dạng cao. Mặt khác, trình tự axit amin tạo FR thường có độ đồng nhất cao thậm chí giữa các kháng thể có tính đặc hiệu liên kết khác nhau. Do đó, nhìn chung là, tính đặc hiệu liên kết của kháng thể nhất định có thể được đưa vào một kháng thể khác bằng cách ghép CDR.

Kháng thể được làm cho tương thích với người còn được gọi là kháng thể người được tạo lại hình dạng. Cụ thể là, kháng thể được làm cho tương thích với người được tạo ra bằng cách ghép CDR của kháng thể động vật không phải người như kháng thể chuột nhắt với kháng thể người và dạng tương tự là đã biết. Các kỹ thuật thiết kế di truyền thông thường để thu được kháng thể được làm cho tương thích với người cũng đã biết. Cụ thể là, ví dụ, PCR kéo dài xếp chồng đã được biết là phương pháp ghép CDR của kháng thể chuột nhắt với FR người. Trong PCR kéo dài xếp chồng, trình tự nucleotit mã hóa CDR của kháng thể chuột nhắt cần ghép được thêm vào đoạn mồi dùng để tổng hợp FR của kháng thể người. Các đoạn mồi được chuẩn bị cho mỗi một trong bốn FR. Thường cho rằng, khi ghép CDR chuột nhắt với FR người, việc chọn lọc FR người có độ đồng nhất cao với FR chuột nhắt là có lợi cho việc duy trì chức năng CDR. Tức là, tốt hơn là thường sử dụng FR người chứa trình tự axit amin có độ đồng nhất cao với trình tự axit amin của FR liền kề với CDR của chuột nhắt cần ghép.

Trình tự nucleotit cần nối được thiết kế sao cho chúng được nối với nhau trong

khung. FR của người được tổng hợp riêng rẽ bằng cách sử dụng các đoạn mồi tương ứng. Do đó, thu được các sản phẩm trong đó ADN mã hóa CDR chuột nhắt được gắn vào ADN mã hóa FR riêng rẽ. Trình tự nucleotit mã hóa CDR chuột nhắt của mỗi sản phẩm được thiết kế sao cho chúng xếp chồng lên nhau. Sau đó, phản ứng tổng hợp mạch bổ sung được thực hiện để bắt cặp các vùng CDR xếp chồng của sản phẩm được tổng hợp sử dụng gen kháng thể người làm khuôn. FR của người được nối thông qua trình tự CDR của chuột nhắt nhờ phản ứng này.

Gen vùng V chiều dài đầy đủ, trong đó ba CDR và bốn FR cuối cùng được nối, được khuếch đại bằng cách sử dụng đoạn mồi bắt cặp với đầu 5' hoặc 3' của nó, được bổ sung trình tự nhận diện enzym giới hạn thích hợp. Vectơ biểu hiện dùng cho kháng thể được làm cho tương thích với người có thể được tạo ra bằng cách cài xen ADN thu được như được mô tả trên đây và ADN mã hóa vùng C của kháng thể người vào vectơ biểu hiện sao cho chúng được nối trong khung. Sau khi vectơ tái tổ hợp được chuyển nhiễm vào tế bào chủ để thiết lập tế bào tái tổ hợp, các tế bào tái tổ hợp này được nuôi cấy, và ADN mã hóa kháng thể được làm cho tương thích với người được biểu hiện để tạo ra kháng thể được làm cho tương thích với người trong môi trường nuôi cấy tế bào (xem, công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Châu Âu số EP 239400 và công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế quốc tế số WO 1996/002576).

Bằng cách đo định lượng hoặc định tính và đánh giá hoạt tính liên kết kháng nguyên của kháng thể được làm cho tương thích với người được tạo ra như được mô tả trên đây, có thể chọn lọc một cách thích hợp FR của kháng thể người cho phép CDR tạo ra vị trí liên kết kháng nguyên ưu tiên khi được nối thông qua các CDR. Gốc axit amin trong FR có thể được thay thế nếu cần, sao cho các CDR của kháng thể người được tạo lại hình dạng tạo ra vị trí liên kết kháng nguyên thích hợp. Ví dụ, các đột biến trình tự axit amin có thể được đưa vào FR bằng cách áp dụng phương pháp PCR được sử dụng để ghép CDR của chuột nhắt vào FR của người. Cụ thể hơn, các đột biến trình tự nucleotit một phần có thể được đưa vào các đoạn mồi bắt cặp với FR. Các đột biến trình tự nucleotit được đưa vào FR được tổng hợp bằng cách sử dụng các đoạn mồi như vậy. Trình tự FR đột biến có các đặc tính mong muốn có thể được chọn lọc bằng cách đo và đánh giá hoạt tính của kháng thể đột biến được thay thế axit amin trong việc liên kết với kháng nguyên bằng phương pháp nêu trên (Sato, K. *et al.*, Cancer Res. (1993) 53: 851-856).

Theo cách khác, kháng thể người mong muốn có thể thu được bằng cách gây miễn dịch động vật chuyển gen có toàn bộ danh mục của gen kháng thể người (xem công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 1993/012227; WO 1992/003918; WO 1994/002602; WO 1994/025585; WO 1996/034096; WO 1996/033735) bằng cách gây miễn dịch ADN.

Hơn nữa, các kỹ thuật tạo ra kháng thể người bằng cách kéo dài sử dụng thư viện kháng thể người cũng đã được biết. Ví dụ, vùng V của kháng thể người được biểu hiện dưới dạng kháng thể chuỗi đơn (scFv) trên bề mặt thể thực khuẩn bằng phương pháp biểu hiện thể thực khuẩn. Thể thực khuẩn biểu hiện scFv liên kết với kháng nguyên có thể được chọn lọc. Trình tự ADN mã hóa vùng V của kháng thể người liên kết với kháng nguyên có thể được xác định bằng cách phân tích các gen của thể thực khuẩn được chọn lọc. Trình tự ADN của scFv liên kết với kháng nguyên được xác định. Vectơ biểu hiện có thể được tạo ra bằng cách dung hợp trình tự vùng V trong khung với trình tự vùng C của kháng thể người mong muốn, và chèn dạng này vào vectơ biểu hiện thích hợp. Vectơ biểu hiện được đưa vào tế bào thích hợp để biểu hiện như các tế bào được mô tả trên đây. Kháng thể người có thể được tạo ra bằng cách biểu hiện gen mã hóa kháng thể người trong tế bào. Các phương pháp này đã được biết đến (xem công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 1992/001047; WO 1992/020791; WO 1993/006213; WO 1993/011236; WO 1993/019172; WO 1995/001438; WO 1995/015388).

Miền chứa vùng biến đổi của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 (GPC3)

Trong bản mô tả, cụm từ "miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 (GPC3)" dùng để chỉ phần kháng thể chứa vùng liên kết đặc hiệu với protein GPC3 nêu trên, hoặc tất cả hoặc một phần của một phần peptit của protein GPC3, và cũng bổ sung với nó. Miền chứa vùng biến đổi kháng thể có thể được tạo ra từ miền biến đổi của một hoặc nhiều kháng thể. Tốt hơn là, miền chứa vùng biến đổi kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể (VL và VH). Các ví dụ thích hợp về miền chứa vùng biến đổi kháng thể như vậy bao gồm "Fv chuỗi đơn (scFv)", "kháng thể chuỗi đơn", "Fv", "Fv 2 chuỗi đơn (scFv2)", "Fab", "F(ab')2", v.v.

Miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T

Trong bản mô tả, cụm từ "miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T" dùng để chỉ phần kháng thể liên kết phức hợp thụ thể tế

bào T bao gồm vùng liên kết đặc hiệu với tất cả hoặc một phần của phức hợp thụ thể tế bào T và cũng bổ sung với nó. Phức hợp thụ thể tế bào T có thể là chính bản thân thụ thể tế bào T, hoặc phân tử tương thích cấu thành phức hợp thụ thể tế bào T cùng với thụ thể tế bào T. CD3 thích hợp để làm phân tử tương thích.

Miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết thụ thể tế bào T

Trong bản mô tả, cụm từ "miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết thụ thể tế bào T" dùng để chỉ phần kháng thể liên kết thụ thể tế bào T được tạo ra nhờ bao gồm vùng liên kết đặc hiệu với tất cả hoặc một phần của thụ thể tế bào T và cũng bổ sung với nó.

Phần thụ thể tế bào T mà miền theo sáng chế liên kết với phần đó có thể là vùng biến đổi hoặc vùng không đổi, nhưng epitop có mặt trong vùng không đổi được ưu tiên. Các ví dụ về trình tự vùng không đổi bao gồm chuỗi α của thụ thể tế bào T có số nộp lưu RefSeq CAA26636.1 (SEQ ID NO: 4), chuỗi β của thụ thể tế bào T có số nộp lưu RefSeq C25777 (SEQ ID NO: 5), chuỗi γ1 của thụ thể tế bào T có số nộp lưu RefSeq A26659 (SEQ ID NO: 6), chuỗi γ2 của thụ thể tế bào T có số nộp lưu RefSeq AAB63312.1 (SEQ ID NO: 7), và chuỗi δ của thụ thể tế bào T có số nộp lưu RefSeq AAA61033.1 (SEQ ID NO: 8).

Miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3

Trong bản mô tả, cụm từ "miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3" dùng để chỉ phần kháng thể liên kết CD3 được tạo ra nhờ việc bao gồm vùng liên kết đặc hiệu với tất cả hoặc một phần của CD3 và cũng bổ sung với nó. Tốt hơn là, miền chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng (VL và VH) của kháng thể kháng CD3. Các ví dụ thích hợp về miền này bao gồm "Fv chuỗi đơn (scFv)", "kháng thể chuỗi đơn", "Fv", "Fv chuỗi đơn 2 (scFv2)", "Fab", "F(ab')2", v.v.

Miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 theo sáng chế có thể là miền liên kết epitop bất kỳ miễn là epitop tồn tại trong trình tự chuỗi γ, chuỗi δ, hoặc chuỗi ε cấu thành CD3 của người. Theo sáng chế, tốt hơn là, miền chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể kháng CD3 (VL) và vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể kháng CD3 (VH) mà liên kết với epitop có mặt trong vùng ngoại bào của chuỗi ε của phức hợp CD3 của người được sử dụng một cách thích hợp. Ngoài vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể kháng CD3 (VL) và vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể

kháng CD3 (VH) được mô tả trong các ví dụ tham khảo, các miền liên kết CD3 khác nhau đã biết chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể liên kết CD3 (VL) và vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể liên kết CD3 (VH), và các vùng của kháng thể OKT3 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1980) 77, 4914-4917) được sử dụng một cách thích hợp dưới dạng các miền như vậy. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực có thể sử dụng một cách thích hợp miền chứa vùng biến đổi kháng thể có nguồn gốc từ kháng thể kháng CD3 có các tính chất mong muốn, thu được bằng cách gây miễn dịch động vật mong muốn bằng phương pháp nêu trên sử dụng chuỗi γ, chuỗi δ, hoặc chuỗi ε cấu thành CD3 của người. Kháng thể người và kháng thể được làm cho tương thích với người thích hợp như được mô tả trên đây có thể được sử dụng một cách thích hợp để làm kháng thể kháng CD3 để cho miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 gia tăng. Đối với cấu trúc của chuỗi γ, chuỗi δ, hoặc chuỗi ε cấu thành CD3, các trình tự polynucleotit của chúng được thể hiện trong SEQ ID NO: 9 (NM_000073.2), 10 (NM_000732.4), và 11 (NM_000733.3), và trình tự polypeptit của chúng được thể hiện trong SEQ ID NO: 12 (NP_000064.1), 13 (NP_000723.1), và 14 (NP_000724.1) (số nộp lưu RefSeq được thể hiện trong dấu ngoặc đơn).

Miền chứa vùng biến đổi kháng thể trong phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế có thể liên kết với cùng một epitop. Trong bản mô tả, cùng một epitop này có thể có mặt trong protein chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 2 hoặc 14. Theo một cách khác, miền chứa vùng biến đổi kháng thể trong phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế có thể liên kết với các epitop khác nhau, một cách tương ứng. Trong bản mô tả, các epitop khác nhau có thể có mặt trong protein chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 2 hoặc 14.

Đặc hiệu

Thuật ngữ "đặc hiệu" có nghĩa là một trong các phân tử tham gia vào liên kết đặc hiệu không thể hiện sự liên kết đáng kể bất kỳ với phân tử khác ngoài một hoặc một số phân tử đối tác liên kết. Hơn nữa, thuật ngữ này cũng được sử dụng khi miền chứa vùng biến đổi kháng thể đặc hiệu đối với epitop cụ thể trong số nhiều epitop trong kháng nguyên. Khi epitop được liên kết bởi miền chứa vùng biến đổi kháng thể được bao gồm trong một số kháng nguyên khác nhau, phân tử liên kết kháng nguyên chứa miền chứa vùng biến đổi kháng thể có thể liên kết với các kháng nguyên khác nhau có epitop này.

Epitop

"Epitop" có nghĩa là yếu tố quyết định tính kháng nguyên trong kháng nguyên, và dùng để chỉ vị trí kháng nguyên mà miền của phân tử liên kết kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả liên kết vào vị trí đó. Do đó, ví dụ, epitop có thể được định nghĩa theo cấu trúc của nó. Theo một cách khác, epitop có thể được định nghĩa theo hoạt tính liên kết kháng nguyên của phân tử liên kết kháng nguyên nhận diện epitop. Khi kháng nguyên là peptit hoặc polypeptit, epitop có thể được chỉ rõ bởi gốc axit amin tạo epitop. Theo một cách khác, khi epitop là chuỗi đường, epitop có thể được chỉ rõ bởi cấu trúc chuỗi đường cụ thể của nó.

Epitop thẳng là epitop chứa epitop có trình tự axit amin bậc một được nhận diện. Epitop thẳng này thường chứa ít nhất ba và thông thường nhất là ít nhất năm, ví dụ, khoảng 8 đến 10 hoặc 6 đến 20 axit amin trong trình tự cụ thể của nó.

Trái ngược với epitop thẳng, "epitop cấu trúc" là epitop trong đó trình tự axit amin bậc một chứa epitop không phải là yếu tố quyết định duy nhất của epitop được nhận diện (ví dụ, trình tự axit amin bậc một của epitop cấu trúc không cần thiết được nhận biết bởi kháng thể xác định epitop). Epitop cấu trúc có thể chứa số lượng axit amin lớn hơn so với epitop thẳng. Kháng thể nhận diện epitop cấu trúc nhận diện cấu trúc ba chiều của peptit hoặc protein. Ví dụ, khi phân tử protein gập và tạo ra cấu trúc ba chiều, axit amin và/hoặc mạch chính polypeptit tạo ra epitop cấu trúc trở thành thẳng hàng, và epitop được tạo ra nhận biết được bởi kháng thể. Phương pháp xác định hình dạng epitop bao gồm, ví dụ, tinh thể tia X, cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều, đánh dấu xoay đặc hiệu vị trí, và cộng hưởng thuận từ, nhưng không chỉ giới hạn ở đó. Xem, ví dụ, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology (1996), Vol. 66, Morris (ed.).

Phương pháp xác nhận sự liên kết với epitop bằng phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm bao gồm miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết GPC3 được lấy làm ví dụ dưới đây, và phương pháp xác nhận sự liên kết với epitop bằng phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm bao gồm miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T cũng có thể được thực hiện một cách thích hợp theo ví dụ dưới đây.

Ví dụ, việc nhận diện epitop thẳng có mặt trong phân tử GPC3 bằng phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm bao gồm miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính

liên kết GPC3 có thể được xác nhận dưới đây. Peptit mạch thẳng bao gồm trình tự axit amin cấu thành miền ngoại bào của GPC3 được tổng hợp cho mục đích nêu trên. Peptit có thể được tổng hợp theo phương pháp hóa học. Theo một cách khác, nó có thể thu được bằng phương pháp thiết kế di truyền bằng cách sử dụng vùng trong ADN bổ trợ của GPC3 mã hóa trình tự axit amin tương ứng với miền ngoại bào. Tiếp theo, hoạt tính liên kết giữa peptit thẳng bao gồm trình tự axit amin cấu thành miền ngoại bào và phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm bao gồm miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết GPC3 được đánh giá. Ví dụ, ELISA sử dụng peptit mạch thẳng được cố định làm kháng nguyên có thể đánh giá hoạt tính liên kết của phân tử liên kết kháng nguyên đối với peptit. Theo một cách khác, hoạt tính liên kết đối với peptit mạch thẳng có thể được giải thích dựa trên mức độ ức chế do peptit mạch thẳng gây ra trong khi phân tử liên kết kháng nguyên liên kết với tế bào biểu hiện GPC3. Các thử nghiệm này có thể giải thích hoạt tính liên kết của phân tử liên kết kháng nguyên đối với peptit mạch thẳng.

Hơn nữa, việc nhận diện cấu trúc ba chiều của epitop bằng phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm bao gồm miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết GPC3 có thể được xác nhận dưới đây. Tế bào biểu hiện GPC3 được tạo ra nhằm mục đích nêu trên. Ví dụ, khi phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm bao gồm miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết GPC3 tiếp xúc với tế bào biểu hiện GPC3, nó liên kết chặt với tế bào, nhưng mặt khác, có các trường hợp khi phân tử liên kết kháng nguyên hầu như không liên kết với peptit mạch thẳng đã cố định bao gồm trình tự axit amin cấu thành miền ngoại bào của GPC3. Trong các trường hợp này, "hầu như không liên kết" dùng để chỉ hoạt tính liên kết bằng 80% hoặc thấp hơn, thường bằng 50% hoặc thấp hơn, tốt hơn là 30% hoặc thấp hơn, và đặc biệt tốt hơn là 15% hoặc thấp hơn so với hoạt tính liên kết đối với tế bào biểu hiện GPC3 của người.

Phương pháp thử nghiệm hoạt tính liên kết của phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm chứa miền liên kết kháng nguyên GPC3 đối với tế bào biểu hiện GPC3 bao gồm, ví dụ, phương pháp được mô tả trong Antibodies: A Laboratory Manual (Ed Harlow, David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory (1988) 359-420). Cụ thể là, việc đánh giá có thể được thực hiện dựa trên nguyên tắc của ELISA hoặc phân loại tế bào hoạt hóa bằng huỳnh quang (FACS) sử dụng tế bào biểu hiện GPC3 làm kháng nguyên.

Trong dạng ELISA, hoạt tính liên kết của phân tử liên kết kháng nguyên thử

nghiệm chứa miền liên kết kháng nguyên GPC3 đối với tế bào biểu hiện GPC3 có thể được đánh giá theo phương pháp định lượng bằng cách so sánh mức tín hiệu được tạo ra nhờ phản ứng enzym hóa. Cụ thể là, phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm được bổ sung vào đĩa ELISA mà tế bào biểu hiện GPC3 được cố định trên đó. Sau đó, phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm liên kết với tế bào được phát hiện bằng cách sử dụng kháng thể đánh dấu bằng enzym mà nhận diện phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm. Theo một cách khác, khi FACS được sử dụng, dãy pha loãng của phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm được điều chế, và độ chuẩn liên kết kháng thể đối với tế bào biểu hiện GPC3 có thể được xác định để so sánh hoạt tính liên kết của phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm với tế bào biểu hiện GPC3.

Việc liên kết của phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm với kháng nguyên được biểu hiện trên bề mặt của tế bào được tạo huyền phù trong dung dịch đệm hoặc dạng tương tự có thể được phát hiện bằng cách sử dụng thiết bị đếm tế bào theo dòng chảy. Thiết bị đếm tế bào theo dòng chảy đã biết bao gồm, ví dụ, các thiết bị sau:

FACSCanto™ II

FACSAria™

FACSArray™

FACSVantage™ SE

FACSCalibur™ (tất cả là tên thương mại của BD Biosciences)

EPICS ALTRA HyPerSort

Cytomics FC 500

EPICS XL-MCL ADC EPICS XL ADC

Cell Lab Quanta/Cell Lab Quanta SC (tất cả là tên thương mại của Beckman Coulter)

Phương pháp được ưu tiên để thử nghiệm hoạt tính liên kết của phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm chứa miền liên kết kháng nguyên GPC3 với kháng nguyên bao gồm, ví dụ, phương pháp sau. Trước tiên, tế bào biểu hiện GPC3 được cho phản ứng với phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm, và sau đó hỗn hợp phản ứng được nhuộm màu bằng kháng thể thứ cấp đánh dấu FITC mà nhận diện phức hợp polypeptit. Phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm được pha loãng theo tỷ lệ thích hợp với dung dịch

đệm thích hợp để thu được phức hợp ở nồng độ mong muốn. Ví dụ, phức hợp có thể được sử dụng ở nồng độ nằm trong khoảng từ 10µg/ml đến 10ng/ml. Sau đó, cường độ huỳnh quang và số lượng tế bào được xác định bằng cách sử dụng FACSCalibur (BD). Cường độ huỳnh quang thu được bằng cách phân tích sử dụng phần mềm CELL QUEST (BD), tức là, giá trị trung bình hình học, phản ánh số lượng kháng thể liên kết với tế bào. Tức là, hoạt tính liên kết của phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm, được tượng trưng bởi số lượng phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm liên kết, có thể được xác định bằng cách xác định giá trị trung bình hình học.

Việc phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm chứa miền liên kết kháng nguyên GPC3 có chia sẻ epitop chung với một phân tử liên kết kháng nguyên khác hay không có thể được đánh giá dựa trên sự cạnh tranh giữa hai phức hợp đối với cùng một epitop. Sự cạnh tranh giữa các phân tử liên kết kháng nguyên có thể được phát hiện bằng thử nghiệm phong bế chéo hoặc thử nghiệm tương tự. Ví dụ, thử nghiệm ELISA cạnh tranh là thử nghiệm phong bế chéo được ưu tiên.

Cụ thể, trong thử nghiệm phong bế chéo, protein GPC3 được cố định vào các lỗ của đĩa vi chuẩn được ủ sơ bộ khi có mặt hoặc không có mặt phân tử liên kết kháng nguyên cạnh tranh ứng viên, và sau đó phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm được bổ sung vào đó. Số lượng phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm liên kết với protein GPC3 trong các lỗ tương quan gián tiếp với khả năng liên kết của phân tử liên kết kháng nguyên cạnh tranh ứng viên cạnh tranh để liên kết với cùng một epitop. Tức là, ái lực của phân tử liên kết kháng nguyên cạnh tranh đối với cùng một epitop càng lớn, thì hoạt tính liên kết của phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm với các lỗ được phủ protein GPC3 càng nhỏ.

Số lượng phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm liên kết với các lỗ thông qua protein GPC3 có thể dễ dàng được xác định bằng cách đánh dấu phân tử liên kết kháng nguyên từ trước. Ví dụ, phân tử liên kết kháng nguyên được đánh dấu biotin được đo bằng cách sử dụng thể liên hợp avidin/peroxidaza và cơ chất thích hợp. Cụ thể là, thử nghiệm phong bế chéo sử dụng nhãn đánh dấu enzym như peroxidaza được gọi là "thử nghiệm ELISA cạnh tranh". Phân tử liên kết kháng nguyên cũng có thể được đánh dấu bằng các chất đánh dấu khác mà có thể phát hiện hoặc đo. Cụ thể là, nhãn đánh dấu phóng xạ, nhãn đánh dấu huỳnh quang, và dạng như vậy là đã biết.

Khi phân tử liên kết kháng nguyên cạnh tranh ứng viên có thể chặn sự liên kết bằng phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm chứa miền liên kết kháng nguyên GPC3 ít nhất 20%, tốt hơn là ít nhất 20 đến 50%, và tốt hơn nữa là ít nhất 50% so với hoạt tính liên kết trong thử nghiệm đối chứng được thực hiện khi không có phân tử liên kết kháng nguyên cạnh tranh, phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm được xác định là hầu như liên kết với cùng một epitop liên kết bởi phân tử liên kết kháng nguyên cạnh tranh, hoặc cạnh tranh để liên kết với cùng một epitop.

Khi cấu trúc của epitop liên kết bởi phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm chứa miền liên kết kháng nguyên GPC3 đã được nhận biết, việc liệu phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm và đối chứng có chia sẻ epitop chung hay không có thể được đánh giá bằng cách so sánh hoạt tính liên kết của hai phân tử liên kết kháng nguyên đối với peptit được điều chế bằng cách đưa đột biến axit amin vào peptit tạo epitop.

Để đo hoạt tính liên kết nêu trên, ví dụ, hoạt tính liên kết của phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm và đối chứng đối với peptit mạch thẳng mà đột biến được đưa vào được so sánh trong mô hình ELISA nêu trên. Ngoài phương pháp ELISA, hoạt tính liên kết đối với peptit đột biến liên kết với cột có thể được xác định bằng cách cho phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm và đối chứng chảy trong cột, và sau đó định lượng phân tử liên kết kháng nguyên được rửa giải trong dung dịch rửa giải. Phương pháp hấp phụ peptit đột biến vào cột, ví dụ, dưới dạng peptit dung hợp GST, là đã biết.

Theo một cách khác, khi epitop được nhận biết là epitop cấu trúc, liệu phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm và đối chứng có chia sẻ epitop chung hay không có thể được đánh giá bằng phương pháp sau. Trước tiên, tế bào biểu hiện GPC3 và tế bào biểu hiện GPC3 có đột biến được đưa vào epitop được tạo ra. Phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm và đối chứng được bổ sung vào huyền phù tế bào được tạo ra bằng cách tạo huyền phù các tế bào này trong dung dịch đệm thích hợp như PBS. Sau đó, huyền phù tế bào được rửa một cách thích hợp bằng dung dịch đệm, và kháng thể được đánh dấu FITC nhận diện phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm và đối chứng được bổ sung vào đó. Cường độ huỳnh quang và số lượng tế bào được nhuộm màu bằng kháng thể được đánh dấu được xác định bằng cách sử dụng FACSCalibur (BD). Phức hợp polypeptit thử nghiệm và đối chứng được pha loãng theo tỷ lệ thích hợp bằng cách sử dụng dung dịch đệm thích hợp, và được sử dụng ở nồng độ mong muốn. Ví dụ, chúng có thể được sử dụng ở nồng độ nằm trong khoảng từ 10µg/ml đến 10ng/ml. Cường độ

huỳnh quang được xác định bằng cách phân tích sử dụng phần mềm CELL QUEST (BD), tức là, giá trị trung bình hình học (Geo-Mean), phản ánh số lượng kháng thể được đánh dấu liên kết với tế bào. Tức là, hoạt tính liên kết của phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm và đối chứng, được tượng trưng bởi số lượng kháng thể được đánh dấu liên kết, có thể được xác định bằng cách xác định giá trị trung bình hình học.

Trong phương pháp trên đây, liệu phân tử liên kết kháng nguyên "hầu như không liên kết với tế bào biểu hiện GPC3 đột biến" hay không có thể được đánh giá, ví dụ, bằng phương pháp sau. Trước tiên, phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm và đối chứng liên kết với tế bào biểu hiện GPC3 đột biến được nhuộm màu bằng kháng thể được đánh dấu. Sau đó, cường độ huỳnh quang của tế bào được xác định. Khi FACSCalibur được sử dụng để phát hiện huỳnh quang bằng cách đếm tế bào theo dòng chảy, cường độ huỳnh quang được xác định có thể được phân tích bằng cách sử dụng phần mềm CELL QUEST. Từ giá trị trung bình hình học khi có và không có phân tử liên kết kháng nguyên, giá trị so sánh (ΔGeo-Mean) có thể được tính theo công thức sau để xác định tỷ lệ giữa mức độ tăng cường độ huỳnh quang do liên kết bởi phân tử liên kết kháng nguyên.

ΔGeo-Mean = Geo-Mean (khi có mặt phân tử liên kết kháng nguyên)/Geo-Mean (khi không có mặt phân tử liên kết kháng nguyên)

Giá trị so sánh trung bình hình học (giá trị ΔGeo-Mean cho phân tử GPC3 đột biến) được xác định bằng kỹ thuật phân tích nêu trên, phản ánh số lượng phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm liên kết với tế bào biểu hiện GPC3 đột biến, so với giá trị so sánh ΔGeo-Mean phản ánh số lượng phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm liên kết với tế bào biểu hiện GPC3. Trong trường hợp này, nồng độ của phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm được sử dụng để xác định giá trị so sánh ΔGeo-Mean cho tế bào biểu hiện GPC3 và tế bào biểu hiện GPC3 đột biến đặc biệt tốt hơn là được điều chỉnh để bằng hoặc gần như bằng nhau. Phân tử liên kết kháng nguyên được xác nhận là nhận diện epitop trong GPC3 được sử dụng làm phân tử liên kết kháng nguyên đối chứng.

Nếu giá trị so sánh ΔGeo-Mean của phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm cho tế bào biểu hiện GPC3 đột biến nhỏ hơn so với giá trị so sánh ΔGeo-Mean của phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm cho tế bào biểu hiện GPC3 ít nhất 80%, tốt hơn là

50%, tốt hơn nữa là 30%, và đặc biệt tốt hơn là 15%, thì phức hợp polypeptit thử nghiệm "hầu như không liên kết với tế bào biểu hiện GPC3 đột biến". Công thức xác định giá trị Geo-Mean (trung bình hình học) được mô tả trong hướng dẫn sử dụng phần mềm CELL QUEST (BD biosciences). Khi so sánh cho thấy rằng, các giá trị so sánh hầu như tương tự, epitop cho phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm và đối chứng có thể được xác định là cùng một epitop.

Mảnh biến đổi (Fv)

Trong bản mô tả, thuật ngữ "mảnh biến đổi (Fv)" dùng để chỉ đơn vị nhỏ nhất của miền liên kết kháng nguyên có nguồn gốc từ kháng thể gồm cặp vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể (VL) và vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể (VH). Vào năm 1988, Skerra và Pluckthun đã phát hiện ra rằng kháng thể đồng nhất và kháng thể hoạt tính có thể được tạo ra từ đoạn chất bao *E. coli* bằng cách cài xen dòng xuôi gen kháng thể của trình tự tín hiệu vi khuẩn vào và cảm ứng sự biểu hiện của gen trong *E. coli* (Science (1988) 240(4855), 1038-1041). Trong Fv được tạo ra từ đoạn chất bao, VH kết hợp với VL theo cách để liên kết với kháng nguyên.

Trong bản mô tả, Fv tốt hơn là bao gồm, ví dụ, cặp Fv là phân tử liên kết kháng nguyên hoặc dạng phân tử như vậy bao gồm:

(1) miền liên kết kháng nguyên hóa trị hai là scFv hóa trị hai, trong đó một scFv hóa trị một của scFv hóa trị hai liên kết với một polypeptit tạo ra miền Fc bằng mảnh Fv của chuỗi nặng tạo ra miền liên kết CD3, và scFv hóa trị một còn lại liên kết với polypeptit còn lại tạo ra miền Fc bằng mảnh Fv của chuỗi nhẹ tạo ra miền liên kết CD3;

(2) miền bao gồm miền Fc không có hoạt tính liên kết thụ thể Fcγ, và có nguồn gốc từ axit amin tạo ra miền Fc của IgG1, IgG2a, IgG3, hoặc IgG4; và

(3) ít nhất miền liên kết CD3 hóa trị một,
trong đó mảnh Fv của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng kết hợp để tạo ra miền liên kết CD3 sao cho nó có thể liên kết với kháng nguyên CD3.

scFv, kháng thể chuỗi đơn, và sc(Fv)2

Trong bản mô tả, tất cả các thuật ngữ "scFv", "kháng thể chuỗi đơn", và "sc(Fv)2" đều dùng để chỉ mảnh kháng thể của chuỗi polypeptit đơn chứa vùng biến đổi có nguồn gốc từ chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, nhưng ko phải vùng không đổi. Nhìn chung, kháng thể chuỗi đơn cũng chứa thành phần liên kết polypeptit giữa miền VH và VL, có thể tạo ra

cấu trúc mong muốn mà được cho là cho phép liên kết kháng nguyên. Kháng thể chuỗi đơn được mô tả chi tiết bởi Pluckthun trong "The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, Vol. 113, Rosenburg and Moore, eds., Springer-Verlag, New York, 269-315 (1994)". Xem cả trong công bố đơn quốc tế số WO 1988/001649; Patent Mỹ số 4,946,778 và 5,260,203. Theo một phương án cụ thể, kháng thể chuỗi đơn có thể là đặc hiệu kép và/hoặc được làm cho tương thích với người.

scFv là miền liên kết kháng nguyên trong đó VH và VL tạo ra Fv được liên kết với nhau bởi thành phần liên kết peptit (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1988) 85(16), 5879-5883). VH và VL có thể được giữ lại ở vị trí lân cận bởi thành phần liên kết peptit.

sc(Fv)2 là kháng thể chuỗi đơn trong đó bốn vùng biến đổi của hai VL và hai VH được liên kết bởi thành phần liên kết như thành phần liên kết peptit để tạo ra chuỗi đơn (J Immunol. Methods (1999) 231(1-2), 177-189). Hai VH và hai VL có thể có nguồn gốc từ các kháng thể đơn dòng khác nhau. sc(Fv)2 này tốt hơn là bao gồm, ví dụ, sc(Fv)2 đặc hiệu kép nhận diện hai epitop có mặt trong kháng nguyên đơn lẻ như được bộc lộ trong Journal of Immunology (1994) 152(11), 5368-5374. sc(Fv)2 có thể được tạo ra bằng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Ví dụ, sc(Fv)2 có thể được tạo ra bằng cách liên kết scFv bằng thành phần liên kết như thành phần liên kết peptit.

Trong bản mô tả, dạng miền liên kết kháng nguyên tạo ra sc(Fv)2 bao gồm kháng thể trong đó hai đơn vị VH và hai đơn vị VL được sắp xếp theo thứ tự là VH, VL, VH, và VL ([VH]-thành phần liên kết-[VL]-thành phần liên kết-[VH]-thành phần liên kết-[VL]) bắt đầu từ đầu tận cùng N của polypeptit chuỗi đơn. Thứ tự của hai đơn vị VH và hai đơn vị VL không bị giới hạn ở dạng nêu trên, và chúng có thể được sắp xếp theo thứ tự bất kỳ. Ví dụ về thứ tự của dạng này được liệt kê dưới đây.

[VL]-thành phần liên kết-[VH]-thành phần liên kết-[VH]-thành phần liên kết-[VL]
[VH]-thành phần liên kết-[VL]-thành phần liên kết-[VL]-thành phần liên kết-[VH]
[VH]-thành phần liên kết-[VH]-thành phần liên kết-[VL]-thành phần liên kết-[VL]
[VL]-thành phần liên kết-[VL]-thành phần liên kết-[VH]-thành phần liên kết-[VH]
[VL]-thành phần liên kết-[VH]-thành phần liên kết-[VL]-thành phần liên kết-[VH]

Dạng phân tử của sc(Fv)2 cũng được mô tả chi tiết trong WO 2006/132352. Theo các phần mô tả này, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể chuẩn bị

một cách thích hợp sc(Fv)2 mong muốn để tạo ra phân tử liên kết kháng nguyên được bộc lộ ở đây.

Hơn nữa, phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế có thể được tiếp hợp với polyme mang như PEG hoặc hợp chất hữu cơ như chất chống ung thư. Theo một cách khác, trình tự thêm chuỗi đường tốt hơn là được cài xen vào phức hợp polypeptit sao cho chuỗi đường có được tác dụng mong muốn.

Thành phần liên kết được sử dụng để liên kết các vùng biến đổi của kháng thể bao gồm thành phần liên kết peptit tùy ý mà có thể được đưa vào bằng kỹ thuật di truyền, và thành phần liên kết tổng hợp được bộc lộ trong, ví dụ, Protein Engineering, 9(3), 299-305, 1996. Tuy nhiên, thành phần liên kết peptit được ưu tiên trong sáng chế. Độ dài của thành phần liên kết peptit không bị giới hạn cụ thể, và có thể chọn lọc một cách thích hợp bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này theo mục đích này. Độ dài này tốt hơn là năm axit amin hoặc nhiều hơn (không có giới hạn cụ thể, cận trên thường là 30 axit amin hoặc ít hơn, tốt hơn là 20 axit amin hoặc ít hơn), và đặc biệt tốt hơn là 15 axit amin. Khi sc(Fv)2 chứa ba thành phần liên kết peptit, độ dài của chúng có thể là giống nhau hoặc khác nhau.

Ví dụ, các thành phần liên kết peptit như vậy bao gồm:

Ser

Gly·Ser

Gly·Gly·Ser

Ser·Gly·Gly

Gly·Gly·Gly·Ser (SEQ ID NO: 15)

Ser·Gly·Gly·Gly (SEQ ID NO: 16)

Gly·Gly·Gly·Gly·Ser (SEQ ID NO: 17)

Ser·Gly·Gly·Gly·Gly (SEQ ID NO: 18)

Gly·Gly·Gly·Gly·Gly·Ser (SEQ ID NO: 19)

Ser·Gly·Gly·Gly·Gly·Gly (SEQ ID NO: 20)

Gly·Gly·Gly·Gly·Gly·Gly·Ser (SEQ ID NO: 21)

Ser·Gly·Gly·Gly·Gly·Gly·Gly (SEQ ID NO: 22)

(Gly·Gly·Gly·Gly·Ser (SEQ ID NO: 17))n

(Ser·Gly·Gly·Gly·Gly (SEQ ID NO: 18))n

trong đó n là số nguyên lớn hơn hoặc bằng 1. Độ dài hoặc trình tự của thành phần liên kết peptit có thể được chọn lọc theo đó bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này phụ thuộc vào mục đích.

Thành phần liên kết tổng hợp (chất liên kết ngang hóa học) thường được sử dụng để liên kết ngang các peptit, và ví dụ:

N-hydroxy suxinimit (NHS),

disuxinimidyl suberat (DSS),

bis(sulfosuxinimidyl) suberat (BS^3),

dithiobis(suxinimidyl propionat) (DSP),

dithiobis(sulfosuxinimidyl propionat) (DTSSP),

etylen glycol bis(suxinimidyl suxinat) (EGS),

etylen glycol bis(sulfosuxinimidyl suxinat) (sulfo-EGS),

disucxinimidyl tartrat (DST), disulfosuxinimidyl tartrat (sulfo-DST),

bis[2-(suxinimidoxycarbonyloxy)etyl] sulfon (BSOCOES),

và bis[2-(sulfosuxinimidoxycarbonyloxy)etyl] sulfon (sulfo-BSOCOES). Các thành phần liên kết ngang này có bán trên thị trường.

Nhìn chung, cần phải có ba thành phần liên kết để liên kết bốn vùng biến đổi kháng thể với nhau. Các thành phần liên kết được sử dụng có thể là cùng một kiểu hoặc các kiểu khác nhau.

Fab, F(ab')2, và Fab'

"Fab" gồm có một chuỗi nhẹ, và miền CH1 và vùng biến đổi từ một chuỗi nặng. Chuỗi nặng của phân tử Fab không thể tạo ra liên kết disulfua với một phân tử chuỗi nặng khác.

"F(ab')2" hoặc "Fab" được tạo ra bằng cách xử lý globulin miễn dịch (kháng thể đơn dòng) bằng proteaza như pepsin và papain, và dùng để chỉ mảnh kháng thể được tạo ra bằng cách tiêu hủy globulin miễn dịch (kháng thể đơn dòng) ở gần liên kết disulfua có mặt giữa các vùng bản lề trong mỗi một trong hai chuỗi H. Ví dụ, papain phân tách dòng ngược IgG của liên kết disulfua có mặt giữa các vùng bản lề trong mỗi một trong hai chuỗi H để tạo ra hai mảnh kháng thể đồng nhất, trong đó chuỗi L bao gồm VL (vùng

biến đổi chuỗi L) và CL (vùng không đổi chuỗi L) được liên kết với mảnh chuỗi H bao gồm VH (vùng biến đổi chuỗi H) và CHγ1 (vùng γ1 trong vùng không đổi chuỗi H) thông qua liên kết disulfua ở vùng đầu tận cùng C của chúng. Mỗi một trong hai mảnh kháng thể đồng nhất này được gọi là Fab'.

"F(ab')2" gồm có hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi nặng bao gồm vùng không đổi của miền CH1 và một phần của miền CH2 sao cho liên kết disulfua được tạo ra giữa hai chuỗi nặng. F(ab')2 tạo ra phân tử liên kết kháng nguyên được bộc lộ trong bản mô tả có thể được ưu tiên tạo ra như sau. Toàn bộ kháng thể đơn dòng hoặc kháng thể như vậy bao gồm miền liên kết kháng nguyên mong muốn được tiêu hủy một phần bằng proteaza như pepsin; và mảnh Fc được loại bỏ bằng cách hấp phụ lên trên cột Protein A. Proteaza không bị giới hạn cụ thể, miễn là nó có thể phân tách toàn bộ kháng thể nguyên vẹn theo cách chọn lọc để tạo ra F(ab')2 trong điều kiện phản ứng enzym thiết lập thích hợp như pH. Các proteaza như vậy bao gồm, ví dụ, pepsin và fixin.

Miền Fc

Miền Fc tạo ra phân tử liên kết kháng nguyên được bộc lộ trong bản mô tả có thể được ưu tiên sản xuất theo cách sau. Kháng thể như kháng thể đơn dòng được tiêu hủy một phần bằng proteaza như pepsin. Sau đó, mảnh thu được được hấp phụ lên trên cột protein A hoặc protein G, và rửa giải bằng dung dịch đệm rửa giải thích hợp. Proteaza không bị giới hạn cụ thể, miễn là nó có thể phân tách kháng thể như kháng thể đơn dòng trong điều kiện phản ứng enzym thiết lập thích hợp như pH. Các proteaza như vậy bao gồm, ví dụ, pepsin và fixin.

Phân tử liên kết kháng nguyên được mô tả ở đây bao gồm miền Fc có hoạt tính liên kết thụ thể Fcγ giảm, bao gồm các axit amin tạo ra miền Fc của IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4.

Isotyp của kháng thể được xác định theo cấu trúc của vùng không đổi. Vùng không đổi của isotyp IgG1, IgG2, IgG3, và IgG4 được gọi là Cγ1, Cγ2, Cγ3, và Cγ4, một cách tương ứng. Trình tự axit amin của polypeptit của miền Fc tạo ra Cγ1, Cγ2, Cγ3, và Cγ4 của người được lấy làm ví dụ trong SEQ ID NO: 23, 24, 25, và 26, theo thứ tự. Mối liên hệ giữa các gốc axit amin tạo ra mỗi trình tự axit amin và việc đánh số theo EU của Kabat (trong bản mô tả còn được gọi là EU INDEX) được thể hiện trên Fig.23.

Miền Fc dùng để chỉ vùng ngoài F(ab')2 bao gồm hai chuỗi nhẹ và hai chuỗi

nặng bao gồm một phần của vùng không đổi bao gồm miền CH1 và vùng giữa miền CH1 và miền CH2 sao cho liên kết disulfua được tạo ra giữa hai chuỗi nặng. Miền Fc tạo ra phân tử liên kết kháng nguyên được bộc lộ trong bản mô tả có thể được ưu tiên sản xuất như sau. Kháng thể đơn dòng IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4 hoặc kháng thể tương tự được tiêu hủy một phần bằng proteaza như pepsin, sau đó rửa giải đoạn được hấp phụ lên trên cột protein A. Proteaza không bị giới hạn cụ thể, miễn là nó có thể phân tách toàn bộ kháng thể nguyên vẹn theo cách chọn lọc để tạo ra F(ab')2 trong điều kiện phản ứng enzym thiết lập thích hợp như pH. Các proteaza như vậy bao gồm, ví dụ, pepsin và fixin.

Thụ thể Fcγ

Thụ thể Fcγ dùng để chỉ thụ thể có khả năng liên kết với miền Fc của kháng thể đơn dòng IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4, và bao gồm tất cả các thành viên thuộc họ protein hầu như được mã hóa bởi gen thụ thể Fcγ. Ở người, họ này bao gồm FcγRI (CD64) bao gồm các dạng đồng phân FcγRIa, FcγRIb và FcγRIc; FcγRII (CD32) bao gồm dạng đồng phân FcγRIIa (bao gồm alotyp H131 và R131), FcγRIIb (bao gồm FcγRIIb-1 và FcγRIIb-2), và FcγRIIc; và FcγRIII (CD16) bao gồm dạng đồng phân FcγRIIIa (bao gồm alotyp V158 và F158) và FcγRIIIb (bao gồm alotyp FcγRIIIb-NA1 và FcγRIIIb-NA2); cũng như tất cả các FcγR, dạng đồng phân FcγR của người chưa được nhận diện, và các alotyp của chúng. Tuy nhiên, thụ thể Fcγ không bị giới hạn ở các ví dụ này. Không chỉ giới hạn ở đó, FcγR bao gồm các thụ thể có nguồn gốc từ người, chuột nhắt, chuột cống, thỏ, và khỉ. FcγR có thể có nguồn gốc từ sinh vật bất kỳ. FcγR chuột nhắt bao gồm, không chỉ giới hạn ở, FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), FcγRIII (CD16), và FcγRIII-2 (CD16-2), cũng như tất cả các FcγR, dạng đồng phân FcγR của chuột nhắt chưa được nhận diện, và các alotyp của chúng. Các thụ thể Fcγ được ưu tiên như vậy bao gồm, ví dụ, FcγRI (CD64), FcγRIIA (CD32), FcγRIIB (CD32), FcγRIIIA (CD16), và/hoặc FcγRIIIB (CD16) của người. Trình tự polynucleotit và trình tự axit amin của FcγRI được thể hiện trong SEQ ID NO: 27 (NM_000566.3) và 28 (NP_000557.1), một cách tương ứng; trình tự polynucleotit và trình tự axit amin của FcγRIIA được thể hiện trong SEQ ID NO: 29 (BC020823.1) và 30 (AAH20823.1), một cách tương ứng; trình tự polynucleotit và trình tự axit amin của FcγRIIB được thể hiện trong SEQ ID NO: 31 (BC146678.1) và 32 (AAI46679.1), một cách tương ứng; trình tự polynucleotit và trình tự axit amin của FcγRIIIA được thể hiện trong SEQ ID NO: 33

(BC033678.1) và 34 (AAH33678.1), một cách tương ứng; và trình tự polynucleotit và trình tự axit amin của FcγRIIIB được thể hiện trong SEQ ID NO: 35 (BC128562.1) và 36 (AAI28563.1), một cách tương ứng (Số nộp lưu RefSeq được thể hiện trong từng dấu ngoặc đơn). Việc liệu rằng thụ thể Fcγ có hoạt tính liên kết với miền Fc của kháng thể đơn dòng IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4 hay không có thể được đánh giá bằng cách sàng lọc ALPHA (thử nghiệm đồng nhất lân cận phát quang khuếch đại - Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay), phương pháp BIACORE dựa trên cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR), và các phương pháp khác (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2006) 103(11), 4005-4010), ngoài mô hình FACS và ELISA nêu trên.

Trong khi đó, "phối tử Fc" hoặc "phối tử tác động" dùng để chỉ phân tử và tốt hơn là polypeptit liên kết với kháng thể miền Fc, tạo ra phức hợp phối tử Fc/Fc. Phân tử có thể có nguồn gốc từ sinh vật bất kỳ. Việc liên kết phối tử Fc với Fc tốt hơn là cảm ứng một chức năng đáp ứng hoặc nhiều hơn. Các phối tử Fc như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, thụ thể Fc, FcγR, FcγR, FcγR, FcRn, C1q, và C3, lectin liên kết mannan, thụ thể mannoza, Protein A của *Staphylococcus*, Protein G của *Staphylococcus*, và FcγR virut. Phối tử Fc cũng bao gồm các chất đồng đẳng thụ thể Fc (FcRH) (Davis *et al.*, (2002) Immunological Reviews 190, 123-136), là họ thụ thể Fc đồng nhất với FcγR. Phối tử Fc cũng bao gồm phân tử chưa được nhận diện mà liên kết với Fc.

Hoạt tính liên kết thụ thể Fcγ

Hoạt tính liên kết đã suy yếu của miền Fc với thụ thể bất kỳ trong số các thụ thể Fcγ gồm FcγI, FcγIIA, FcγIIB, FcγIIIA, và/hoặc FcγIIIB có thể được đánh giá bằng cách sử dụng mô hình FACS và ELISA nêu trên cũng như sàng lọc ALPHA (Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay) và phương pháp BIACORE dựa trên cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2006) 103(11), 4005-4010).

Sàng lọc ALPHA được thực hiện bằng công nghệ ALPHA dựa trên nguyên tắc được mô tả dưới đây sử dụng hai kiểu hạt: hạt cho và hạt nhận. Tín hiệu phát quang chỉ được phát hiện khi phân tử liên kết với hạt cho tương tác sinh học với phân tử được liên kết với hạt nhận và khi hai hạt này được đặt ở vị trí lân cận. Được kích thích bởi chùm tia laze, chất nhạy quang trong hạt cho chuyển hóa oxy quanh hạt thành oxy vạch đơn đã được kích thích. Khi oxy vạch đơn lan tỏa quanh hạt cho và tiến đến hạt nhận được đặt ở vị trí lân cận, phản ứng phát quang hóa học trong hạt nhận được cảm ứng. Phản

ứng này cuối cùng dẫn đến việc phát ánh sáng. Nếu phân tử được liên kết với hạt cho không tương tác với phân tử được liên kết với hạt nhận, oxy vạch đơn được tạo ra bởi hạt cho không tiến đến hạt nhận và phản ứng phát quang hóa học không xảy ra.

Ví dụ, phân tử liên kết kháng nguyên được đánh dấu biotin được cố định vào hạt cho và thụ thể Fcγ được gắn thẻ glutathion S-transferaza (GST) được cố định vào hạt nhận. Khi không có phân tử liên kết kháng nguyên bao gồm miền Fc đột biến cạnh tranh, thụ thể Fcγ tương tác với phân tử liên kết kháng nguyên bao gồm miền Fc kiểu dại, do đó cảm ứng tín hiệu từ 520 đến 620 nm. Phân tử liên kết kháng nguyên có miền Fc đột biến không được gắn thẻ cạnh tranh với phân tử liên kết kháng nguyên bao gồm miền Fc kiểu dại để tương tác với thụ thể Fcγ. Ái lực liên kết tương đối có thể được xác định bằng cách định lượng mức giảm huỳnh quang do cạnh tranh. Phương pháp biotinyl hóa phân tử liên kết kháng nguyên như kháng thể bằng cách sử dụng Sulfo-NHS-biotin hoặc dạng tương tự là đã biết. Phương pháp thích hợp để bổ sung thẻ GST vào thụ thể Fcγ bao gồm phương pháp bao gồm bước dung hợp polypeptit mã hóa Fcγ và GST trong khung, biểu hiện gen đã được dung hợp bằng cách sử dụng các tế bào được đưa vào bằng vectơ mang gen, và sau đó tinh chế bằng cách sử dụng cột glutathion. Tín hiệu được cảm ứng có thể tốt hơn là được phân tích, ví dụ, bằng cách khớp với mô hình cạnh tranh một vị trí dựa trên kỹ thuật hồi quy không tuyến tính bằng cách sử dụng phần mềm như GRAPHPAD PRISM (GraphPad; San Diego).

Một trong các chất để quan sát tương tác của chúng được cố định làm phối tử lên trên lớp mỏng bằng vàng của chíp cảm biến. Khi ánh sáng được tỏa ra trên bề mặt đằng sau của chíp cảm biến sao cho sự phản chiếu tổng thể xảy ra ở bề mặt chung giữa lớp mỏng bằng vàng và thủy tinh, cường độ ánh sáng được phản chiếu được làm giảm một phần ở vị trí nhất định (tín hiệu SPR). Chất còn lại để quan sát tương tác của chúng được phun làm chất phân tích lên trên bề mặt của chíp cảm biến. Khối lượng của phân tử phối tử được cố định tăng lên khi chất phân tích liên kết với phối tử này. Điều này làm thay đổi chỉ số khúc xạ của dung môi trên bề mặt của chíp cảm biến. Sự thay đổi chỉ số khúc xạ gây ra sự dịch chuyển vị trí của tín hiệu SPR (ngược lại, sự phân ly dịch chuyển tín hiệu ngược về vị trí ban đầu). Trong hệ Biacore, lượng dịch chuyển được mô tả trên đây (tức là, thay đổi khối lượng trên bề mặt chíp cảm biến) được vẽ sơ đồ trên trục dọc, và do đó sự thay đổi khối lượng theo thời gian được thể hiện dưới dạng số liệu đo được (biểu đồ nhạy cảm). Thông số động học (hằng số tốc độ kết hợp (ka) và hằng số tốc độ

phân ly (kd)) được xác định từ đường cong của biểu đồ nhạy cảm, và ái lực (KD) được xác định từ tỷ lệ giữa hai hằng số này. Thử nghiệm ức chế được ưu tiên sử dụng trong phương pháp BIACORE. Các ví dụ về thử nghiệm ức chế như vậy được mô tả trong Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2006) 103(11), 4005-4010.

Trong bản mô tả, "hoạt tính liên kết thụ thể Fcγ bị giảm" có nghĩa là, ví dụ, dựa trên phương pháp phân tích được mô tả trên đây, hoạt tính cạnh tranh của phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm bằng 50% hoặc thấp hơn, tốt hơn là 45% hoặc thấp hơn, 40% hoặc thấp hơn, 35% hoặc thấp hơn, 30% hoặc thấp hơn, 20% hoặc thấp hơn, hoặc 15% hoặc thấp hơn, và đặc biệt tốt hơn là 10% hoặc thấp hơn, 9% hoặc thấp hơn, 8% hoặc thấp hơn, 7% hoặc thấp hơn, 6% hoặc thấp hơn, 5% hoặc thấp hơn, 4% hoặc thấp hơn, 3% hoặc thấp hơn, 2% hoặc thấp hơn, hoặc 1% hoặc thấp hơn so với hoạt tính cạnh tranh của phân tử liên kết kháng nguyên đối chứng.

Phân tử liên kết kháng nguyên bao gồm miền Fc của kháng thể đơn dòng IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4 có thể được sử dụng một cách thích hợp làm phân tử liên kết kháng nguyên đối chứng. Cấu trúc miền Fc được thể hiện trong SEQ ID NO: 37 (A được thêm vào đầu tận cùng N có số nộp lưu RefSeq AAC82527.1), 38 (A được thêm vào đầu tận cùng N có số nộp lưu RefSeq AAB59393.1), 25 (A được thêm vào đầu tận cùng N có số nộp lưu RefSeq CAA27268.1), và 39 (A được thêm vào đầu tận cùng N có số nộp lưu RefSeq AAB59394.1). Hơn nữa, khi phân tử liên kết kháng nguyên bao gồm thể đột biến miền Fc của kháng thể của isotyp cụ thể được sử dụng làm chất thử nghiệm, tác động đột biến của thể đột biến đến hoạt tính liên kết thụ thể Fcγ được đánh giá bằng cách sử dụng làm phân tử liên kết kháng nguyên đối chứng bao gồm miền Fc của cùng một isotyp. Như được mô tả trên đây, phân tử liên kết kháng nguyên bao gồm thể đột biến miền Fc có hoạt tính liên kết thụ thể Fcγ được phán đoán là giảm đi được tạo ra một cách thích hợp.

Các thể đột biến đã biết như vậy bao gồm, ví dụ, thể đột biến có phần khuyết axit amin 231A-238S (đánh số theo EU) (WO 2009/011941), cũng như thể đột biến C226S, C229S, P238S, (C220S) (J. Rheumatol (2007) 34, 11); C226S và C229S (Hum. Antibod. Hybridomas (1990) 1(1), 47-54); C226S, C229S, E233P, L234V, và L235A (Blood (2007) 109, 1185-1192).

Cụ thể là, phân tử liên kết kháng nguyên được ưu tiên bao gồm phân tử bao gồm

miền Fc có phần thế axit amin ở vị trí 220, 226, 229, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 264, 265, 266, 267, 269, 270, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 325, 327, 328, 329, 330, 331, hoặc 332 (đánh số theo EU) trong các axit amin tạo miền Fc của kháng thể của isotyp cụ thể. Isotyp của kháng thể mà miền Fc có nguồn gốc từ đó không bị giới hạn cụ thể, và có thể sử dụng miền Fc thích hợp có nguồn gốc từ kháng thể đơn dòng IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4. Ưu tiên sử dụng miền Fc có nguồn gốc từ kháng thể IgG1.

Phân tử liên kết kháng nguyên được ưu tiên bao gồm, ví dụ, phân tử bao gồm miền Fc có biến thể thay thế bất kỳ trong số các biến thể thay thế được thể hiện dưới đây, có vị trí được chỉ rõ theo cách đánh số theo EU (mỗi số tượng trưng cho vị trí của gốc axit amin trong đánh số theo EU; và ký hiệu axit amin một ký tự trước số này tượng trưng cho gốc axit amin trước khi thay thế, trong khi ký hiệu axit amin một ký tự sau số này tượng trưng cho gốc axit amin trước khi thay thế) trong axit amin tạo miền Fc của kháng thể IgG1:

(a) L234F, L235E, P331S;

(b) C226S, C229S, P238S;

(c) C226S, C229S;

(d) C226S, C229S, E233P, L234V, L235A;

(e) L234A, L235A or L235R, N297A;

(f) L235A hoặc L235R, S239K, N297A

cũng như phân tử có miền Fc có biến thể làm khuyết trình tự axit amin ở vị trí 231 đến 238.

Hơn nữa, phân tử liên kết kháng nguyên được ưu tiên cũng bao gồm phân tử bao gồm miền Fc có phần thế bất kỳ trong số các phần thế được thể hiện dưới đây, có vị trí được chỉ rõ theo cách đánh số theo EU trong các axit amin tạo miền Fc của kháng thể IgG2:

(g) H268Q, V309L, A330S, và P331S;

(h) V234A;

(i) G237A;

(j) V234A và G237A;

(k) A235E và G237A;

(l) V234A, A235E, và G237A. Mỗi số tượng trưng cho vị trí của gốc axit amin trong đánh số theo EU; và ký hiệu axit amin một ký tự trước số này tượng trưng cho gốc axit amin trước khi thay thế, trong khi ký hiệu axit amin một ký tự sau số này tượng trưng cho gốc axit amin trước khi thay thế.

Hơn nữa, phân tử liên kết kháng nguyên được ưu tiên cũng bao gồm các phân tử bao gồm miền Fc có phần thế bất kỳ trong số các phần thế được thể hiện dưới đây, có vị trí được chỉ rõ theo cách đánh số theo EU trong các axit amin tạo miền Fc của kháng thể IgG3:

(m) F241A;

(n) D265A;

(o) V264A. Mỗi số tượng trưng cho vị trí của gốc axit amin trong đánh số theo EU; và ký hiệu axit amin một ký tự trước số này tượng trưng cho gốc axit amin trước khi thay thế, trong khi ký hiệu axit amin một ký tự sau số này tượng trưng cho gốc axit amin trước khi thay thế.

Hơn nữa, phân tử liên kết kháng nguyên được ưu tiên cũng bao gồm các phân tử bao gồm miền Fc có phần thế bất kỳ trong số các phần thế được thể hiện dưới đây, có vị trí được chỉ rõ theo cách đánh số theo EU trong các axit amin tạo miền Fc của kháng thể IgG4:

(p) L235A, G237A, và E318A;

(q) L235E;

(r) F234A và L235A. Mỗi số tượng trưng cho vị trí của gốc axit amin trong đánh số theo EU; và ký hiệu axit amin một ký tự trước số này tượng trưng cho gốc axit amin trước khi thay thế, trong khi ký hiệu axit amin một ký tự sau số này tượng trưng cho gốc axit amin trước khi thay thế.

Phân tử liên kết kháng nguyên được ưu tiên khác bao gồm, ví dụ, các phân tử bao gồm miền Fc trong đó axit amin bất kỳ ở vị trí 233, 234, 235, 236, 237, 327, 330, hoặc 331 (đánh số theo EU) trong các axit amin tạo miền Fc của kháng thể IgG1 được thay

thế bằng axit amin có vị trí tương ứng theo cách đánh số theo EU trong IgG2 hoặc IgG4 tương ứng.

Phân tử liên kết kháng nguyên được ưu tiên còn bao gồm, ví dụ, phân tử bao gồm miền Fc trong đó một hoặc nhiều axit amin bất kỳ trong số các axit amin ở các vị trí 234, 235, và 297 (đánh số theo EU) trong các axit amin tạo miền Fc của kháng thể IgG1 được thay thế bằng các axit amin khác. Kiểu axit amin sau khi thay thế không bị giới hạn cụ thể; tuy nhiên, phân tử liên kết kháng nguyên bao gồm miền Fc trong đó một hoặc nhiều axit amin bất kỳ trong số các axit amin ở các vị trí 234, 235, và 297 được thay thế bằng alanin được đặc biệt ưu tiên.

Phân tử liên kết kháng nguyên được ưu tiên còn bao gồm, ví dụ, phân tử bao gồm miền Fc trong đó axit amin ở vị trí 265 (đánh số theo EU) trong các axit amin tạo miền Fc của kháng thể IgG1 được thay thế bằng axit amin khác. Kiểu axit amin sau khi thay thế không bị giới hạn cụ thể; tuy nhiên, phân tử liên kết kháng nguyên bao gồm miền Fc trong đó axit amin ở vị trí 265 được thay thế bằng alanin được đặc biệt ưu tiên.

Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu

Các ví dụ về phương án được ưu tiên của "phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu" theo sáng chế bao gồm kháng thể đa đặc hiệu. Khi vùng Fc có hoạt tính liên kết thụ thể Fcγ giảm được sử dụng làm vùng Fc của kháng thể đa đặc hiệu, vùng Fc có nguồn gốc từ kháng thể đa đặc hiệu có thể được sử dụng một cách thích hợp. Kháng thể đặc hiệu kép được đặc biệt ưu tiên làm kháng thể đa đặc hiệu theo sáng chế. Trong trường hợp này, kháng thể đặc hiệu kép là kháng thể có hai tính đặc hiệu khác nhau. Kháng thể đặc hiệu kép kiểu IgG có thể được tiết ra từ tế bào lai (tế bào bốn gốc-quadroma) được tạo ra bằng cách dung hợp hai kiểu tế bào lai tạo ra kháng thể IgG (Milstein *et al.*, Nature (1983) 305, 537-540).

Hơn nữa, kháng thể đặc hiệu kép kiểu IgG được tiết ra bằng cách đưa gen của chuỗi L và chuỗi H cấu thành hai kiểu IgG đang quan tâm, tức là tổng cộng bốn gen, vào tế bào, và cùng biểu hiện chúng. Tuy nhiên, số lượng các tổ hợp của chuỗi H và L của IgG mà có thể được tạo ra bằng các phương pháp này theo lý thuyết là mười tổ hợp. Do đó, khó để tinh chế IgG chứa tổ hợp mong muốn của chuỗi H và L từ mười kiểu IgG. Hơn nữa, về mặt lý thuyết, lượng IgG tiết ra có tổ hợp mong muốn sẽ giảm đi đáng kể, và do đó việc nuôi cấy quy mô lớn là cần thiết, và chi phí sản xuất cũng tăng thêm.

Do đó, các kỹ thuật thúc đẩy sự kết hợp giữa các chuỗi H và giữa chuỗi L và chuỗi H có tổ hợp mong muốn có thể được áp dụng vào phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế.

Ví dụ, các kỹ thuật ức chế sự kết hợp chuỗi H không mong muốn bằng cách đưa vào lực đẩy tĩnh điện ở bề mặt chung của vùng không đổi thứ hai hoặc vùng không đổi thứ ba của chuỗi H của kháng thể (CH2 hoặc CH3) có thể được áp dụng vào việc kết hợp kháng thể đa đặc hiệu (WO2006/106905).

Trong kỹ thuật ức chế sự kết hợp chuỗi H không mong muốn bằng cách đưa vào lực đẩy tĩnh điện ở bề mặt chung của CH2 hoặc CH3, ví dụ về gốc axit amin tiếp xúc ở bề mặt chung của vùng không đổi còn lại của chuỗi H bao gồm các vùng tương ứng với các gốc ở vị trí đánh số theo EU 356, 439, 357, 370, 399, và 409 trong vùng CH3.

Cụ thể hơn, các ví dụ bao gồm kháng thể bao gồm hai kiểu vùng CH3 của chuỗi H, trong đó một đến ba cặp gốc axit amin trong vùng CH3 của chuỗi H thứ nhất, được chọn từ cặp gốc axit amin được nêu trong mục (1) đến (3) dưới đây, mang cùng một kiểu điện tích: (1) gốc axit amin có trong vùng CH3 của chuỗi H ở vị trí đánh số theo EU 356 và 439; (2) gốc axit amin có trong vùng CH3 của chuỗi H ở vị trí đánh số theo EU 357 và 370; và (3) gốc axit amin có trong vùng CH3 của chuỗi H ở vị trí đánh số theo EU 399 và 409.

Hơn nữa, kháng thể có thể là kháng thể trong đó cặp gốc axit amin trong vùng CH3 của chuỗi H thứ hai khác với vùng CH3 của chuỗi H thứ nhất nêu trên, được chọn từ cặp gốc axit amin nêu trên theo mục (1) đến (3), trong đó một đến ba cặp gốc axit amin tương ứng với cặp gốc axit amin nêu trên theo mục (1) đến (3) mang cùng một kiểu điện tích trong vùng CH3 của chuỗi H thứ nhất nêu trên mang các điện tích trái dấu từ gốc axit amin tương ứng trong vùng CH3 của chuỗi H thứ nhất nêu trên.

Mỗi trong số các gốc axit amin được nêu trong mục (1) đến (3) nêu trên trở nên gần nhau trong khi kết hợp. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể tìm ra các vị trí tương ứng với gốc axit amin nêu trên theo mục (1) đến (3) trong vùng CH3 của chuỗi H hoặc vùng không đổi chuỗi H mong muốn bằng cách tạo mô hình đồng nhất và dạng tương tự bằng cách sử dụng phần mềm có bán trên thị trường, và gốc axit amin ở các vị trí này có thể được đưa vào cải biến một cách thích hợp.

Trong các kháng thể nêu trên, "gốc axit amin tích điện" tốt hơn là được chọn, ví

dụ, từ các gốc axit amin được bao gồm trong một trong các nhóm sau:

(a) axit glutamic (E) và axit aspartic (D); và

(b) lysin (K), arginin (R), và histidin (H).

Trong các kháng thể nêu trên, cụm từ "mang điện tích cùng dấu" có nghĩa là, ví dụ, tất cả hai hoặc nhiều gốc axit amin được chọn từ các gốc axit amin được bao gồm trong một trong các nhóm (a) và (b) nêu trên. Cụm từ "mang điện tích trái dấu" có nghĩa là, ví dụ, khi ít nhất một trong các gốc axit amin trong hai hoặc nhiều gốc axit amin được chọn từ gốc axit amin được bao gồm trong một trong các nhóm (a) và (b) nêu trên, gốc axit amin còn lại được chọn từ các gốc axit amin được bao gồm trong nhóm còn lại.

Theo một phương án được ưu tiên, các kháng thể nêu trên có thể có vùng CH3 của chuỗi H thứ nhất và vùng CH3 của chuỗi H thứ hai của chúng được liên kết ngang bởi liên kết disulfua.

Theo sáng chế, gốc axit amin được đưa vào cải biến không chỉ giới hạn ở các gốc axit amin của vùng biến đổi kháng thể hoặc vùng không đổi kháng thể nêu trên. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể nhận diện các gốc axit amin tạo ra bề mặt chung trong polypeptit đột biến hoặc dị multime bằng cách tạo mô hình đồng nhất và dạng tương tự bằng cách sử dụng phần mềm có bán trên thị trường; và các gốc axit amin ở các vị trí này sau đó có thể được cải biến để điều chỉnh sự kết hợp.

Các kỹ thuật đã biết khác cũng có thể được sử dụng để kết hợp các kháng thể đa đặc hiệu theo sáng chế. Polypeptit chứa vùng Fc bao gồm các axit amin khác nhau có thể được kết hợp một cách hiệu quả với nhau bằng cách thay thế chuỗi bên axit amin có trong một trong các vùng Fc của chuỗi H của kháng thể bằng chuỗi bên lớn hơn (phần chìa khóa - knob), và thay thế chuỗi bên axit amin có trong vùng Fc tương ứng của chuỗi H còn lại bằng chuỗi bên nhỏ hơn (phần ổ khóa – hole) để cho phép đặt phần chìa khóa vào trong phần ổ khóa (WO1996/027011; Ridgway JB *et al.*, Protein Engineering (1996) 9, 617-621; Merchant A. M. *et al.* Nature Biotechnology (1998) 16, 677-681; và US20130336973).

Ngoài ra, các kỹ thuật đã biết khác cũng có thể được sử dụng để tạo ra kháng thể đa đặc hiệu theo sáng chế. Việc kết hợp các polypeptit có trình tự khác nhau có thể được cảm ứng một cách hiệu quả bằng sự kết hợp bổ sung của CH3 bằng cách sử dụng miền được xử lý trao đổi sợi CH3 được tạo ra bằng cách thay đổi một phần của một

trong các CH3 của chuỗi H của kháng thể với trình tự thu được từ IgA tương ứng và đưa trình tự thu được từ IgA tương ứng vào phần bổ sung của CH3 của chuỗi H còn lại (Protein Engineering Design & Selection, 23; 195-202, 2010). Kỹ thuật đã biết này cũng có thể được sử dụng để tạo ra kháng thể đa đặc hiệu đang quan tâm một cách hiệu quả.

Ngoài ra, các công nghệ sản xuất kháng thể sử dụng kỹ thuật kết hợp kháng thể CH1 và CL và kết hợp VH và VL như được mô tả trong WO 2011/028952, WO2014/018572, và Nat Biotechnol. 2014 Feb; 32(2):191-8; công nghệ sản xuất kháng thể đặc hiệu kép sử dụng các kháng thể đơn dòng được xây dựng riêng rẽ trong tổ hợp (Fab Arm Exchange) như được mô tả trong WO2008/119353 và WO2011/131746; công nghệ điều chỉnh sự kết hợp giữa các CH3 của chuỗi nặng kháng thể như được mô tả trong WO2012/058768 và WO2013/063702; công nghệ sản xuất kháng thể đặc hiệu kép gồm hai kiểu chuỗi nhẹ và một kiểu chuỗi nặng như được mô tả trong WO2012/023053; công nghệ sản xuất kháng thể đặc hiệu kép sử dụng hai chủng tế bào nấm biểu hiện một cách riêng rẽ một trong các chuỗi của kháng thể bao gồm chuỗi H đơn và chuỗi L đơn như được mô tả trong Christoph *et al.* (Nature Biotechnology Vol. 31, p 753-758 (2013)); và các công nghệ như vậy có thể được sử dụng để tạo ra kháng thể đa đặc hiệu.

Một phương án về sự hình thành kháng thể đa đặc hiệu bao gồm phương pháp để thu được kháng thể đặc hiệu kép bằng cách trộn hai loại kháng thể đơn dòng khi có mặt chất khử để cắt liên kết đisulfua trong vùng bản lề lõi, sau đó tái kết hợp cho quá trình dị đime hóa (FAE) như được nêu ở trên. Trong khi đó, việc đưa vào các tương tác tĩnh điện ở bề mặt tương tác chung của vùng CH3 (WO2006/106905) có thể gây ra sự dị đime hóa hiệu quả hơn trong quá trình tái kết hợp (WO2015/046467). Trong FAE sử dụng IgG có trong tự nhiên, việc tái kết hợp diễn ra ngẫu nhiên; và do đó về lý thuyết, các kháng thể đặc hiệu kép có thể chỉ thu được với hiệu suất 50%; tuy nhiên, trong phương pháp này, các kháng thể đặc hiệu kép có thể được tạo ra ở hiệu suất cao.

Theo một cách khác, ngay cả khi kháng thể đa đặc hiệu đang quan tâm không thể được tạo ra một cách hiệu quả, kháng thể đa đặc hiệu theo sáng chế có thể thu được bằng cách tách và tinh chế kháng thể đa đặc hiệu đang quan tâm từ kháng thể đã được tạo ra. Ví dụ, phương pháp giúp có thể tinh chế hai kiểu dạng homome và kháng thể heterome đang quan tâm bằng sắc ký trao đổi ion bằng cách tạo ra chênh lệch ở điểm đẳng điện bằng cách đưa thay thế axit amin vào vùng biến đổi của hai kiểu chuỗi H đã được bao cáo (WO2007114325). Tính đến nay, để làm phương pháp tinh chế kháng thể

heterome, phương pháp sử dụng Protein A để tinh chế kháng thể dị đime bao gồm chuỗi H của IgG2a chuột nhắt mà liên kết với Protein A và chuỗi H của IgG2b chuột cống mà không liên kết với Protein A đã được báo cáo (WO98050431 và WO95033844). Hơn nữa, kháng thể dị đime có thể được tinh chế một cách hiệu quả bởi chính nó bằng cách sử dụng chuỗi H bao gồm phần thế gốc axit amin ở vị trí đánh số theo EU 435 và 436, là vị trí liên kết IgG-Protein A, bằng Tyr, His, hoặc gốc như vậy mà là axit amin tạo ra ái lực Protein A khác nhau, hoặc sử dụng chuỗi H có ái lực protein A khác nhau thu được theo phương pháp của ví dụ tham khảo 9, để làm thay đổi tương tác của từng chuỗi H với Protein A, và sau đó sử dụng cột Protein A.

Theo cách khác, chuỗi L chung mà có thể tạo ra khả năng liên kết với nhiều chuỗi H khác nhau có thể thu được và được sử dụng làm chuỗi L chung của kháng thể đa đặc hiệu. Việc biểu hiện hiệu quả IgG đa đặc hiệu có thể đạt được bằng cách đưa gen của chuỗi L chung như vậy và nhiều chuỗi H khác nhau vào tế bào để biểu hiện IgG (Nature Biotechnology (1998) 16, 677-681). Phương pháp chọn lọc chuỗi L chung thể hiện khả năng liên kết mạnh với chuỗi H bất kỳ trong số các chuỗi H khác nhau cũng có thể được sử dụng khi chọn lọc chuỗi H chung (WO 2004/065611).

Hơn nữa, vùng Fc có tính không đồng nhất ở đầu tận cùng C của vùng Fc được cải thiện có thể được sử dụng một cách thích hợp làm vùng Fc theo sáng chế. Cụ thể hơn là, sáng chế đề xuất vùng Fc được sản xuất bằng cách làm khuyết glyxin ở vị trí 446 và lysin ở vị trí 447 như được chỉ rõ bằng cách đánh số theo EU từ trình tự axit amin của hai polypeptit cấu thành vùng Fc có nguồn gốc từ IgG1, IgG2, IgG3, hoặc IgG4.

Nhiều, như hai hoặc nhiều, công nghệ trong số các công nghệ này có thể được sử dụng kết hợp. Hơn nữa, các công nghệ này có thể được áp dụng một cách thích hợp và riêng rẽ vào hai chuỗi H cần được kết hợp. Hơn nữa, các kỹ thuật này có thể được sử dụng kết hợp với vùng Fc nêu trên mà có ái lực liên kết giảm đối với thụ thể Fcγ. Hơn nữa, phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế có thể là phân tử được tạo ra một cách riêng rẽ sao cho nó có cùng trình tự axit amin, dựa trên phân tử liên kết kháng nguyên được đưa vào các cải biến nêu trên.

Phương án không hạn chế của sáng chế đề xuất chất chống ung thư chứa, làm thành phần hoạt tính, kháng thể đặc hiệu kép của bất kỳ trong số (a) đến (c) dưới đây chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng

thể có hoạt tính liên kết CD3:

(a) kháng thể đặc hiệu kép trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là các trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% lần lượt với trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223;

(b) kháng thể đặc hiệu kép trong đó vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là trình tự có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 223; và

(c) kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 385; chuỗi H của kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 và có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 402; và chuỗi L chung có mức đồng nhất ít nhất 80% với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 410.

Trong kháng thể đặc hiệu kép của bất kỳ trong số (a) đến (c) trên đây, trình tự axit amin mức đồng nhất của mỗi chuỗi năng và chuỗi nhẹ xác định CDR1, CDR2, và CDR3, vùng biến đổi chuỗi nặng, vùng biến đổi chuỗi nhẹ, toàn bộ chuỗi nặng, và toàn bộ chuỗi nhẹ tốt hơn là ít nhất 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, or 90%, hoặc cao hơn, và tốt hơn nữa là ít nhất 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% hoặc cao hơn.

Trong bản mô tả, mức đồng nhất trình tự được tính theo phần trăm của các gốc giống với các gốc trong trình tự axit amin ban đầu của vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ được xác định sau khi các trình tự này được sắp thẳng và các khoảng trống được đưa vào một cách thích hợp khi cần thiết để tối đa hóa mức đồng nhất trình tự.

Trong kháng thể đặc hiệu kép của bất kỳ một trong số (a) đến (c) trên đây, miễn là kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 hoặc CD3, một hoặc nhiều axit amin có thể được thế, xóa bỏ, bổ sung, và/hoặc cài xen trong trình tự axit amin của CDR1, CDR2, và CDR3 chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, và vùng biến đổi chuỗi nặng, vùng biến đổi chuỗi nhẹ, toàn bộ chuỗi nặng, và toàn bộ chuỗi nhẹ. Phương pháp đã biết với người có hiểu trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này để tạo ra trình tự axit amin như vậy trong đó một hoặc nhiều axit amin được thế, xóa bỏ, bổ sung, và/hoặc cài xen bao gồm phương pháp đưa các đột biến vào protein. Ví dụ, người có hiểu trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể tạo ra các thể đột biến tương đương về mặt chức năng với vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể của SEQ ID NO: 385 có hoạt tính liên kết glypican 3, chuỗi H của kháng thể của SEQ ID NO: 402 có hoạt tính liên kết CD3, và kháng thể chuỗi L chung của SEQ ID NO: 410 bằng cách đưa một cách thích hợp các đột biến vào trình tự axit amin của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 hoặc CD3 sử dụng phương pháp gây đột biến định hướng vị trí (Hashimoto-Gotoh, T, Mizuno, T, Ogasahara, Y, và Nakagawa, M. (1995) An oligodeoxyribonucleotide-directed dual amber method for site-directed mutagenesis. Gene 152, 271-275; Zoller, MJ, và Smith, M. (1983) Oligonucleotide-directed mutagenesis of DNA fragments cloned into M13 vectors. Methods Enzymol. 100, 468-500; Kramer, W, Drutsa, V, Jansen, HW, Kramer, B, Pflugfelder, M, và Fritz, HJ (1984) The gapped duplex DNA approach to oligonucleotide-directed mutation construction. Nucleic Acids Res. 12, 9441-9456; Kramer W, và Fritz HJ (1987) Oligonucleotide-directed construction of mutations via gapped duplex DNA Methods. Enzymol. 154, 350-367; Kunkel, TA (1985) Rapid and efficient site-specific mutagenesis without phenotypic selection. Proc Natl Acad Sci U S A. 82, 488-492) hoặc tương tự. Theo sáng chế, cụm từ "tương đương về mặt chức năng" nghĩa là ái lực liên kết đối với kháng nguyên là tương đương, hoặc theo cách khác, nó có nghĩa là hoạt tính gây độc tế bào chống lại các tế bào biểu hiện glypican 3 hoặc mô chứa các tế bào này là tương đương khi nó được sử dụng làm phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu. Ái lực liên kết và hoạt tính gây độc tế bào có thể được đo dựa trên phần mô tả sáng chế. Chi tiết được mô tả dưới đây.

Số lượng các axit amin cần được thay đổi không bị giới hạn, và bằng, ví dụ, 40 hoặc ít hơn, 30 hoặc ít hơn, 20 hoặc ít hơn, tốt hơn là 18 hoặc ít hơn, 16 hoặc ít hơn, 15

hoặc ít hơn, 12 hoặc ít hơn, 10 hoặc ít hơn, 9 hoặc ít hơn, 8 hoặc ít hơn, 7 hoặc ít hơn, 6 hoặc ít hơn, 5 hoặc ít hơn, 4 hoặc ít hơn, 3 hoặc ít hơn, hoặc 2 hoặc ít hơn.

Khi gốc axit amin được thay đổi, axit amin tốt hơn là được gây đột biến thành (các) axit amin khác nhau mà duy trì được tính chất của các mạch bên axit amin. Ví dụ về tính chất mạch bên axit amin là: axit amin kỵ nước (A, I, L, M, F, P, W, Y, và V), axit amin ưa nước (R, D, N, C, E, Q, G, H, K, S, và T), axit amin có mạch bên béo (G, A, V, L, I, và P), axit amin có mạch bên chứa nhóm hydroxyl (S, T, và Y), axit amin có mạch bên chứa lưu huỳnh (C và M), axit amin có mạch bên chứa axit carboxylic và amit (D, N, E, và Q), axit amin có mạch bên bazơ (R, K, và H), và axit amin có mạch bên thơm (H, F, Y, và W) (axit amin được biểu diễn bởi mã một chữ cái trong dấu ngoặc đơn). Các phần thế axit amin trong mỗi trong số các nhóm này được đề cập đến dưới dạng các phần thế bảo toàn. Đã được biết rằng polypeptit có trình tự axit amin được cải biến trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin trong trình tự axit amin xác định được xóa, bổ sung, và/hoặc thay thế bằng axit amin khác có thể vẫn có hoạt tính sinh học (Mark, D. F. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1984)81:5662-6; Zoller, M. J. và Smith, M., Nucleic Acids Res. (1982)10:6487-500; Wang, A. *et al.*, Science (1984) 224:1431-3; Dalbadie-McFarland, G. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1982)79:6409-13).

Theo cách khác, trình tự axit amin có hoạt tính liên kết glypican 3 hoặc CD3 có phần thế, phần xóa, phần bổ sung, và/hoặc phần cài xen của một hoặc nhiều axit amin trong trình tự axit amin của vùng CDR, vùng biến đổi chuỗi nặng, vùng biến đổi chuỗi nhẹ, toàn bộ vùng chuỗi nặng, hoặc toàn bộ vùng chuỗi nhẹ có thể thu được từ các axit nucleic lai ở điều kiện nghiêm ngặt với các axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của vùng CDR, vùng biến đổi chuỗi nặng, vùng biến đổi chuỗi nhẹ, toàn bộ vùng chuỗi nặng, hoặc toàn bộ vùng chuỗi nhẹ. Điều kiện lai nghiêm ngặt để tách axit nucleic lai ở điều kiện nghiêm ngặt với axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của vùng CDR, vùng biến đổi chuỗi nặng, vùng biến đổi chuỗi nhẹ, toàn bộ vùng chuỗi nặng, hoặc toàn bộ vùng chuỗi nhẹ bao gồm, ví dụ, điều kiện là ure 6M, SDS 0,4%, 0,5x SSC, và 37°C, hoặc các điều kiện lai với độ nghiêm ngặt tương đương với điều kiện đó. Việc tách axit nucleic với độ đồng nhất cao hơn nhiều có thể được mong đợi với các điều kiện nghiêm ngặt hơn, ví dụ, điều kiện là ure 6M, SDS 0,4%, 0,1x SSC, và 42°C. Điều kiện rửa sau khi lai là, ví dụ, rửa với 0,5x SSC (1x SSC là NaCl 0,15M và natri xitrat 0,015M, pH = 7,0) và SDS 0,1% ở 60°C, tốt hơn nữa là

rửa với 0,2x SSC và SDS 0,1% ở 60°C, còn tốt hơn nữa là rửa với 0,2x SSC và SDS 0,1% ở 62°C, vẫn còn tốt hơn nữa là rửa với 0,2x SSC và SDS 0,1% ở 65°C, và vẫn tốt hơn nữa là rửa với 0,1x SSC và SDS 0,1% ở 65°C. Thời gian rửa và số lần rửa có thể được điều chỉnh thích hợp, ví dụ rửa 20 phút có thể được thực hiện ba lần. Các trình tự của axit nucleic đã tách có thể được xác định bằng các phương pháp đã biết được mô tả dưới đây. Độ tương đồng trình tự nucleotit toàn bộ của axit nucleic đã tách là ít nhất 50% hoặc cao hơn, tốt hơn là 70% hoặc cao hơn, 75% hoặc cao hơn, 80% hoặc cao hơn, 85% hoặc cao hơn, và tốt hơn nữa là 90% hoặc cao hơn (ví dụ, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc cao hơn) mức đồng nhất trình tự.

Thay vì các phương pháp sử dụng các kỹ thuật lai nêu trên, các phương pháp khuếch đại gen, ví dụ, phản ứng chuỗi polymeraza (PCR), sử dụng đoạn mồi được tổng hợp dựa vào thông tin của trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của vùng CDR, vùng biến đổi chuỗi nặng, vùng biến đổi chuỗi nhẹ, toàn bộ vùng chuỗi nặng, hoặc toàn bộ vùng chuỗi nhẹ cũng có thể được sử dụng để tách axit nucleic lai ở điều kiện nghiêm ngặt với axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của vùng.

Mức đồng nhất của một trình tự nucleotit hoặc trình tự axit amin với trình tự nucleotit hoặc trình tự axit amin khác có thể được xác định sử dụng thuật toán BLAST bởi Karlin và Altschul (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1993) 90:5873-7). Các chương trình được gọi là BLASTN và BLASTX được phát triển dựa trên thuật toán này (Altschul *et al.*, J. Mol. Biol. (1990) 215:403-10). Các thông số đối với phép phân tích trình tự nucleotit bởi BLASTN dựa trên BLAST bao gồm, ví dụ, điểm= 100 và chiều dài từ = 12. Mặt khác, các thông số để phân tích trình tự axit amin bằng BLASTX dựa trên BLAST bao gồm, ví dụ, điểm= 50 và chiều dài từ = 3. Các thông số mặc định cho mỗi chương trình được sử dụng khi sử dụng chương trình BLAST và Gapped BLAST. Các kỹ thuật cụ thể cho các phân tích này là đã biết (xem trang web trên Trung tâm Thông Tin Công nghệ sinh học Quốc gia (NCBI), Công cụ tìm kiếm trình tự cơ bản (BLAST); http://www.ncbi.nlm.nih.gov).

Một phương án không giới hạn của sáng chế đề xuất chất chống ung thư chứa, làm thành phần hoạt tính, kháng thể đặc hiệu kép có hai chuỗi H và chuỗi L chung của kháng thể của mẫu số 38 (bảng 17) được mô tả trong phần ví dụ và ví dụ tham khảo. Phương án không giới hạn của sáng chế còn đề xuất chất chống ung thư chứa, làm thành phần hoạt tính, kháng thể đặc hiệu kép có vùng biến đổi của hai chuỗi H và chuỗi L

chung của kháng thể của mẫu số 38 và có hoạt tính liên kết glypican 3 và CD3. Phương án không giới hạn của sáng chế còn đề xuất chất chống ung thư chứa, làm thành phần hoạt tính, kháng thể đặc hiệu kép có trình tự axit amin tương ứng của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong hai chuỗi H và chuỗi L chung của kháng thể của mẫu số 38 và có hoạt tính liên kết glypican 3 và CD3.

Một phương án không giới hạn của sáng chế đề xuất chất chống ung thư chứa, làm thành phần hoạt tính, kháng thể đặc hiệu kép có chuỗi H của kháng thể của SEQ ID NO: 385 có hoạt tính liên kết glypican 3, chuỗi H của kháng thể của SEQ ID NO: 402 có hoạt tính liên kết CD3, và chuỗi L chung của kháng thể của SEQ ID NO: 410.

Một phương án không giới hạn của sáng chế đề xuất chất chống ung thư chứa, làm thành phần hoạt tính, kháng thể đặc hiệu kép trong đó CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 lần lượt là trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206; CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 lần lượt là trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168; và CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung lần lượt là trình tự axit amin của vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223.

Trình tự axit amin của CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong vùng biến đổi kháng thể có thể được xác định bằng các phương pháp đã biết bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, và các phương pháp này không bị giới hạn cụ thể. Các vùng CDR1, CDR2, và CDR3 có thể là các vùng dựa trên việc đánh số đã biết với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, cách đánh số Kabat, Chothia, hoặc Contact, hoặc có thể là các vùng dựa trên các tiêu chuẩn khác. Theo phương án không giới hạn của sáng chế, các vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 206 gồm vùng của trình tự axit amin lần lượt ở các vị trí 31 đến 35 (SEQ ID NO: 456), các vị trí 50 đến 66 (SEQ ID NO: 457), và các vị trí 99 đến 104 (SEQ ID NO: 458) (cách đánh số Kabat); vùng của trình tự axit amin lần lượt ở các vị trí 26 đến 32 (SEQ ID NO: 459), các vị trí 52 đến 57 (SEQ ID NO: 460), và các vị trí 97 đến 104 (SEQ ID NO: 461) (cách đánh số Chothia); và vùng của trình tự axit amin lần lượt ở các vị trí 30 đến 35 (SEQ ID NO: 462), các vị trí 47 đến 59 (SEQ ID NO: 463), và các vị trí 97 đến 103 (SEQ ID NO: 464) (cách đánh số Contact); tuy nhiên, vùng CDR có thể là

các vùng dựa trên tiêu chuẩn khác.

Theo phương án không giới hạn của sáng chế, các vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 168 gồm vùng trình tự axit amin lần lượt ở các vị trí 31 đến 35 (SEQ ID NO: 465), các vị trí 50 đến 68 (SEQ ID NO: 466), và các vị trí 101 đến 111 (SEQ ID NO: 467) (cách đánh số Kabat); vùng của trình tự axit amin lần lượt ở các vị trí 26 đến 32 (SEQ ID NO: 468), các vị trí 52 đến 59 (SEQ ID NO: 469), và các vị trí 99 đến 111 (SEQ ID NO: 470) (cách đánh số Chothia); và vùng của trình tự axit amin lần lượt ở các vị trí 30 đến 35 (SEQ ID NO: 471), các vị trí 47 đến 61 (SEQ ID NO: 472), và các vị trí 99 đến 110 (SEQ ID NO: 473) (cách đánh số Contact); tuy nhiên, các vùng CDR có thể là vùng được dựa trên các tiêu chuẩn khác.

Theo phương án không giới hạn của sáng chế, các vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được bao gồm trong SEQ ID NO: 223 gồm vùng của trình tự axit amin lần lượt ở các vị trí 24 đến 39 (SEQ ID NO: 474), các vị trí 55 đến 61 (SEQ ID NO: 475), và các vị trí 94 đến 102 (SEQ ID NO: 476) (cách đánh số Kabat và Chothia); và vùng của trình tự axit amin lần lượt ở các vị trí 35 đến 41 (SEQ ID NO: 477), các vị trí 51 đến 56 (SEQ ID NO: 478), và các vị trí 94 đến 101 (SEQ ID NO: 479) (cách đánh số Contact); tuy nhiên, các vùng CDR có thể là vùng được dựa trên các tiêu chuẩn khác (xem Fig. 24-1, 24-2, và 25).

Phương án không giới hạn của sáng chế đề xuất chất chống ung thư chứa, làm thành phần hoạt tính, kháng thể đặc hiệu kép trong đó vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 là trình tự axit amin của SEQ ID NO: 206; vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 là trình tự axit amin của SEQ ID NO: 168; và vùng biến đổi kháng thể của chuỗi L chung là trình tự axit amin của SEQ ID NO: 223.

Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu thích hợp được bao gồm trong chất chống ung thư hoặc dược phẩm theo sáng chế bao gồm:

(1) miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3;

(2) miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T; và

(3) miền chứa vùng Fc có hoạt tính liên kết thụ thể Fcγ giảm nêu trên, không chỉ giới hạn ở cấu trúc của nó.

Theo sáng chế, mỗi trong số các miền nêu trên có thể được liên kết trực tiếp bằng liên kết peptit. Ví dụ, khi sử dụng $F(ab')_2$ làm miền chứa vùng biến đổi kháng thể theo (1) và (2), và các vùng Fc này làm miền chứa vùng Fc có hoạt tính liên kết thụ thể Fcγ giảm theo (3), polypeptit được tạo ra bằng cách liên kết miền chứa vùng biến đổi kháng thể theo (1) và (2) và miền chứa vùng Fc theo (3) bằng liên kết peptit sẽ tạo ra cấu trúc kháng thể. Kháng thể này có thể được sản xuất bằng cách tinh chế từ môi trường nuôi cấy tế bào lai nêu trên, và cũng bằng cách tinh chế kháng thể từ môi trường nuôi cấy tế bào chủ mong muốn mà mang polynucleotit mã hóa polypeptit cấu thành kháng thể một cách ổn định.

Các ví dụ về vùng biến đổi của chuỗi H của kháng thể ưu tiên được bao gồm trong chất chống ung thư hoặc dược phẩm theo sáng chế có trong vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 bao gồm vùng biến đổi của chuỗi H của kháng thể trong Bảng 1, hoặc vùng biến đổi của chuỗi H của kháng thể có trình tự CDR có trình tự axit amin CDR1, CDR2, và CDR3 giống như trình tự axit amin CDR1, CDR2, và CDR3 có trong vùng biến đổi của chuỗi H trong Bảng 1, hoặc vùng biến đổi của chuỗi H của kháng thể tương đương về mặt chức năng với các vùng biến đổi nêu trên.

Bảng 1

Tên trình tự	SEQ ID NO:
H0000	40
GCH003	170
GCH005	171
GCH006	172
GCH007	173
GCH008	174
GCH010	175
GCH012	176
GCH013	177
GCH014	178
GCH015	179
GCH016	180
GCH019	181
GCH022	182
GCH023	183
GCH025	184
GCH026	185
GCH027	186
GCH029	187
GCH032	188
GCH034	189
GCH035	190
GCH039	191
GCH040	192

Tên trình tự	SEQ ID NO:
GCH042	193
GCH043	194
GCH045	195
GCH053	196
GCH054	197
GCH055	198
GCH056	199
GCH057	200
GCH059	201
GCH060	202
GCH061	203
GCH062	204
GCH064	205
GCH065	206
GCH066	207
GCH067	208
GCH068	209
GCH073	210
GCH094	211
GCH098	212
GCH099	213
GCH100	214
H0610	215

Ví dụ về vùng biến đổi kháng thể ưu tiên có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T được bao gồm trong chất chống ung thư hoặc dược phẩm theo sáng chế bao gồm các vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết thụ thể tế bào T. Trong số các thụ thể tế bào T, CD3 được ưu tiên, và CD3ε được đặc biệt ưu tiên. Ví dụ về vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trong các vùng biến đổi kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi H kháng thể nêu trong Bảng 2, vùng biến đổi chuỗi H kháng thể có trình tự CDR mà trình tự axit amin CDR1, CDR2, và CDR3 của nó giống với trình tự axit amin CDR1, CDR2, và CDR3 có trong vùng biến đổi chuỗi H kháng thể nêu trong Bảng 2, và vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể tương đương về mặt chức năng với các vùng biến đổi nêu trên.

Bảng 2

Tên trìn tự	SEQ ID NO:
hCE115HA	52
CE115HA177	64
CE115HA178	65
CE115HA179	66
CE115HA180	67
hCE115HAa	68
TR01H006	69
TR01H007	70
TR01H008	71
TR01H009	72
TR01H010	73
TR01H011	74
TR01H012	75
TR01H013	76
TR01H014	77
TR01H015	78
TR01H016	79
TR01H017	80
TR01H018	81
TR01H019	82
TR01H020	83
TR01H021	84
TR01H022	85
TR01H023	86
TR01H024	87
TR01H025	88
TR01H026	89
TR01H027	90
TR01H028	91
TR01H029	92
TR01H030	93
TR01H031	94
TR01H032	95
TR01H033	96
TR01H034	97
TR01H035	98

Tên trình tự	SEQ ID NO:
TR01H036	99
TR01H037	100
TR01H038	101
TR01H039	102
TR01H040	103
TR01H041	104
TR01H042	105
TR01H043	106
TR01H044	107
TR01H045	108
TR01H046	109
TR01H047	110
TR01H048	111
TR01H049	112
TR01H050	113
TR01H051	114
TR01H052	115
TR01H053	116
TR01H054	117
TR01H055	118
TR01H056	119
TR01H057	120
TR01H058	121
TR01H061	122
TR01H062	123
TR01H063	124
TR01H064	125
TR01H065	126
TR01H066	127
TR01H067	128
TR01H068	129
TR01H069	130
TR01H070	131
TR01H071	132
TR01H072	133
TR01H073	134

Tên trình tự	SEQ ID NO:
TR01H074	135
TR01H075	136
TR01H076	137
TR01H077	138
TR01H079	139
TR01H080	140
TR01H081	141
TR01H082	142
TR01H083	143
TR01H084	144
TR01H090	145
TR01H091	146
TR01H092	147
TR01H093	148
TR01H094	149
TR01H095	150
TR01H096	151
TR01H097	152
TR01H098	153
TR01H099	154
TR01H100	155
TR01H101	156
TR01H102	157
TR01H103	158
TR01H104	159
TR01H105	160
TR01H106	161
TR01H107	162
TR01H108	163
TR01H109	164
TR01H110	165
TR01H111	166
TR01H112	167
TR01H113	168
TR01H114	169
TR01H001	420
TR01H002	421
TR01H003	422
TR01H004	423
rCE115H	424
CE115HA121	425
CE115HA122	426
CE115HA124	427
CE115HA192	428
CE115HA236	429
CE115HA251	430
CE115HA252	431

Mối quan hệ giữa các vùng CDR của các gốc axit amin tạo nên trình tự axit amin chuỗi H của kháng thể và cách đánh số Kabat được thể hiện trên Fig. 24 (Fig. 24-

1 và 24-2).

Đối với các vùng biến đổi chuỗi L của kháng thể nằm trong vùng biến đổi của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi của kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T được bao gồm trong chất chống ung thư hoặc dược phẩm theo sáng chế, tốt hơn nếu thu được chuỗi L chung mà có thể tạo ra hoạt tính liên kết với chuỗi H có hoạt tính liên kết glypican 3 và hoạt tính liên kết với chuỗi H có phức hợp thụ thể tế bào T, và sử dụng chuỗi này làm vùng biến đổi chuỗi L chung của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu.

Ví dụ về vùng biến đổi chuỗi L chung được sử dụng trong sáng chế bao gồm vùng biến đổi chuỗi L nêu trong bảng 3, vùng biến đổi chuỗi L của kháng thể có trình tự CDR mà trình tự axit amin CDR1, CDR2, và CDR3 của nó giống với trình tự axit amin CDR1, CDR2, và CDR3 nằm trong vùng biến đổi chuỗi L của kháng thể nêu trong Bảng 3, và vùng biến đổi chuỗi L của kháng thể tương đương về mặt chức năng với các vùng biến đổi nêu trên.

Bảng 3

Tên trình tự	SEQ ID NO:
L0000	53
L0002	217
L0003	218
L0006	219
L0007	220
L0008	221
L0009	222
L0011	223
L0012	224
L0013	225
L0014	226
L0015	227
L0016	228
L0032	229
L0038	230
L0039	231
L0041	232
L0042	233
L0043	234
L0044	235
L0045	236
L0046	237
L0047	238
L0062	239
L0063	240
L0064	241
L0065	242
L0066	243
L0069	244
L0075	245
L0079	246
L0082	247
L0085	248
L0089	249
L0090	250
L0091	251
L0093	252
L0104	253
L0106	254
L0107	255
L0109	256
L0113	257
L0115	258
L0117	259
L0120	260
L0122	261
L0123	262
L0124	263
L0125	264
L0126	265
L0127	266
L0129	267
L0132	268
L0134	269
L0136	270
L0137	271
L0138	272
L0139	273
L0140	274
L0141	275
L0143	276
L0144	277
L0145	278
L0147	279
L0148	280
L0149	281
L0151	282
L0152	283
L0154	284
L0155	285
L0157	286
L0160	287
L0161	288
L0163	289
L0167	290
L0168	291
L0173	292
L0175	293
L0180	294
L0181	295
L0186	296
L0187	297
L0200	298
L0201	299
L0202	300
L0203	301
L0204	302
L0205	303
L0206	304
L0207	305
L0208	306
L0209	307
L0210	308
L0211	309
L0212	310
L0213	311
L0214	312
L0215	313
L0216	314
L0217	315
L0218	316
L0219	317
L0220	318
L0222	319
L0223	320
L0224	321
L0226	322
L0227	323
L0228	324
L0229	325
L0230	326
L0231	327
L0232	328
L0233	329
L0234	330
L0235	331
L0236	332
L0237	333
L0238	334
L0239	335
L0240	336
L0241	337
L0242	338
L0243	339
L0246	340
L0247	341
L0248	342
L0249	343
L0250	344
L0258	345
L0259	346
L0260	347
L0261	348
L0262	349
L0263	350
L0264	351
L0265	352
L0266	353
L0267	354
L0268	355
L0269	356
L0270	357
L0271	358
L0272	359

Mối quan hệ giữa vùng CDR của các gốc axit amin tạo nên trình tự axit amin chuỗi L của kháng thể và cách đánh số của Kabat là như được thể hiện trên Fig. 25.

Theo sáng chế, cụm từ "tương đương về mặt chức năng" nghĩa là các ái lực liên kết đối với kháng nguyên là tương đương, hoặc theo cách khác, nó có nghĩa là hoạt tính gây độc tế bào đối với các tế bào biểu hiện glypican 3 hoặc mô chứa các tế bào này là tương đương khi nó được sử dụng làm phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu. Ái lực liên kết và hoạt tính gây độc tế bào có thể được đo dựa trên phần mô tả sáng chế. Các tế bào được sử dụng để đo hoạt tính gây độc tế bào có thể là các tế bào biểu hiện GPC3 mong muốn hoặc mô mong muốn chứa các tế bào này, và ví dụ, PC-10 hoặc NCI-H446 là dòng tế bào ung thư của người biểu hiện GPC3 có thể được sử dụng. Liên quan đến các vùng không đổi của kháng thể, cụm từ này có thể mang nghĩa là các mức giảm hoạt tính liên kết thụ thể Fcγ là tương đương.

Ví dụ, vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể tương đương về mặt chức năng với vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể được nêu trong bản mô tả (nghĩa là, vùng biến đổi chuỗi H ban đầu) nghĩa là vùng này có cùng ái lực liên kết khi nó được kết hợp với vùng biến đổi chuỗi L của kháng thể được nêu trong bản mô tả tạo thành một cặp với chuỗi H ban đầu, hoặc theo cách khác là vùng này có cùng hoạt tính gây độc tế bào đối với các tế bào biểu hiện glypican 3 hoặc mô chứa các tế bào này khi được sử dụng đối với phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu. Ngoài ra, vùng biến đổi chuỗi L của kháng thể tương đương về mặt chức năng với vùng biến đổi chuỗi L của kháng thể được nêu trong bản mô tả (nghĩa là, vùng biến đổi chuỗi L ban đầu) nghĩa là vùng này có cùng ái lực liên kết khi được kết hợp với vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể được nêu trong bản mô tả tạo thành một cặp với chuỗi L ban đầu, hoặc theo cách khác là vùng này có cùng hoạt tính gây độc tế bào đối với các tế bào biểu hiện glypican 3 hoặc mô chứa các tế bào này khi được sử dụng đối với phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu.

Thuật ngữ "tương đương" không nhất thiết phải có nghĩa là cùng mức hoạt tính, và hoạt tính này có thể được tăng cường. Cụ thể, đối với ái lực liên kết kháng nguyên, các ví dụ bao gồm trường hợp trong đó giá trị (giá trị KD/giá trị KD gốc) thu được khi so sánh với ái lực liên kết của vùng biến đổi kháng thể đóng vai trò làm đối chứng (giá trị KD gốc) là 1,5 hoặc thấp hơn. Giá trị của tỷ số giá trị KD/giá trị KD gốc tốt hơn là bằng 1,3 hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa là bằng 1,2 hoặc thấp hơn, 1,1 hoặc thấp hơn, 1,0 hoặc thấp hơn, 0,9 hoặc thấp hơn, 0,8 hoặc thấp hơn, 0,7 hoặc thấp hơn, 0,6 hoặc thấp hơn, hoặc 0,5 hoặc thấp hơn. Mặc dù không có giới hạn dưới, các ví dụ bao gồm 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, hoặc 10^{-6}. Cụ thể hơn, theo sáng chế, giá trị của tỷ số giá trị KD/giá

trị KD gốc tốt hơn là từ 10^{-6} đến 1,5 x 10^{-0}, tốt hơn nữa là 10^{-6} đến 10^{-1}, thậm chí tốt hơn nữa là 10^{-6} đến 10^{-2}, và còn tốt hơn nữa là 10^{-6} đến 10^{-3}. Đối với hoạt tính gây độc tế bào, ví dụ bao gồm trường hợp trong đó giá trị (tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào/tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào bố mẹ) thu được khi so sánh với tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu đóng vai trò làm đối chứng (tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào bố mẹ) là 0,7 hoặc cao hơn. Nồng độ phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu thêm vào có thể được xác định thích hợp, nhưng tốt hơn là bằng, ví dụ, 0,01nM, 0,05nM, 0,1nM, 0,5nM, hoặc 1nM; và tốt hơn là, nồng độ đo được lấy ở 0,05nM hoặc 0,1nM. Giá trị tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào/tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào bố mẹ tốt hơn là bằng 0,8 hoặc cao hơn, tốt hơn nữa là 0,9 hoặc cao hơn, 1,0 hoặc cao hơn, 1,2 hoặc cao hơn, 1,5 hoặc cao hơn, 2 hoặc cao hơn, 3 hoặc cao hơn, 5 hoặc cao hơn, 10 hoặc cao hơn, hoặc 20 hoặc cao hơn. Mặc dù không có giới hạn trên, giá trị này có thể là 10, 10^2, 10^3, 10^4, 10^5, hoặc 10^6.

Ngoài ra, đối với hoạt tính gây độc tế bào, ví dụ bao gồm trường hợp trong đó giá trị (nồng độ ức chế 50% sự tăng sinh của tế bào/nồng độ ban đầu ức chế 50% sự tăng sinh của tế bào) thu được khi so sánh với nồng độ phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu ban đầu để ức chế 50% sự tăng sinh của tế bào (nồng độ ban đầu ức chế 50% sự tăng sinh của tế bào) là 1,5 hoặc thấp hơn. Nồng độ ức chế 50% sự tăng trưởng chỉ nồng độ phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu cần để làm giảm tỷ lệ tăng sinh tế bào xuống một nữa so với khi không bổ sung phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu. Giá trị "nồng độ ức chế 50% sự tăng sinh của tế bào/nồng độ ban đầu để ức chế 50% sự tăng sinh của tế bào" tốt hơn là bằng 1,3 hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa là 1,2 hoặc thấp hơn, 1,1 hoặc thấp hơn, 1,0 hoặc thấp hơn, 0,9 hoặc thấp hơn, 0,8 hoặc thấp hơn, 0,7 hoặc thấp hơn, 0,6 hoặc thấp hơn, hoặc 0,5 hoặc thấp hơn. Mặc dù không có giới hạn dưới, giá trị này có thể là, ví dụ, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, hoặc 10^{-6}. Cụ thể, giá trị này tốt hơn là nằm trong khoảng từ 10^{-6} đến 1,5 x 10^{-0}, tốt hơn nữa là từ 10^{-6} đến 10^{-1}, thậm chí tốt hơn nữa là từ 10^{-6} đến 10^{-2}, và còn tốt hơn nữa là từ 10^{-6} đến 10^{-3}.

Đối với miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết GPC3, giá trị KD đối với GPC3 (ví dụ, GPC3 của người) có thể bằng, ví dụ, 5 x 10^{-9} M hoặc thấp hơn, tốt hơn là 4 x 10^{-9} M hoặc thấp hơn, như 3 x 10^{-9} M hoặc thấp hơn, 2 x 10^{-9} M hoặc thấp hơn, 1 x 10^{-9} M hoặc thấp hơn, 8 x 10^{-10} M hoặc thấp hơn, 5 x 10^{-10} M hoặc thấp hơn, 4 x 10^{-10} M hoặc thấp hơn, 3 x 10^{-10} M hoặc thấp hơn, 2 x 10^{-10} M hoặc thấp hơn, 1 x 10^{-}

^{10} M hoặc thấp hơn, 8 x 10^{-11} M hoặc thấp hơn, 5 x 10^{-11} M hoặc thấp hơn, 4 x 10^{-11} M hoặc thấp hơn, 3 x 10^{-11} M hoặc thấp hơn, 2 x 10^{-11} M hoặc thấp hơn, 1 x 10^{-11} M hoặc thấp hơn, 8 x 10^{-12} M hoặc thấp hơn, 5 x 10^{-12} M hoặc thấp hơn, 4 x 10^{-12} M hoặc thấp hơn, 3 x 10^{-12} M hoặc thấp hơn, 2 x 10^{-12} M hoặc thấp hơn, 1 x 10^{-12} M hoặc thấp hơn, 8 x 10^{-13} M hoặc thấp hơn, 5 x 10^{-13} M hoặc thấp hơn, 4 x 10^{-13} M hoặc thấp hơn, 3 x 10^{-13} M hoặc thấp hơn, 2 x 10^{-13} M hoặc thấp hơn, hoặc 1 x 10^{-13} M hoặc thấp hơn.

Đối với miền chứa vùng biến đổi kháng thể hoạt tính liên kết phức có thụ thể tế bào T, giá trị KD đối với phức hợp thụ thể tế bào T của người như thụ thể tế bào T của người, hoặc cụ thể hơn, ví dụ CD3ε của người có thể bằng, ví dụ, 2 x 10^{-7} M hoặc thấp hơn, tốt hơn là 1,5 x 10^{-7} M hoặc thấp hơn, như 1,4 x 10^{-7} M hoặc thấp hơn, 1,3 x 10^{-7} M hoặc thấp hơn, 1,2 x 10^{-7} M hoặc thấp hơn, 1 x 10^{-7} M hoặc thấp hơn, 3 x 10^{-8} M hoặc thấp hơn, 2 x 10^{-8} M hoặc thấp hơn, 1 x 10^{-8} M hoặc thấp hơn, 8 x 10^{-9} M hoặc thấp hơn, 5 x 10^{-9} M hoặc thấp hơn, 4 x 10^{-9} M hoặc thấp hơn, 3 x 10^{-9} M hoặc thấp hơn, 2 x 10^{-9} M hoặc thấp hơn, 1 x 10^{-9} M hoặc thấp hơn, 8 x 10^{-10} M hoặc thấp hơn, 5 x 10^{-10} M hoặc thấp hơn, 4 x 10^{-10} M hoặc thấp hơn, 3 x 10^{-10} M hoặc thấp hơn, 2 x 10^{-10} M hoặc thấp hơn, 1 x 10^{-10} M hoặc thấp hơn, 8 x 10^{-11} M hoặc thấp hơn, 5 x 10^{-11} M hoặc thấp hơn, 4 x 10^{-11} M hoặc thấp hơn, 3 x 10^{-11} M hoặc thấp hơn, 2 x 10^{-11} M hoặc thấp hơn, 1 x 10^{-11} M hoặc thấp hơn, 8 x 10^{-12} M hoặc thấp hơn, 5 x 10^{-12} M hoặc thấp hơn, 4 x 10^{-12} M hoặc thấp hơn, 3 x 10^{-12} M hoặc thấp hơn, 2 x 10^{-12} M hoặc thấp hơn, hoặc 1 x 10^{-12} M hoặc thấp hơn.

Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế tốt hơn là có giá trị KD đối với GPC3 của người và phức hợp thụ thể tế bào T của người (ví dụ, chuỗi CD3ε của người) lần lượt là 5 x 10^{-9} M hoặc thấp hơn và 2 x 10^{-7} M hoặc thấp hơn, và tốt hơn nữa là lần lượt là 1 x 10^{-9} M hoặc thấp hơn và 5 x 10^{-8} M hoặc thấp hơn.

Theo sáng chế, vùng biến đổi kháng thể "tương đương về mặt chức năng" không bị giới hạn cụ thể miễn là chúng là vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể và/hoặc vùng biến đổi chuỗi L của kháng thể đáp ứng các điều kiện nêu trên. Ví dụ về vùng biến đổi kháng thể này bao gồm vùng được tạo ra bằng cách đưa đoạn thế, xóa, bổ sung và/hoặc cài xen một hoặc nhiều axit amin (ví dụ, 1, 2, 3, 4, 5, hoặc 10 axit amin) vào trình tự axit amin của vùng biến đổi nêu trong các bảng 1 đến 3 ở trên. Phương pháp đưa một hoặc nhiều đoạn thế, xóa, bổ sung và/hoặc cài xen axit amin vào trình tự axit amin đã

biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này là phương pháp đưa các đột biến vào protein. Ví dụ, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể tạo ra vùng biến đổi tương đương về mặt chức năng với vùng biến đổi kháng thể có các chức năng nêu trên bằng cách đưa thích hợp các đột biến vào trình tự axit amin sử dụng các phương pháp như gây đột biến định hướng điểm (Hashimoto-Gotoh, T., Mizuno, T., Ogasahara, Y., và Nakagawa, M. (1995) An oligodeoxyribonucleotide-directed dual amber method for site-directed mutagenesis. Gene 152, 271-275; Zoller, M.J., và Smith, M. (1983) Oligonucleotide-directed mutagenesis of DNA fragments cloned into M13 vectors. Methods Enzymol. 100, 468-500; Kramer, W., Drutsa, V., Jansen, H.W., Kramer, B., Pflugfelder, M., và Fritz, H.J. (1984) The gapped duplex DNA approach to oligonucleotide-directed mutation construction. Nucleic Acids Res. 12, 9441-9456; Kramer, W., và Fritz, H.J. (1987) Oligonucleotide-directed construction of mutations *via* gapped duplex DNA Methods. Enzymol. 154, 350-367; và Kunkel, T.A. (1985) Rapid and efficient site-specific mutagenesis without phenotypic selection. Proc Natl Acad. Sci. U S A. 82, 488-492).

Khi gốc axit amin được thay đổi, axit amin tốt hơn là được gây đột biến thành (các) axit amin khác nhau mà vẫn bảo toàn tính chất của axit amin mạch bên như được nêu ở trên. Ví dụ về tính chất của axit amin mạch bên là: axit amin kỵ nước (A, I, L, M, F, P, W, Y, và V), axit amin ưa nước (R, D, N, C, E, Q, G, H, K, S, và T), axit amin chứa mạch bên béo (G, A, V, L, I, và P), axit amin chứa mạch bên chứa nhóm hydroxyl (S, T, và Y), axit amin chứa mạch bên chứa nguyên tử lưu huỳnh (C và M), axit amin chứa mạch bên chứa axit carboxylic và amit (D, N, E, và Q), axit amin chứa mạch bên bazơ (R, K, và H), và axit amin chứa mạch bên thơm (H, F, Y, và W) (axit amin được thể hiện bằng mã một chữ cái trong dấu ngoặc đơn). Các đoạn thế axit amin trong mỗi trong số các nhóm này được gọi là đoạn thế bảo toàn. Đã biết rằng polypeptit chứa trình tự axit amin biến đổi trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin trong trình tự axit amin xác định được xóa, bổ sung, và/hoặc thế bằng các axit amin khác có thể vẫn giữ được hoạt tính sinh học ban đầu (Mark, D. F. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA; (1984) 81: 5662-6; Zoller, M. J. và Smith, M., Nucleic Acids Res. (1982) 10: 6487-500; Wang, A. *et al.*, Science (1984) 224: 1431-3; Dalbadie-McFarland, G. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1982) 79: 6409-13). Vùng biến đổi theo sáng chế chứa các biến đổi axit amin này có độ đồng nhất trình tự axit amin là ít nhất 70%, tốt hơn nữa là ít nhất 75%, thậm chí tốt

hơn nữa là ít nhất 80%, còn tốt hơn nữa là ít nhất 85%, vẫn tốt hơn nữa là ít nhất 90%, và tốt nhất là ít nhất 95%, với trình tự axit amin của trình tự CDR, trình tự FR, hoặc toàn bộ vùng biến đổi của vùng biến đổi trước khi biến đổi. Trong bản mô tả, độ đồng nhất trình tự được định nghĩa là phần trăm các gốc giống với các gốc trong trình tự axit amin ban đầu của vùng biến đổi chuỗi H hoặc vùng biến đổi chuỗi L được xác định sau khi sắp thẳng trình tự, và các khoảng trống được đưa vào thích hợp để tối đa hóa độ đồng nhất trình tự khi cần. Độ đồng nhất của trình tự axit amin có thể được xác định bằng phương pháp nêu dưới đây.

Ngoài ra, "vùng biến đổi kháng thể tương đương về mặt chức năng" có thể thu được, ví dụ, từ các axit nucleic lai dưới điều kiện nghiêm ngặt với axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của vùng biến đổi trong các bảng từ 1 đến 3 nêu trên. Điều kiện lai nghiêm ngặt để phân lập axit nucleic lai ở điều kiện nghiêm ngặt với axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của vùng biến đổi bao gồm, ví dụ, các điều kiện gồm ure 6M, SDS 0,4%, 0,5x SSC, và 37°C, hoặc các điều kiện lai với mức độ nghiêm ngặt tương đương với điều kiện này như được nêu ở trên. Việc tách axit nucleic có đồng đồng nhất cao hơn nhiều có thể được mong dợi với các điều kiện nghiêm ngặt hơn, ví dụ, các điều kiện là ure 6M, SDS 0,4%, 0,1x SSC, và 42°C. Điều kiện rửa sau khi lai là, ví dụ, rửa bằng cách sử dụng 0,5x SSC (1x SSC là NaCl 0,15M và natri xitrat 0,015M ở pH=7,0) và SDS 0,1% ở 60°C, tốt hơn nữa là rửa bằng cách sử dụng 0,2x SSC và SDS 0,1% ở 60°C, thậm chí tốt hơn nữa là rửa bằng cách sử dụng 0,2x SSC và SDS 0,1% ở 62°C, còn tốt hơn nữa là rửa bằng cách sử dụng 0,2x SSC và SDS 0,1% ở 65°C, và còn tốt hơn nữa là rửa bằng cách sử dụng 0,1x SSC và SDS 0,1% ở 65°C như được nêu ở trên. Trình tự của axit nucleic sau khi phân lập có thể được xác định bằng các phương pháp đã biết được nêu dưới đây. Độ tương đồng toàn bộ trình tự nucleotit của axit nucleic sau khi phân lập là ít nhất 50% hoặc cao hơn, tốt hơn là 70% hoặc cao hơn, và tốt hơn nữa là 90% hoặc cao hơn (ví dụ, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc cao hơn) độ đồng nhất trình tự.

Axit nucleic lai ở điều kiện nghiêm ngặt với axit nucleic chứa trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của vùng biến đổi cũng có thể được phân lập bằng cách sử dụng, thay cho các phương pháp sử dụng kỹ thuật lai nêu trên, phương pháp khuếch đại gen như phản ứng chuỗi polymeraza (PCR) sử dụng đoạn mồi được tổng hợp dựa trên thông tin về trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin vùng biến đổi.

Độ đồng nhất của một trình tự nucleotit hoặc trình tự axit amin với một trình tự nucleotit hoặc trình tự axit amin khác có thể được xác định sử dụng thuật toán BLAST, bởi Karlin và Altschul (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1993) 90: 5873-7) như được nêu ở trên. Các chương trình như BLASTN và BLASTX được phát triển dựa trên thuật toán này (Altschul *et al.*, J. Mol. Biol. (1990) 215: 403-10). Để phân tích trình tự nucleotit theo BLASTN dựa trên BLAST, các thông số được cài đặt là, ví dụ, điểm số = 100 và độ dài từ = 12. Mặt khác, các thông số được dùng để phân tích trình tự axit amin bởi BLASTX dựa trên BLAST bao gồm, ví dụ, điểm số = 50 và độ dài từ = 3. Các thông số mặc định với từng chương trình được sử dụng khi sử dụng các chương trình BLAST và Gapped BLAST. Các kỹ thuật cụ thể cho các phân tích này đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này (xem trang web của Trung tâm Thông tin Sinh học Quốc gia (National Center for Biotechnology Information-NCBI), công cụ tìm kiếm sắp thẳng Basic Local Alignment Search Tool (BLAST); http://www.ncbi.nlm.nih.gov).

Việc kết hợp vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T như được bao gồm trong phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu được bao gồm trong chất chống ung thư hoặc dược phẩm theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể miễn là nó có các hoạt tính nêu trên. Tuy nhiên, theo sáng chế, hoạt tính gây độc tế bào của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu tốt hơn là tương đương với hoặc lớn hơn hoạt tính gây độc tế bào kháng thể GPC3_ERY22_rCE115 đặc hiệu kép được nêu trong ví dụ tham khảo 3. Ở đây, thuật ngữ "tương đương" không cần thiết phải mang nghĩa là có cùng mức hoạt tính như nêu trên, và hoạt tính này có thể được tăng cường. Tương đương với GPC3_ERY22_rCE115 nghĩa là, ví dụ, khi giá trị (tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào/tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (GPC3_ERY22_rCE115)) so với tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào của GPC3_ERY22_rCE115 (tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (GPC3_ERY22_rCE115)) là 0,7 hoặc lớn hơn, tốt hơn là bằng 0,8 hoặc lớn hơn, 0,9 hoặc lớn hơn, 1,0 hoặc lớn hơn, 1,2 hoặc lớn hơn, 1,5 hoặc lớn hơn, 2 hoặc lớn hơn, 3 hoặc lớn hơn, 5 hoặc lớn hơn, 10 hoặc lớn hơn, hoặc 20 hoặc lớn hơn. Mặc dù không có giới hạn trên, giá trị này có thể là, ví dụ, 10, 10^2, 10^3, 10^4, 10^5, hoặc 10^6. Nồng độ của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu thêm vào có thể được xác định thích hợp, nhưng tốt hơn là, ví dụ, 0,01nM, 0,05nM, 0,1nM, 0,5nM, hoặc 1nM; và tốt hơn là, nồng độ đo được lấy ở 0,05nM hoặc 0,1nM.

Ngoài ra, ví dụ bao gồm trường hợp trong đó giá trị (nồng độ ức chế 50% sự tăng sinh của tế bào/nồng độ ức chế 50% sự tăng sinh của tế bào (GPC3_ERY22_rCE115)) thu được khi so sánh với nồng độ ức chế 50% sự tăng sinh của các tế bào GPC3_ERY22_rCE115 (nồng độ ức chế 50% sự tăng sinh của tế bào (GPC3_ERY22_rCE115)) bằng 1,5 hoặc thấp hơn. Giá trị "nồng độ ức chế 50% sự phát triển của tế bào/nồng độ ức chế 50% sự tăng sinh của tế bào (GPC3_ERY22_rCE115)" tốt hơn là bằng 1,3 hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa là 1,2 hoặc thấp hơn, 1,1 hoặc thấp hơn, 1,0 hoặc thấp hơn, 0,9 hoặc thấp hơn, 0,8 hoặc thấp hơn, 0,7 hoặc thấp hơn, 0,6 hoặc thấp hơn, hoặc 0,5 hoặc thấp hơn. Mặc dù không có giới hạn dưới, giá trị này có thể là, ví dụ, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, hoặc 10^{-6}. Cụ thể, giá trị này tốt hơn là nằm trong khoảng từ 10^{-6} đến $1,5 \times 10^{-0}$, tốt hơn nữa là 10^{-6} đến 10^{-1}, thậm chí tốt hơn nữa là từ 10^{-6} đến 10^{-2}, và còn tốt hơn nữa là từ 10^{-6} đến 10^{-3}.

Giá trị KD cụ thể được ưu tiên đối với GPC3 của người và phức hợp thụ thể tế bào T của người (ví dụ, chuỗi CD3ε của người) cũng được chỉ ra ở trên. Các tế bào mong muốn thể hiện sự biểu hiện GPC3 hoặc mô mong muốn chứa các tế bào này có thể được sử dụng cho các tế bào, và ví dụ, PC-10 hoặc NCI-H446 là dòng tế bào ung thư của người biểu hiện GPC3 có thể được sử dụng.

Ví dụ về sự kết hợp của vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T như vậy, bao gồm các kết hợp của vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể được nêu trong bảng 4, các kết hợp của vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể có trình tự CDR mà trình tự axit amin CDR1, CDR2, và CDR3 của nó giống với trình tự axit amin CDR1, CDR2, và CDR3 được mang bởi vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể nêu trong bảng 4, và các kết hợp của vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể tương đương về mặt chức năng với các vùng biến đổi này. Ở đây, "tương đương về mặt chức năng" có cùng nghĩa như được nêu ở trên.

Bảng 4

Phía GPC3/phía phức hợp thụ thể tế bào T	SEQ ID NO:
H0000/hCE115HA	40/52
H0000/CE115HA251	40/500
H0000/CE115HA236	40/429
H0000/TR01H002	40/421
H0000/CE115HA122	40/426
H0610/rCE115H	215/424
H0610/TR01H040	215/103
H0610/TR01H061	215/122
H0610/TR01H068	215/129
H0610/TR01H071	215/132
GCH054/TR01H067	197/128
GCH094/TR01H082	211/142
GCH094/TR01H084	211/144
GCH065/TR01H084	206/144
GCH065/TR01H082	206/142
GCH094/TR01H109	211/164
GCH065/TR01H109	206/164
GCH094/TR01H113	211/168
GCH065/TR01H113	206/168

Chuỗi L chung được ưu tiên đối với các kết hợp của vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T bao gồm, ví dụ, L0000, L0011, L0201, L0203, L0204, L0206, L0208, L0209, L0211, L0212, L0222, và chuỗi L chung có trình tự CDR (trình tự axit amin CDR1, CDR2, và CDR3) giống với trình tự axit amin CDR1, CDR2, và CDR3 như trong chuỗi L chung nêu trên. Các kết hợp cụ thể bao gồm, ví dụ, các kết hợp của vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể và chuỗi L chung nêu trong bảng 5, các kết hợp của vùng biến đổi kháng thể có trình tự CDR (trình tự axit amin CDR1, CDR2, và CDR3) giống với trình tự axit amin của CDR1, CDR2, và CDR3 được mang bởi vùng biến đổi kháng thể và chuỗi L chung nêu trong bảng 5, và các kết hợp của vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể và chuỗi L chung tương đương về mặt chức năng với các vùng biến đổi này. Ở đây, "tương đương về mặt chức năng" có cùng nghĩa như nêu ở trên.

Bảng 5

Phía GPC3/phía phức hợp thụ thể tế bào T/chuỗi L chung	SEQ ID NO:
H0610/rCE115H/L0000	215/424/53
H0610/TR01H040/L0000	215/103/53
H0610/TR01H040/L0201	215/103/299
H0610/TR01H040/L0203	215/103/301
H0610/TR01H040/L0204	215/103/302
H0610/TR01H040/L0206	215/103/304
H0610/TR01H040/L0208	215/103/306
H0610/TR01H040/L0209	215/103/307
H0610/TR01H040/L0211	215/103/309
H0610/TR01H061/L0000	215/122/53
H0610/TR01H068/L0000	215/129/53
H0610/TR01H071/L0000	215/132/53
GCH054/TR01H067/L0201	197/128/299
GCH054/TR01H067/L0212	197/128/310
GCH054/TR01H067/L0222	197/128/319
GCH054/TR01H067/L0000	197/128/53
GCH094/TR01H082/L0201	211/142/299
GCH094/TR01H082/L0011	211/142/223
GCH094/TR01H084/L0011	211/144/223
GCH065/TR01H084/L0011	206/144/223
GCH065/TR01H082/L0011	206/142/223
GCH094/TR01H109/L0011	211/164/223
GCH065/TR01H109/L0011	206/164/223
GCH094/TR01H113/L0011	211/168/223
GCH065/TR01H113/L0011	206/168/223

Vùng Fc được bao gồm trong phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu được bao gồm trong chất chống ung thư hoặc dược phẩm theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể miễn là nó là vùng Fc có hoạt tính liên kết thụ thể Fcγ bị giảm, nhưng ví dụ về vùng Fc được ưu tiên theo sáng chế bao gồm sự kết hợp của phần vùng Fc của E22Hh và phần vùng Fc của E22Hk, sự kết hợp của phần vùng Fc của E2702GsKsc và phần vùng Fc của E2704sEpsc, và sự kết hợp của phần vùng Fc của E2702sKsc và phần vùng Fc của E2704sEpsc.

Ví dụ về phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu ưu tiên được bao gồm trong chất chống ung thư hoặc dược phẩm theo sáng chế bao gồm các kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi kháng

thể có hoạt tính liên kết CD3ε. Tốt hơn nữa là, hoạt tính gây độc tế bào là bằng hoặc lớn hơn hoạt tính gây độc tế bào của kháng thể đặc hiệu kép GPC3_ERY22_rCE115. Ví dụ về các kháng thể đặc hiệu kép này bao gồm các kháng thể đặc hiệu kép chứa chuỗi H và L được nêu trong bảng 17, và các kháng thể đặc hiệu kép liên kết với epitop xếp chồng lên lên epitop được liên kết bởi các kháng thể nêu trên, và chứa vùng Fc có hoạt tính liên kết thụ thể Fcγ giảm.

Việc kháng thể có nhận diện được epitop xếp chồng lên epitop được nhận diện bởi kháng thể khác hay không có thể được xác nhận bằng sự cạnh tranh epitop giữa hai kháng thể. Sự canh tranh giữa các kháng thể có thể được đánh giá bằng thử nghiệm liên kết cạnh tranh sử dụng các cách thức như thử nghiệm hấp thu miễn dịch liên kết enzym (enzyme-linked immunosorbent assay-ELISA), phương pháp chuyển năng lượng huỳnh quang (fluorescence energy transfer-FRET), và kỹ thuật phân tích vi thể tích đo huỳnh quang (fluorometric microvolume assay technology-FMAT (nhãn hiệu đã đăng ký)). Lượng kháng thể liên kết với kháng nguyên có liên quan gián tiếp đến khả năng liên kết của kháng thể cạnh tranh theo sáng chế (kháng thể thử nghiệm) liên kết cạnh tranh với epitop xếp chồng. Nói cách khác, khi lượng hoặc ái tính của kháng thể thử nghiệm đối với epitop xếp chồng tăng lên, lượng kháng thể liên kết với kháng nguyên sẽ giảm xuống, và lượng kháng thể thử nghiệm liên kết kháng nguyên tăng. Cụ thể, kháng thể được đánh dấu thích hợp và kháng thể được đánh giá được bổ sung đồng thời vào kháng nguyên, và kháng thể sau khi liên kết được phát hiện sử dụng nhãn đánh dấu. Lượng kháng thể liên kết kháng nguyên có thể được xác định dễ dàng bằng cách đánh dấu kháng thể biết trước. Nhãn đánh dấu không bị giới hạn cụ thể, và phương pháp đánh dấu được chọn theo kỹ thuật phân tích được sử dụng. Cụ thể, phương pháp đánh dấu bao gồm đánh dấu huỳnh quang, đánh dấu phóng xạ, đánh dấu enzym, và phương pháp tương tự.

Ví dụ, kháng thể được đánh dấu huỳnh quang và kháng thể không được đánh dấu hoặc kháng thể thử nghiệm được bổ sung đồng thời vào các hạt được cố định bằng GPC3 hoặc CD3ε, và kháng thể được đánh dấu được phát hiện bằng công nghệ thử nghiệm vi thể tích đo huỳnh quang.

Trong bản mô tả, "kháng thể liên kết với epitop xếp chồng" chỉ kháng thể thử nghiệm có thể làm giảm lượng kháng thể đánh dấu được liên kết ít nhất 50% ở nồng độ mà thường cao hơn 100 lần, tốt hơn là cao hơn 80 lần, tốt hơn nữa là cao hơn 50 lần,

thậm chí tốt hơn nữa là cao hơn 30 lần, và còn tốt hơn nữa là cao hơn 10 lần so với nồng độ tại đó kháng thể không được đánh dấu giảm 50% lượng kháng thể đánh dấu được liên kết (IC_{50}).

Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu, có vị trí liên kết kháng nguyên của các kháng thể liên kết với epitop xếp chồng với các epitop được liên kết bởi các kháng thể nêu trên, có thể tạo ra hoạt tính gây độc tế bào cao.

Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế được tạo ra bởi cùng kỹ thuật như phương pháp tạo ra các kháng thể tái tổ hợp nêu trên.

Liệu pháp kết hợp và dược phẩm

Theo phương án không giới hạn của sáng chế, liệu pháp kết hợp theo sáng chế cung cấp phương pháp phá hủy tế bào để ức chế sự tăng sinh tế bào, hoạt hóa tính miễn dịch đối với các tế bào ung thư hoặc mô khối u chứa tế bào ung thư, để điều trị ung thư, hoặc để ngăn ngừa ung thư, mỗi trong số các phương pháp này bao gồm bước sử dụng lượng hiệu quả của kháng thể đặc hiệu kép nêu trên và chất chống ung thư khác. Theo một số phương án, liệu pháp kết hợp theo sáng chế có hiệu quả cao trong việc phá hủy tế bào, ức chế sự tăng sinh tế bào, hoạt hóa tính miễn dịch đối với các tế bào ung thư hoặc mô khối u chứa tế bào ung thư, điều trị ung thư, hoặc ngăn ngừa ung thư, so với liệu pháp đơn sử dụng kháng thể đặc hiệu kép nêu trên hoặc chất chống ung thư khác. Theo phương án khác, liệu pháp kết hợp theo sáng chế có tác dụng hiệp đồng hoặc tác dụng cộng gộp đối với việc phá hủy tế bào, ức chế sự tăng sinh tế bào, hoạt hóa tính miễn dịch đối với các tế bào ung thư hoặc mô khối u chứa tế bào ung thư, điều trị ung thư, hoặc ngăn ngừa ung thư.

Theo một số phương án, thuật ngữ "lượng hữu hiệu" theo sáng chế chỉ liều của kháng thể đặc hiệu kép nêu trên và/hoặc chất chống ung thư khác có hiệu quả điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh ở cá thể. Bệnh không bị giới hạn cụ thể nhưng tốt hơn là bệnh ung thư.

Theo một số phương án, "sự điều trị/điều trị/trị liệu" theo sáng chế nghĩa là liệu pháp kết hợp theo sáng chế làm giảm số lượng tế bào ung thư ở cá thể, ức chế sự tăng sinh tế bào, giảm kích thước khối u, ức chế sự thấm của tế bào ung thư vào các cơ quan ngoại biên, ức chế sự di căn của tế bào ung thư, hoặc làm giảm nhiều triệu chứng khác nhau gây ra bởi ung thư. Ngoài ra, theo một số phương án, "sự ngăn ngừa/để ngăn

ngừa/phòng ngừa" theo sáng chế chỉ việc ngăn sự tăng tế bào ung thư do phục hồi quần thể tế bào ung thư đã giảm, ngăn sự phục hồi quần thể tế bào ung thư có sự tăng sinh bị ức chế, và ngăn kích thước khối u đã giảm to trở lại.

Theo một số phương án, liệu pháp kết hợp theo sáng chế cung cấp phương pháp tăng cường tác dụng điều trị hoặc phòng ngừa của chất chống ung thư khác bằng cách sử dụng kháng thể đặc hiệu kép nêu trên, trong việc điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh ung thư bằng chất chống ung thư khác. Theo phương án khác, liệu pháp kết hợp theo sáng chế cung cấp phương pháp tăng cường tác dụng điều trị hoặc phòng ngừa của kháng thể đặc hiệu kép nêu trên bằng cách sử dụng chất chống ung thư khác, trong việc điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh ung thư bằng kháng thể đặc hiệu kép. Ở đây, sự tăng cường tác dụng điều trị hoặc phòng ngừa chỉ, ví dụ, sự tăng tỷ lệ hiệu quả của việc điều trị, giảm lượng chất chống ung thư sử dụng trong điều trị, và/hoặc rút ngắn giai đoạn điều trị bằng chất chống ung thư, nhưng không giới hạn ở đó. Theo phương án khác, liệu pháp kết hợp theo sáng chế cung cấp phương pháp kéo dài thời gian sống mà bệnh không tiến triển, phương pháp bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu của kháng thể đặc hiệu kép nêu trên và chất chống ung thư khác.

Theo một số phương án, liệu pháp kết hợp theo sáng chế bao gồm việc sử dụng kháng thể đặc hiệu kép nêu trên và chất chống ung thư khác. Kháng thể đặc hiệu kép và chất chống ung thư khác có thể được sử dụng bởi phương pháp thích hợp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực. Ví dụ, kháng thể đặc hiệu kép và chất chống ung thư khác có thể được sử dụng song song (nghĩa là, đồng thời) hoặc lần lượt (nghĩa là, ở các thời điểm khác nhau). Theo một số phương án, khi kháng thể đặc hiệu kép và chất chống ung thư khác được sử dụng lần lượt (nghĩa là, ở các thời điểm khác nhau), khoảng thời gian giữa lần sử dụng kháng thể đặc hiệu kép và chất chống ung thư khác không bị giới hạn cụ thể và khoảng thời gian này có thể được xác định bằng cách xem xét các yếu tố như đường dùng và dạng liều lượng. Khoảng thời gian này, ví dụ, từ 0 đến 168 giờ, tốt hơn là từ 0 đến 72 giờ, tốt hơn nữa là từ 0 đến 24 giờ, và còn tốt hơn nữa là từ 0 đến 12 giờ, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép khác và chất chống ung thư khác được sử dụng đồng thời. Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép được sử dụng với các khoảng nghỉ (nghĩa là, gián đoạn). Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép được sử dụng trước khi sử dụng chất chống ung thư khác. Theo một số phương

án, kháng thể đặc hiệu kép được sử dụng sau khi sử dụng chất chống ung thư khác.

Theo một số phương án, chất chống ung thư khác được sử dụng với các khoảng nghỉ (nghĩa là, gián đoạn). Theo một số phương án, chất chống ung thư được sử dụng trước khi sử dụng kháng thể đặc hiệu kép. Theo một số phương án, chất chống ung thư khác được sử dụng sau khi sử dụng kháng thể đặc hiệu kép.

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép nêu trong bản mô tả và chất chống ung thư đã biết hoặc được nêu trong bản mô tả có thể được sử dụng trong các liệu pháp kết hợp nêu trên bằng cách sử dụng kháng thể đặc hiệu kép và chất chống ung thư khác.

Theo một số phương án, liệu pháp bổ sung có thể được thực hiện ngoài các liệu pháp kết hợp bằng cách sử dụng kháng thể đặc hiệu kép nêu trên và chất chống ung thư khác. Theo một số phương án, liệu pháp thêm vào liệu pháp kết hợp theo sáng chế có thể bao gồm việc sử dụng bổ sung kháng thể đặc hiệu kép và/hoặc chất chống ung thư khác.

Phương án không giới hạn theo sáng chế cung cấp chất gây độc tính tế bào, chất ức chế sự tăng sinh tế bào (chất kìm hãm sự tăng sinh tế bào), chất hoạt hóa đáp ứng miễn dịch đối với tế bào ung thư hoặc mô khối u chứa tế bào ung thư, chất điều trị ung thư, và chất ngăn ngừa ung thư (dưới đây, được gọi là dược phẩm và tương tự), mỗi chất chứa kháng thể đặc hiệu kép nêu trên, chất chống ung thư khác, hoặc hỗn hợp của kháng thể đặc hiệu kép và chất chống ung thư khác. Theo một số phương án, dược phẩm và chế phẩm tương tự theo sáng chế có thể được sử dụng trong liệu pháp kết hợp theo sáng chế. Theo một số phương án, dược phẩm và chất tương tự theo sáng chế có hiệu quả cao trong việc phá hủy tế bào, ức chế sự tăng sinh tế bào, hoạt hóa tính miễn dịch đối với tế bào ung thư hoặc mô khối u chứa tế bào ung thư, điều trị ung thư, hoặc ngăn ngừa ung thư do việc sử dụng kết hợp kháng thể đặc hiệu kép nêu trên và chất chống ung thư khác, so với liệu pháp đơn sử dụng kháng thể đặc hiệu kép hoặc chất chống ung thư khác. Theo phương án khác, dược phẩm theo sáng chế có tác dụng hiệp đồng hoặc tác dụng bổ sung đối với việc phá hủy tế bào, ức chế sự tăng sinh tế bào, hoạt hóa tính miễn dịch đối với tế bào ung thư hoặc mô khối u chứa tế bào ung thư, điều trị ung thư, hoặc ngăn ngừa ung thư do việc sử dụng kết hợp kháng thể đặc hiệu kép nêu trên và chất chống ung thư khác.

Theo một số phương án, dược phẩm và chế phẩm tương tự theo sáng chế "chứa hỗn hợp kháng thể đặc hiệu kép và chất chống ung thư khác" chỉ dược phẩm và chế phẩm tương tự trong đó kháng thể đặc hiệu kép nêu trên và chất chống ung thư khác được kết hợp để sử dụng đồng thời, riêng rẽ, hoặc sử dụng lần lượt trong điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh. Ví dụ, dược phẩm và chế phẩm tương tự theo sáng chế có thể được cung cấp ở dạng chế phẩm kết hợp chứa cả kháng thể đặc hiệu kép và chất chống ung thư khác. Theo cách khác, ví dụ, ở dạng dược phẩm và chế phẩm tương tự theo sáng chế, dược chất chứa kháng thể đặc hiệu kép và dược chất chứa chất chống ung thư khác có thể được cung cấp riêng rẽ, và các dược chất này có thể được sử dung đồng thời hoặc lần lượt. Bệnh này không bị giới hạn cụ thể nhưng tốt hơn là bệnh ung thư.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất dược phẩm và chế phẩm tương tự để sử dụng kết hợp với chất chống ung thư khác, dược phẩm này chứa kháng thể đặc hiệu kép nêu trên dưới dạng thành phần hoạt tính.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất dược phẩm và chế phẩm tương tự để sử dụng kết hợp với kháng thể đặc hiệu kép nêu trên, dược phẩm này chứa chất chống ung thư khác dưới dạng thành phần hoạt tính.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất dược phẩm và chế phẩm tương tự để tăng cường tác dụng trị liệu của chất chống ung thư khác trong điều trị ung thư bằng chất chống ung thư khác đã nêu, bằng cách sử dụng kháng thể đặc hiệu kép nêu trên kết hợp với chất chống ung thư khác đã nêu.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất dược phẩm và chế phẩm tương tự để tăng cường tác dụng trị liệu của kháng thể đặc hiệu kép nêu trên trong điều trị ung thư bằng kháng thể đặc hiệu kép, bằng cách sử dụng chất chống ung thư khác kết hợp với kháng thể đặc hiệu kép.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể đặc hiệu kép nêu trên và/hoặc chất chống ung thư khác để sản xuất dược phẩm và chế phẩm tương tự chứa kháng thể đặc hiệu kép và/hoặc chất chống ung thư khác làm thành phần hoạt tính.

Theo sáng chế, "chứa kháng thể đặc hiệu kép nêu trên và/hoặc chất chống ung thư khác làm thành phần hoạt tính" nghĩa là "chứa kháng thể đặc hiệu kép và/hoặc chất chống ung thư khác làm thành phần hoạt tính chính", và không giới hạn hàm lượng của kháng thể đặc hiệu kép và/hoặc chất chống ung thư khác.

Theo một số phương án, kháng thể đặc hiệu kép được nêu trong bản mô tả và chất chống ung thư khác đã biết hoặc được nêu trong bản mô tả có thể được sử dụng trong dược phẩm nêu trên và các chế phẩm khác.

Theo phương án không giới hạn của sáng chế, chất chống ung thư khác nêu ở trên bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chất tương tự mù tạt nitơ, các alkyl sulfonat, các etylen imin, các nitrosoure, các epoxit, các chất alkyl hóa khác, chất tương tự axit folic, chất tương tự purin, chất tương tự pyrimidin, các chất chống chuyển hóa, các vinca alkaloit hoặc chất tương tự, các dẫn xuất podophyllotoxin, chất tương tự camptothecan, dẫn xuất colchixin, các taxan, các alkaloit thực vật khác hoặc chất tự nhiên, các actinomyxin, các anthraxyclin hoặc các chất liên quan, chất kháng sinh gây độc tế bào khác, các hợp chất platin, các metylhydrazin, các chất ức chế kinaza, các chất ức chế tạo mạch, chất hormon, chất ức chế enzym biến đổi ADN, chất kích thích miễn dịch, chất ức chế proteasom, enzym, chất ức chế histon deacetylaza, chất ức chế enzym biến đổi ADN, chế phẩm xytokin, các retinoit, chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch, chất ức chế indoleamin 2,3-Dioxygenaza (IDO), chất hoạt hóa phân tử đồng kích thích, chất hoạt hóa tế bào giết tự nhiên, kháng thể đơn dòng, chất nhắm đích phân tử khác, và chất chống ung thư khác. Theo phương án không giới hạn, chất chống ung thư khác theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ví dụ, các kháng thể được mô tả trong WO2015/174439 và WO2015/156268.

Theo một số phương án, "điểm kiểm soát miễn dịch" theo sáng chế chỉ phân tử được biểu hiện trên tế bào cạnh tranh miễn dịch (bao gồm tế bào T) và liên kết với phối tử để nhờ đó tải nạp lên tế bào cạnh tranh miễn dịch các tín hiệu ức chế đáp ứng miễn dịch. Ví dụ về điểm kiểm soát miễn dịch và phối tử của nó bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các phân tử như PD-1, CTLA-4, TIM3, LAG3, PD-L1, PD-L2, BTNL2, B7-H3, B7-H4, CD48, CD80, 2B4, BTLA, CD160, CD60, CD86, và VISTA. Theo một số phương án, "chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch" theo sáng chế chỉ dược chất ngăn sự liên kết giữa điểm kiểm soát miễn dịch và phối tử của nó, và nhờ đó ngăn sự dẫn truyền tín hiệu được điều tiết bởi điểm kiểm soát miễn dịch.

Phương án không giới hạn của sáng chế đề xuất dược phẩm và chế phẩm tương tự trong đó chất chống ung thư khác là chất hóa trị liệu, chất chủ vận hoạt hóa tế bào T, chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch, hoặc chất ức chế sự tạo mạch.

Theo phương án không giới hạn của sáng chế, chất hóa trị liệu bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chất chống chuyển hóa, các alkaloit thực vật, và hợp chất platin. Ví dụ ưu tiên của chất chống chuyển hóa bao gồm, nhưng không giới hạn ở, enocitabin, capecitabin, carmofur, gemcitabin, cytarabin, tegafur, tegafur uraxil, nelarabin, flouraxil, fludarabin, pemetrexed, pentostatin, và methotrexat. Chất chống chuyển hóa được đặc biệt ưu tiên bao gồm, ví dụ, capecitabin. Ví dụ ưu tiên của alkaloit thực vật bao gồm, nhưng không giới hạn ở, irinotecan, etoposit, sobuzoxan, docetaxel, nogitecan, paclitaxel, vinorelbine, vincristine, vindesine, và vinblastine. Alkaloit thực vật được đặc biệt ưu tiên bao gồm, ví dụ, paclitaxel. Ví dụ ưu tiên của hợp chất platin bao gồm, nhưng không giới hạn ở, oxaliplatin, carboplatin, cisplatin, và nedaplatin. Hợp chất platin được đặc biệt ưu tiên bao gồm, ví dụ, cisplatin.

Theo phương án không giới hạn của sáng chế, chất chủ vận hoạt hóa tế bào T bao gồm, nhưng không giới hạn ở, kháng thể chủ vận siêu họ thụ thể TNF (TNFRSF) và kháng thể chủ vận phân tử đồng kích thích. Phân tử đích của "kháng thể chủ vận siêu họ thụ thể TNF" không bị giới hạn cụ thể miễn là chúng là các yếu tố kích hoạt tế bào biểu hiện siêu họ thụ thể TNF (ví dụ, tế bào T và tế bào NK), nhưng tốt hơn nếu là yếu tố thuộc "siêu họ TNF" hoặc "siêu họ thụ thể TNF". Các yếu tố đã biết thuộc "siêu họ TNF" hoặc "siêu họ thụ thể TNF" bao gồm các phối tử có cấu trúc trime và thụ thể có cấu trúc trime mà phối tử liên kết với nó, góp phần hoạt hóa nhiều tế bào miễn dịch khác nhau (Nat. Rev. Immunol., 2012, 12, 339-51). Các ví dụ về yếu tố thuộc siêu họ TNF hoặc siêu họ thụ thể TNF bao gồm CD137, CD137L, CD40, CD40L, OX40, OX40L, CD27, CD70, HVEM, LIGHT, RANK, RANKL, CD30, CD153, GITR, GITRL, TNFRSF25, và TL1A. Các yếu tố được ưu tiên bao gồm, ví dụ, CD137. Ví dụ về kháng thể chủ vận CD137 bao gồm Urelumab (CAS No. 934823-49-1), PF-05082566, và các kháng thể chủ vận CD137 đã biết khác.

Các yếu tố thuộc phân tử đồng kích thích bao gồm TMIGD2, HHLA2, ICOS, phối tử ICOS, CD28, CD80, CD86, và yếu tố tương tự. Ví dụ về kháng thể chủ vận OX40 bao gồm MOXR0916, MEDI6469, MEDI0562, MEDI6383, PF-04518600, GSK-3174998, và các kháng thể chủ vận OX40 đã biết khác nhau. Ví dụ về kháng thể chủ vận CD40 bao gồm RG-7876, ADC-1013, SEA-CD40, APX005M, Dacetuzumab, và kháng thể chủ vận CD40 đã biết khác nhau. Ví dụ về kháng thể chủ vận GITR bao gồm AMG228, AMK-1248, MK-4166, BMS-986156, TRX518, và kháng thể chủ vận GITR

đã biết khác nhau. Ví dụ về kháng thể chủ vận CD27 bao gồm Varlilumab (CAS No. 1393344-72-3) và kháng thể chủ vận CD27 đã biết khác nhau.

Theo phương án không giới hạn của sáng chế, ví dụ được ưu tiên về chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch bao gồm, nhưng không giới hạn ở, kháng thể PD1, kháng thể PDL1, kháng thể CTLA-4, kháng thể TIM3, và kháng thể LAG3. Ví dụ về kháng thể PD-1 bao gồm Pembrolizumab (CAS No. 1374853-91-4), Nivolumab (CAS No. 946414-94-4), MEDI0680, PDR001, BGB-A317, REGN2810, SHR-1210, PF-06801591, và các kháng thể PD1 đã biết khác. Ví dụ về kháng thể PD-L1 bao gồm Atezolizumab (CAS No. 1380723-44-3), Avelumab (CAS No. 1537032-82-8), Durvalumab (CAS No. 1428935-60-7), MDX-1105, và các kháng thể PD-L1 đã biết khác. Ví dụ về kháng thể CTLA-4 bao gồm Ipilimumab (CAS No. 477202-00-9), Tremelimumab (CAS No. 745013-59-6), và các kháng thể CTLA-4 đã biết khác. Ví dụ về kháng thể TIM3 bao gồm MBG452 và các kháng thể TIM3 đã biết khác. Ví dụ về kháng thể LAG3 bao gồm BMS-986016, LAG525, và các kháng thể LAG3 đã biết khác.

Theo phương án không giới hạn của theo sáng chế, ví dụ ưu tiên về chất ức chế sự tạo mạch bao gồm, nhưng không giới hạn ở, kháng thể VEGFR2. Ví dụ về chất ức chế sự tạo mạch bao gồm Bevacizumab, Sorafenib, Everolimus, Temsirolimus, và các chất ức chế sự tạo mạch đã biết khác.

Theo một số phương án, chất chống ung thư khác theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể và chất chống ung thư bất kỳ có thể được sử dụng miễn là, khi được sử dụng kết hợp với kháng thể đặc hiệu kép theo sáng chế, tác dụng điều trị hoặc tác dụng phòng ngừa của chất chống ung thư khác được tăng cường hoặc tác dụng điều trị hoặc tác dụng phòng ngừa của kháng thể đặc hiệu kép được tăng cường.

Theo phương án không giới hạn của sáng chế, liệu pháp kết hợp theo sáng chế có thể bao gồm kháng thể đặc hiệu kép nêu trên và ít nhất một chất điều trị khác, chất điều biến miễn dịch, vắcxin ung thư dùng trong trị liệu, liệu pháp tế bào T nuôi, rút cạn Treg, hoặc tương tự, nhưng liệu pháp này không bị giới hạn cụ thể. Vắcxin điều trị ung thư được ưu tiên bao gồm, nhưng không giới hạn ở, toàn bộ vắcxin tế bào khối u, vắcxin kháng nguyên khối u, vắcxin gốc vectơ, vắcxin virut hủy u, và vắcxin tế bào hình cây. Liệu pháp đa mô thức có thể được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp phẫu thuật, điều trị chiếu xạ, hoặc kết hợp các phương pháp này, ngoài các liệu pháp nêu trên.

Theo phương án không giới hạn của sáng chế, liệu pháp kết hợp theo sáng chế có thể được thực hiện bằng cách sử dụng kháng thể đặc hiệu kép nêu trên kết hợp với liệu pháp xytokin sử dụng xytokin làm chất tăng cường đáp ứng miễn dịch kháng khối u. Trong liệu pháp này, xytokin bao gồm, nhưng không giới hạn ở, IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, IL-21, IL-23, IL-27, GM-CSF, interferon-α (IFNα), IFNα-2b, IFNβ, và IFNγ.

Phương án không giới hạn của theo sáng chế đề xuất chất gây độc tế bào, chất ức chế sự tăng sinh tế bào, chất kìm hãm sự tăng sinh tế bào, chất hoạt hóa đáp ứng miễn dịch, chất điều trị ung thư, và chất ngăn ngừa ung thư, mỗi chất này chứa dược phẩm nêu trên.

Theo một số phương án, "cá thể" được cho sử dụng kháng thể đặc hiệu kép nêu trên và/hoặc chất chống ung thư khác chỉ người hoặc động vật không phải người, ví dụ, động vật có vú như gia súc, ngựa, chó, cừu, hoặc mèo. Cá thể tốt hơn nếu là người. Cá thể này bao gồm bệnh nhân (kể cả người và động vật không phải người). Theo một số phương án, cá thể là bệnh nhân có tế bào ung thư hoặc mô khối u chứa tế bào ung thư. Tế bào ung thư hoặc mô khối u chứa tế bào ung thư trở thành đích của chất chống ung thư hoặc liệu pháp kết hợp theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể, miễn là chúng biểu hiện glypican 3. Theo sáng chế, các tế bào biểu hiện glypican 3 được ưu tiên, nghĩa là, các tế bào dương tính với glypican 3, là tế bào ung thư. Loại ung thư được ưu tiên hơn bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ví dụ, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ (H&N), ung thư thực quản, ung thư phổi, ung thư gan, ung thư buồng trứng, ung thư vú, ung thư ruột kết, ung thư thận, ung thư da, khối u cơ, ung thư tụy, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tinh hoàn, ung thư tử cung, ung thư đường mật, caxinom tế bào Merkel, ung thư bàng quang, ung thư tuyến giáp, u bao sợi thần kinh, ung thư thượng thận (tuyến thượng thận), ung thư hậu môn, khối u hệ thần kinh trung ương, khối u mô thần kinh nội tiết, ung thư dương vật, u phế mạc, u tuyến nước bọt, ung thư âm hộ, u tuyến ức, và ung thư ở trẻ em (u Wilm, u nguyên bào thần kinh, sacom, u nguyên bào gan, và u tế bào mầm). Loại ung thư còn được ưu tiên hơn bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ (H&N), ung thư thực quản, ung thư phổi, ung thư gan, ung thư buồng trứng, ung thư vú, ung thư ruột kết, ung thư thận, ung thư da, khối u cơ, ung thư tụy, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tinh hoàn, và ung thư tử cung (Tumori. (2012) 98, 478-484; Tumor Biol. (2015) 36, 4671-4679; Am J Clin Pathol (2008) 130, 224-230; Adv Anat

Pathol (2014) 21, 450-460; Med Oncol (2012) 29, 663-669; Clinical Cancer Research (2004) 10, 6612-6621; Appl Immunohistochem Mol Morphol (2009) 17, 40-46; Eur J Pediatr Surg (2015) 25, 138-144; J Clin Pathol (2011) 64, 587-591; Am J Surg Pathol (2006) 30, 1570-1575; Oncology (2007) 73, 389-394; Diagnostic Pathology (2010) 64, 1-6; Diagnostic Pathology (2015) 34, 1-6; Am J Clin Pathol (2008) 129, 899-906; Virchows Arch (2015) 466, 67-76).

Theo một số phương án, bệnh nhân là những đối tượng đã nhận sự điều trị bằng kháng thể đặc hiệu kép nêu trên và/hoặc một vài loại chất chống ung thư trước khi nhận liệu pháp kết hợp sử dụng kháng thể đặc hiệu kép và chất chống ung thư khác. Theo một số phương án, bệnh nhân là những đối tượng không thể nhận liệu pháp chuẩn hoặc liệu pháp chuẩn không có hiệu quả với những đối tượng đó. Theo một số phương án, bệnh ung thư mà bệnh nhân mắc phải là ở giai đoạn đầu hoặc giai đoạn cuối.

Như được sử dụng trong bản mô tả, "ung thư" không chỉ đề cập đến bệnh ác tính liên quan đến biểu mô như ung thư buồng trứng hoặc ung thư dạ dày mà còn chỉ bệnh ác tính không liên quan đến biểu mô bao gồm các khối u tạo máu như bệnh bạch cầu mãn tính thể lympho hoặc u lympho Hodgkin. Ở đây, thuật ngữ "ung thư", "caxinom", "khối u", "u" và tương tự không khác nhau và có thể thay thế lẫn nhau.

Trong khi đó, theo một số phương án, loại ung thư trở thành đích của chất chống ung thư hoặc dược phẩm (liệu pháp kết hợp) theo sáng chế tốt hơn là loại trong đó số lượng kháng nguyên glypican-3 trên bề mặt tế bào với mỗi tế bào lớn hơn hoặc bằng 100, tốt hơn nữa nếu là loại trong đó số lượng kháng nguyên glypican-3 trên bề mặt tế bào với mỗi tế bào lớn hơn hoặc bằng 200, lớn hơn hoặc bằng 300, lớn hơn hoặc bằng 400, lớn hơn hoặc bằng 500, lớn hơn hoặc bằng 600, lớn hơn hoặc bằng 700, lớn hơn hoặc bằng 800, lớn hơn hoặc bằng 900, lớn hơn hoặc bằng 1000, lớn hơn hoặc bằng 1200, lớn hơn hoặc bằng 1400, lớn hơn hoặc bằng 1600, lớn hơn hoặc bằng 1800, hoặc lớn hơn hoặc bằng 2000, và còn tốt hơn nữa nếu là loại trong đó số lượng kháng nguyên glypican-3 trên bề mặt tế bào với mỗi tế bào lớn hơn hoặc bằng 3000, lớn hơn hoặc bằng 4000, lớn hơn hoặc bằng 5000, lớn hơn hoặc bằng 6000, lớn hơn hoặc bằng 7000, lớn hơn hoặc bằng 8000, lớn hơn hoặc bằng 9000, lớn hơn hoặc bằng 10000, lớn hơn hoặc bằng 20000, lớn hơn hoặc bằng 30000, lớn hơn hoặc bằng 40000, hoặc lớn hơn hoặc bằng 50000.

Số lượng kháng nguyên glypican-3 trên bề mặt tế bào với mỗi tế bào có thể được xác định thích hợp bằng cách sử dụng phương pháp được nêu trong bản mô tả hoặc đã biết với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, bằng cách tính khả năng liên kết kháng thể (ABC) của GPC3 trên bề mặt tế bào với phép đo dòng tế bào sử dụng QIFIKIT (DAKO). Số lượng kháng nguyên glypican-3 trên bề mặt tế bào với mỗi tế bào trong mẫu mô được tách ra từ ứng cử đích có thể được xác định để đánh giá ứng cử đó có thể là đích để sử dụng chất chống ung thư hoặc dược phẩm (liệu pháp kết hợp) theo sáng chế hay không. Khi ở mẫu này số lượng kháng nguyên glypican-3 trên bề mặt tế bào với mỗi tế bào đáp ứng tiêu chuẩn nêu trên, đích từ đó mẫu được thu nhận có thể là đích để sử dụng chất chống ung thư hoặc dược phẩm (liệu pháp kết hợp) theo sáng chế.

Theo phương án không giới hạn của sáng chế, chất chống ung thư theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị cho bệnh nhân mắc ung thư không đáp ứng với việc điều trị bằng chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch. Ví dụ, bệnh nhân mắc ung thư dương tính với glypican 3, ở bệnh nhân này việc sử dụng chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch không thể đạt được hiệu quả thuốc mong muốn, có thể được điều trị bằng chất chống ung thư theo sáng chế. Nói cách khác, ung thư dương tính với glypican 3 đã được điều trị bằng liệu pháp sử dụng chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch có thể được điều trị bằng chất chống ung thư theo sáng chế.

Theo phương án không giới hạn của sáng chế, dược phẩm (liệu pháp kết hợp) theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị cho bệnh nhân mắc ung thư không đáp ứng với việc điều trị bằng chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch. Ví dụ, bệnh nhân mắc ung thư dương tính với GPC, mà ở bệnh nhân này việc sử dụng chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch không thể đạt được hiệu quả thuốc mong muốn, có thể được điều trị bằng dược phẩm (liệu pháp kết hợp) theo sáng chế. Nói cách khác, ung thư dương tính với glypican 3 đã được điều trị bằng liệu pháp sử dụng chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch có thể được điều trị bằng dược phẩm (liệu pháp kết hợp) theo sáng chế. Ví dụ ưu tiên về chất chống ung thư khác được bao gồm trong dược phẩm bao gồm chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch, nhưng không giới hạn ở chất này.

Theo phương án không giới hạn của sáng chế, dược phẩm (liệu pháp kết hợp) theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị cho bệnh nhân mắc ung thư không đáp ứng với việc điều trị bằng chất chống ung thư theo sáng chế. Ví dụ, bệnh nhân mắc ung

thư dương tính với GPC, mà bệnh ung thư của bệnh nhân này kháng lại chất chống ung thư theo sáng chế sau khi sử dụng chất chống ung thư hoặc ở bệnh nhân này việc sử dụng chất chống ung thư theo sáng chế không thể đạt được hiệu quả thuốc mong muốn, có thể được điều trị bằng dược phẩm (liệu pháp kết hợp) theo sáng chế. Nói cách khác, ung thư dương tính với glypican 3 đã được điều trị bằng liệu pháp sử dụng chất chống ung thư theo sáng chế có thể được điều trị bằng dược phẩm (liệu pháp kết hợp) theo sáng chế. Ví dụ ưu tiên về chất chống ung thư khác được bao gồm trong dược phẩm bao gồm chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch, nhưng không giới hạn ở chất này.

Đối với ung thư dương tính với glypican 3 (ung thư xác nhận là biểu hiện glypican 3), người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể kiểm tra thích hợp tính dương với glypican 3 sử dụng phương pháp đã biết với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này như phương pháp nhuộm hóa mô miễn dịch hoặc đo tế bào theo dòng.

Từ góc độ khác, sáng chế đề xuất chất chống ung thư chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu làm thành phần hoạt tính bao gồm: (1) miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3, (2) miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T, và (3) miền chứa vùng Fc có hoạt tính liên kết với thụ thể Fcγ giảm.

Theo sáng chế, "chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu làm thành phần hoạt tính bao gồm: (1) miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3, (2) miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T, và (3) miền chứa vùng Fc có hoạt tính liên kết với thụ thể Fcγ giảm" nghĩa là chứa phân tử liên kết kháng nguyên làm thành phần hoạt tính chính, mà không có giới hạn về tỷ lệ hàm lượng của phân tử liên kết kháng nguyên.

Nếu cần, phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế có thể được bao trong các vi nang (ví dụ, các vi nang được làm từ hydroxymetylxenluloza, gelatin, và poly(metylmetacrylat)), hoặc được kết hợp làm thành phần trong cơ chế phân phối thuốc dạng keo (ví dụ, liposom, các trung thể albumin, vi nhũ tương, hạt nano, và nang nano) (xem, ví dụ, "Remington's Pharmaceutical Science 16th edition", Oslo Ed. (1980)). Các phương pháp bào chế dược chất dưới dạng dược chất giải phóng có kiểm soát đều đã biết, và các phương pháp này có thể được áp dụng cho phân tử liên kết kháng

nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế (J. Biomed. Mater. Res. (1981) 15: 267-277; Chemtech. (1982) 12: 98-105; Patent Mỹ số 3,773,719; công bố đơn sáng chế châu Âu số EP 58,481 và EP 133,988; Biopolymers (1983) 22: 547-556).

Dược phẩm hoặc chất chống ung thư theo sáng chế có thể được sử dụng cho bệnh nhận qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa, và việc sử dụng theo đường ngoài đường tiêu hóa được ưu tiên. Ví dụ cụ thể về phương pháp sử dụng bao gồm tiêm, dùng qua đường mũi, qua phổi, và qua da. Ví dụ về dùng qua đường tiêm bao gồm tiêm tĩnh mạch, tiêm trong cơ, tiêm màng bụng, và tiêm dưới da. Dược phẩm hoặc chất chống ung thư theo sáng chế có thể được sử dụng theo đường toàn thân hoặc khu trú, ví dụ, bằng cách tiêm. Phương pháp sử dụng có thể được chọn phù hợp theo tuổi tác và triệu chứng của bệnh nhân. Liều dùng có thể được chọn trong khoảng từ 0,0001mg đến 1000mg với mỗi kg thể trọng cho một lần sử dụng. Theo cách khác, ví dụ, liều dùng có thể được chọn trong khoảng từ 0,001mg/cơ thể đến 100000mg/cơ thể mỗi bệnh nhân. Liều dùng có thể được xác đinh, ví dụ, ở dạng lượng phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế được bao gồm ở dạng thành phần hoạt tính trong dược phẩm. Tuy nhiên, dược phẩm hoặc chất chống ung thư theo sáng chế không bị giới hạn ở các liều dùng này.

Dược phẩm hoặc chất chống ung thư theo sáng chế có thể được bào chế theo công thức theo phương pháp truyền thống (ví dụ, Remington's Pharmaceutical Science, latest edition, Mark Publishing Company, Easton, U.S.A), và cũng có thể chứa chất mang và chất phụ gia dược dụng. Ví dụ bao gồm, nhưng không giới hạn ở chất hoạt động bề mặt, tá dược, chất tạo màu, chất thơm, chất bảo quản, chất làm ổn định, chất đệm, chất tạo huyền phù, chất tạo đẳng trương, chất liên kết, chất gây rã, chất gây trơn, chất thúc đẩy độ lưu động, và chất tạo mùi vị; và các chất mang thường sử dụng khác có thể được sử dụng thích hợp. Ví dụ cụ thể về chất mang bao gồm axit silixic khan nhẹ, lactoza, xenluloza kết tinh, manitol, tinh bột, carmelloza canxi, carmelloza natri, hydroxypropyl xenluloza, hydroxypropyl metyl xenluloza, polyvinylaxetal dietylaminoaxetat, polyvinylpyrolidon, gelatin, triglyxerit axit béo mạch trung bình, dầu thầu dầu được làm cứng polyoxyetylen 60, saccaroza, carboxymetyl xenluloza, tinh bột bắp, muối vô cơ, và tương tự.

Phương án không giới hạn của sáng chế còn đề xuất phương pháp phá hủy các tế bào biểu hiện kháng nguyên glypican 3 hoặc mô khối u chứa các tế bào biểu hiện

kháng nguyên này, hoặc phương pháp ức chế sự phát triển của các tế bào hoặc mô khối u này bằng cách cho các tế bào biểu hiện kháng nguyên glypican 3 tiếp xúc với phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế liên kết với kháng nguyên. Phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu liên kết với kháng nguyên là như được nêu trên đối với phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế liên kết với kháng nguyên, được bao gồm trong chất chống ung thư theo sáng chế. Các tế bào được liên kết bởi phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế liên kết với kháng nguyên không bị giới hạn cụ thể miễn là chúng là các tế bào biểu hiện kháng nguyên.

Theo sáng chế, việc "tiếp xúc" được tiến hành, ví dụ, bằng cách bổ sung phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế liên kết với kháng nguyên vào môi trường nuôi cấy các tế bào biểu hiện kháng nguyên GPC3 được nuôi cấy *in vitro*. Trong trường hợp này, chất lỏng hoặc chất rắn thu được bằng cách sấy thăng hoa hoặc tương tự có thể được sử dụng thích hợp ở dạng phân tử liên kết kháng nguyên bổ sung và/hoặc chất chống ung thư khác. Khi được bổ sung làm dung dịch nước, nó có thể là dung dịch nước chứa đơn thuần chỉ phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế, hoặc nó có thể là dung dịch chứa cả, ví dụ, chất hoạt động bề mặt, tá dược, chất tạo màu, chất thơm, chất bảo quản, chất làm ổn định, chất đệm, chất tạo huyền phù, chất tạo đẳng trương, chất liên kết, chất gây rã, chất gây trơn, chất thúc đẩy độ lưu động, và chất tạo mùi vị nêu trên. Nồng độ tại đó thực hiện việc bổ sung không bị giới hạn cụ thể, nhưng nồng độ cuối cùng thích hợp trong dung dịch tế bào nuôi cấy tốt hơn là trong khoảng từ 1pg/ml đến 1g/ml, tốt hơn nữa là từ 1ng/ml đến 1mg/ml, và thậm chí tốt hơn nữa là từ 1μg/mL đến 1mg/mL.

Ngoài ra, theo phương án khác, việc "tiếp xúc" theo sáng chế cũng được tiến hành bằng cách sử dụng phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế cho động vật không phải người có các tế bào biểu hiện GPC3 kháng nguyên được cấy vào trong cơ thể của họ, và cho động vật mang các tế bào biểu hiện kháng nguyên bên trong. Phương pháp sử dụng có thể là qua miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa, và dùng ngoài đường tiêu hóa được đặc biệt ưu tiên. Ví dụ cụ thể về phương pháp sử dụng bao gồm tiêm, qua mũi, qua phổi, và qua da. Ví dụ về dùng qua đường tiêm bao gồm tiêm tĩnh mạch, tiêm trong cơ, tiêm màng bụng, và tiêm dưới da. Dược phẩm hoặc chất chống ung thư theo sáng chế có thể được sử dụng theo đường toàn thân hoặc khu trú, ví dụ, thông qua đường tiêm. Phương pháp sử dụng có thể được chọn thích hợp theo độ tuổi và triệu chứng của

động vật thử nghiệm. Khi được dùng làm dung dịch nước, dung dịch nước chứa đơn thuần chỉ phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế có thể được sử dụng hoặc dung dịch chứa cả chất hoạt động bề mặt, tá dược, chất tạo màu, chất thơm, chất bảo quản, chất làm ổn định, chất đệm, chất tạo huyền phù, chất tạo đẳng trương, chất liên kết, chất gây rã, chất gây trơn, chất thúc đẩy độ lưu động, chất tạo mùi vị và chất tương tự nêu trên có thể được sử dụng. Liều dùng có thể được chọn trong khoảng từ 0,0001mg đến 1000mg với mỗi kg thể trọng cho một lần sử dụng. Theo cách khác, ví dụ, liều dùng có thể được chọn trong khoảng từ 0,001mg/cơ thể đến 100000mg/cơ thể mỗi bệnh nhân. Liều này có thể được xác định, ví dụ, là lượng phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế được bao gồm ở dạng thành phần hoạt tính trong dược phẩm. Tuy nhiên, lượng phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế được sử dụng không bị giới hạn ở liều dùng này.

Phương pháp sau đây được sử dụng thích hợp làm phương pháp để đánh giá hoặc đo độc tính tế bào gây ra ở các tế bào biểu hiện kháng nguyên glypican 3 được liên kết bởi miền mang vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 tạo nên phân tử liên kết kháng nguyên do sự tiếp xúc của các tế bào với phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu hoặc chất chống ung thư khác theo sáng chế. Ví dụ về phương pháp đánh giá hoặc đo hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* bao gồm phương pháp đo hoạt tính gây độc tế bào tế bào T và tương tự. Việc phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế có hay không có độc tính tế bào tế bào T có thể được đo bằng phương pháp đã biết (ví dụ, Current protocols in Immunology, Chapter 7. Immunologic studies in humans, Editor, John E. Coligan *et al.*, John Wiley & Sons, Inc., (1993) và tương tự). Để đo hoạt tính, phân tử liên kết kháng nguyên liên kết với kháng nguyên khác glypican 3, là kháng nguyên không được biểu hiện trong các tế bào dùng để kiểm tra, có thể được sử dụng làm đối chứng theo cùng cách như phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế, và hoạt tính có thể được xác định là có mặt khi phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế thể hiện hoạt tính gây độc tế bào mạnh hơn khi phân tử liên kết kháng nguyên được dùng làm đối chứng.

Để đánh giá hoặc đo hoạt tính gây độc tế bào *in vivo*, ví dụ, các tế bào biểu hiện kháng nguyên glypican 3 được cấy trong da hoặc dưới da cho động vật thử nghiệm không phải người, và sau đó phân tử liên kết kháng nguyên thử nghiệm và/hoặc chất chống ung thư khác được sử dụng theo đường trong tĩnh mạch hoặc trong màng bụng

hàng ngày hoặc vài ngày một lần, bắt đầu từ ngày cấy hoặc ngày tiếp theo. Hoạt tính gây độc tế bào có thể được xác định bằng cách đo kích thước khối u hàng ngày và bằng cách quan sát sự thay đổi về kích thước khối u. Theo cách tương tự như cách đánh giá *in vitro*, hoạt tính gây độc tế bào của phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế có thể được xác định là có mặt khi sử dụng phân tử liên kết kháng nguyên đối chứng cho thấy rằng kích thước khối u trong nhóm được cho sử dụng phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế nhỏ hơn đáng kể so với kích thước khối u trong nhóm được cho sử dụng phân tử liên kết kháng nguyên đối chứng.

Làm phương pháp đánh giá hoặc đo hiệu quả ức chế sự tăng sinh của các tế bào biểu hiện kháng nguyên glypican 3, phương pháp đo độ hấp thụ thymidin được đánh dấu chất đồng vị vào các tế bào hoặc phương pháp MTT có thể được sử dụng thích hợp. Làm phương pháp đánh giá hoặc đo hoạt tính ức chế sự tăng sinh tế bào *in vivo*, phương pháp tương tự được mô tả ở trên để đánh giá hoặc đo hoạt tính gây độc tế bào *in vivo* có thể được sử dụng thích hợp.

Bộ kit

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất bộ kit bao gồm:

(1) kháng thể đặc hiệu kép nêu trên;

(2) vật chứa; và

(3) hướng dẫn hoặc nhãn chỉ ra rằng kháng thể đặc hiệu kép và ít nhất một loại chất chống ung thư được sử dụng kết hợp cho đối tượng thử nghiệm để điều trị ung thư ở cá thể.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất bộ kit bao gồm:

(1) chất chống ung thư khác;

(2) vật chứa; và

(3) hướng dẫn hoặc nhãn chỉ ra rằng chất chống ung thư khác đã nêu và ít nhất một loại kháng thể đặc hiệu kép nêu trên được sử dụng kết hợp cho cá thể để điều trị ung thư ở cá thể.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất bộ kit bao gồm:

(1) kháng thể đặc hiệu kép nêu trên;

(2) chất chống ung thư khác;

(3) vật chứa; và

(4) hướng dẫn hoặc nhãn chỉ ra rằng kháng thể đặc hiệu kép và chất chống ung thư khác được sử dụng kết hợp cho cá thể để điều trị ung thư ở cá thể.

Theo một số phương án, bộ kit còn gồm chất mang dược dụng. Bộ kit này có thể còn gồm chất pha loãng vô trùng tốt hơn là được bảo quản trong vật chứa bổ sung riêng rẽ. Bộ kit này cũng có thể gồm hướng dẫn liên quan đến liệu pháp kết hợp để điều trị hoặc ngăn ngừa ung thư.

Theo một số phương án, "hướng dẫn" chỉ hướng dẫn bằng chữ thường có trên hộp chứa dược phẩm có bán trên thị trường, và có thể bao gồm thông tin về chỉ định, cách sử dụng, liều dùng, đường dùng, chống chỉ định, và/hoặc cảnh báo về việc sử dụng dược phẩm.

Bộ kit có thể là kit được sử dụng riêng cho mục đích sử dụng kết hợp kháng thể đặc hiệu kép theo sáng chế và chất chống ung thư khác. Theo cách khác, bộ kit có thể là kit được sử dụng cho các mục đích khác miễn là chúng được sử dụng cho mục đích dùng kết hợp kháng thể đặc hiệu kép theo sáng chế và chất chống ung thư khác. Ví dụ, miễn là hướng dẫn hoặc nhãn của bộ kit theo sáng chế chỉ ra rằng kháng thể đặc hiệu kép và chất chống ung thư khác được sử dụng kết hợp cho cá thể, hướng dẫn hoặc nhãn này có thể là phương án khác, ví dụ, trong đó kháng thể đặc hiệu kép hoặc chất chống ung thư khác được sử dụng một mình.

Sáng chế còn đề cập đến phân tử có hoạt tính liên kết GPC3, chứa miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết GPC3 của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu được bao gồm trong chất chống ung thư hoặc dược phẩm theo sáng chế. Ngoài ra, sáng chế đề cập đến phân tử có hoạt tính liên kết GPC3, chứa vùng biến đổi chuỗi H và L của kháng thể lần lượt chứa ba CDR của chuỗi H và L (tổng số sáu CDR) có trong phân tử này. Sáng chế còn đề cập đến phân tử có thụ thể tế bào T liên kết phức hoạt tính, chứa miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu được bao gồm trong chất chống ung thư hoặc dược phẩm theo sáng chế. Ngoài ra, sáng chế đề cập đến phân tử có thụ thể tế bào T liên kết phức hoạt tính chứa vùng biến đổi chuỗi H và L của kháng thể lần lượt chứa ba CDR của chuỗi H và L (tổng số sáu CDR) có trong phân tử này. Các

phân tử này có thể là các kháng thể hoặc polypeptit chứa mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể. Sáng chế còn đề cập đến các kháng thể liên kết với các epitop xếp chồng hoặc cạnh tranh với các phân tử hoặc polypeptit này chứa mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Ví dụ thích hợp về các polypeptit này gồm mảnh liên kết kháng nguyên của kháng thể bao gồm scFv, kháng thể chuỗi đơn, Fv, Fv chuỗi đơn 2 (scFv2), Fab, và $F(ab')_2$. Ngoài ra, các phân tử này không cần phải đa đặc hiệu (đặc hiệu kép), và có thể liên kết chỉ với GPC3 hoặc phức hợp thụ thể tế bào T (ví dụ, chuỗi CD3ε).

Các phân tử này bao gồm phân tử chứa miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết GPC của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu được lấy ví dụ chi tiết trong phần ví dụ tham khảo của bản mô tả (chứa vùng biến đổi chuỗi H có hoạt tính liên kết GPC3 và vùng biến đổi chuỗi L chung), phân tử chứa miền chứa vùng biến đổi kháng thể có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu được lấy ví dụ chi tiết trong phần ví dụ tham khảo của bản mô tả (chứa vùng biến đổi chuỗi H có hoạt tính liên kết phức hợp thụ thể tế bào T và vùng biến đổi chuỗi L chung), và cả phân tử có hoạt tính liên kết với cùng protein kháng nguyên (GPC3 hoặc phức hợp thụ thể tế bào T), chứa ba CDR của mỗi trong số các chuỗi H và L (tổng là sáu CDR) có trong phân tử trên.

Các phân tử này có các CDR giống với các CDR của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế; và do đó, chúng được mong đợi là liên kết với epitop xếp chồng với epitop của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế. Do đó, các phân tử này có thể cạnh tranh với phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế khi chúng cùng tồn tại với phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế. Do đó, các phân tử này có thể được sử dụng, ví dụ, làm chất điều hòa hoạt tính ức chế (như kháng nguyên hoạt tính liên kết, hoạt tính gây độc tế bào, và hoạt tính kháng khối u) của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế. Ngoài ra, phân tử này có thể được liên kết với protein đích (GPC3 hoặc phức hợp thụ thể tế bào T) trước, và khi phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế được bổ sung, phân tử tách ra trong quá trình cạnh tranh sẽ được phát hiện. Theo cách này, phân tử là hữu ích để dùng làm chất phát hiện liên kết của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế với protein đích. Ở đây, các phân tử này có thể được đánh dấu thích hợp bằng chất phát huỳnh quang hoặc chất tương tự. Theo cách khác, các phân tử này hữu ích để sàng lọc các kháng thể mới liên kết với các epitop xếp chồng với các epitop được liên

kết bởi phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế. Như được nêu ở trên, phân tử này có thể được liên kết với protein đích (GPC3 hoặc phức hợp thụ thể tế bào T) trước, và khi bổ sung kháng thể thử nghiệm, nếu phân tử đã liên kết tách ra, kháng thể thử nghiệm sẽ là ứng cử cho kháng thể dựa trên epitop xếp chồng với epitop được liên kết bởi phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế. Điều này sẽ giúp cho có thể sàng lọc hiệu quả phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu mới.

Các kết hợp được được lấy ví dụ trong bản mô tả là các kết hợp của từng CDR của các phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế có thể được sử dụng trực tiếp dưới dạng các kết hợp cụ thể của các CDR của chuỗi H và vùng biến đổi chuỗi L trong các phân tử này. Ái lực kháng nguyên của các phân tử này (giá trị KD) tốt hơn là giá trị được lấy ví dụ trong bản mô tả là giá trị KD của phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế, nhưng không giới hạn ở các giá trị này.

Theo sáng chế, mạo từ số ít không xác định chỉ một, hoặc hai hoặc nhiều hơn hai (nghĩa là, ít nhất là một) đối tượng ngữ pháp được đề cập bởi mạo từ không xác định này. Ví dụ, "thành phần" chỉ một hoặc hai hoặc nhiều hơn hai thành phần.

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này hiểu rằng các kết hợp bất kỳ của một hoặc nhiều các phương án được nêu trong bản mô tả cũng được bao gồm trong sáng chế miễn là chúng không mâu thuẫn nhau về mặt kỹ thuật dựa vào kiến thức kỹ thuật thông thường của người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này.

Tất cả các tài liệu tình trạng kỹ thuật được kết hợp vào bản mô tả bằng cách tham khảo.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Dưới đây, sáng chế sẽ được mô tả cụ thể với sự tham khảo các ví dụ, nhưng không được hiểu là sáng chế bị giới hạn ở các ví dụ này.

Ví dụ 1. Độc tính tế bào phụ thuộc tế bào T (hoạt tính TDCC) của mỗi kháng thể thử nghiệm khi các tế bào đơn nhân máu ngoại biên của người được sử dụng làm tế bào đáp ứng

Hoạt tính TDCC của mỗi kháng thể thử nghiệm được đo bằng phương pháp nêu dưới đây. Tế bào đơn nhân máu ngoại biên của người (sau đây gọi là PBMC của người) được sử dụng làm tế bào đáp ứng và hoạt tính TDCC của mỗi kháng thể thử nghiệm được đo như sau.

(1) Điều chế dung dịch PBMC của người

50ml máu ngoại biên được gom từ người khỏe mạnh trong công ty Chugai Pharmaceutical Co. Ltd. sử dụng xylanh đã được nạp trước 500µl dung dịch heparin 5000 đơn vị/5ml. Máu ngoại biên được pha loãng hai lần bằng PBS được chia làm bốn phần nhỏ và cho vào các ống Leucosep để tách lympho bào (GE Healthcare), các ống này đã được nạp 15ml Ficoll-Paque PLUS, và được ly tâm trước. Các ống tách chứa máu ngoại biên đã chia thành các phần nhỏ được ly tâm ở tốc độ 1000g trong 10 phút ở nhiệt độ trong phòng, và sau đó, phần lớp tế bào đơn nhân được gom lại. Sau khi các tế bào có trong mỗi phần lớp này được rửa một lần bằng RPMI-1640 (SIGMA) chứa FBS 10% (sau đây gọi là FBS 10%/RPMI-1640), các tế bào được tạo huyền phù ở mật độ tế bào là 2×10^6 tế bào/ml trong môi trường nuôi cấy với mỗi tế bào đích. Các huyền phù tế bào được sử dụng làm tế bào đáp ứng trong các thử nghiệm sau đó.

(2) Thử nghiệm giải phóng LDH (hoạt tính TDCC)

Hoạt tính TDCC được đánh giá bằng phương pháp giải phóng LDH (Kit phát hiện độc tính tế bào LDH, TAKARA). Trước tiên, dung dịch kháng thể được pha loãng bằng môi trường nuôi cấy tế bào đích đến các nồng độ (0,000004, 0,00004, 0,0004, 0,004, 0,04, 0,4, 4, và 40 µg/ml), lớn hơn bốn lần so với các nồng độ cuối, và các phần 50µl dung dịch kháng thể của các nồng độ tương ứng được bổ sung vào mỗi giếng của đĩa đáy tròn 96 giếng. Sau đó, các phần 50µl tế bào đích được điều chế ở 2×10^5 tế bào/ml trong môi trường nuôi cấy với mỗi tế bào đích được gieo ($1x\ 10^4$ tế bào/giếng) và để yên ở nhiệt độ trong phòng trong 15 phút. Các phần 100µl huyền phù PBMC của người được điều chế trong môi trường nuôi cấy với mỗi tế bào đích (2×10^5 tế bào/giếng) như được mô tả trong (1) được bổ sung vào mỗi giếng của đĩa. Đĩa này được để yên trong tủ ủ với khí cacbon dioxit 5% ở 37°C trong 24 giờ, sau đó ly tâm. 100µl chất nổi bề mặt của môi trường nuôi cấy trong mỗi giếng của đĩa này được chuyển sang đĩa đáy phẳng 96 giếng. Dung dịch xúc tác được hòa tan trong 1ml H_2O và trộn với dung dịch thuốc nhuộm ở tỷ lệ 1:45. Dung dịch sau khi trộn của chất xúc tác và dung dịch thuốc nhuộm được chia nhỏ ở lượng 100µl/giếng vào đĩa đáy phẳng 96 giếng trong đó chất nổi bề mặt môi trường nuôi cấy được chuyển. Đĩa được để yên ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian từ 15 đến 30 phút. Độ hấp thụ ở bước sóng từ 490 đến 492nm được đo bằng đầu đọc đĩa. Bước sóng tham chiếu sử dụng là từ 600 đến 620nm, và độ hấp thụ

được trừ đi độ hấp thụ ở 490 đến 492nm. Các giá trị thu được bằng cách trừ giá trị trung bình đối với các giếng chỉ chứa môi trường nuôi cấy (mẫu trắng) được lắp vào phương trình dưới đây.

Phương trình:

$$\text{Độc tính tế bào (TDCC) (\%)} = ((A-B)-C)) \times 100 / (D-C)$$

Độc tính tế bào hoạt tính được xác định dựa vào phương trình này.

Ở đây, A là độ hấp thụ của hỗn hợp tế bào đích, tế bào đáp ứng, và kháng thể; B là độ hấp thụ của tế bào đáp ứng; C là độ hấp thụ của tế bào đích; và D là độ hấp thụ của tế bào đích có Triton X-100 được bổ sung.

Do đó, TDCC được quan sát thấy rõ đối với kháng thể đặc hiệu kép kháng chuỗi CD3ε người và kháng GPC3 người (kháng thể của mẫu số 38 được mô tả trong bảng 17 của ví dụ tham chiếu 3) (Fig.1).

Ví dụ 2. Xác định lượng GPC3 được biểu hiện trên bề mặt tế bào trong mỗi dòng tế bào

Khả năng liên kết kháng thể (ABC) của GPC3 trên bề mặt tế bào được tính đối với mỗi dòng tế bào bằng phép đo tế bào theo dòng sử dụng QIFIKIT (DAKO).

Sau khi rửa bằng CellWASH (BD Bioscience) được bổ sung BSA 0,5% (sau đây được gọi là FACS/PBS), 5 x 10^5 tế bào của mỗi dòng tế bào được chuẩn bị trong 50µl dung dịch chứa kháng thể GPC kháng người của chuột hoặc kháng thể đối chứng ở nồng độ cuối là 20µg/ml và để yên trên đá lạnh trong 30 phút. Các tế bào được rửa bằng FACS/PBS. Sau đó, 50µl dung dịch chứa kháng thể IgG kháng chuột của dê được đánh dấu FITC đã được pha loãng 50 lần bằng FACS/PBS được bổ sung vào các tế bào. Các tế bào được để yên trên đá lạnh trong 30 phút. Sau khi rửa bằng FACS/PBS, các tế bào được phân tích bằng phương pháp đo tế bào theo dòng. ABC được tính bằng phương pháp được mô tả trong sổ tay hướng dẫn của QIFI KIT.

ABC của GPC3 trên bề mặt tế bào được tính với mỗi dòng tế bào và được thể hiện trong bảng 6.

Bảng 6

Tên tế bào	Mô	Nghiên cứu mô	ABC
MKN-74	Dạ dày	Ung thư biểu mô tuyến	2. 97E3
FU-97	Dạ dày	Ung thư biểu mô tuyến	5. 52E5
SNU-1	Dạ dày	Ung thư biểu mô tuyến	1. 85E4
STM-03	Dạ dày	Ung thư biểu mô tuyến	Không áp dụng (PDX)
SCC152	Hầu dưới	Ung thư biểu mô vảy	3. 77E4
KYSE70	Thực quản	Ung thư biểu mô vảy	5. 35E4
PC-10	Phổi	Ung thư biểu mô vảy	1. 21E5
NCI-H446	Phổi	Ung thư biểu mô tế bào nhỏ	6. 95E4
huH-1	Gan	Ung thư biểu mô	5. 66E4
HuH-7	Gan	Ung thư biểu mô	4. 85E4
RMG-1	Buồng trứng	Ung thư biểu mô tuyến	3. 00E2
TOV-21G	Buồng trứng	Ung thư biểu mô tế bào rõ	1. 15E4
MDA-MB-134VI	Ngực	Caxinom, ung thư biểu mô ống	1. 07E4
HCC1419	Ngực	Caxinom, ung thư biểu mô ống	1. 76E4
C2BBe1	Đại trực tràng	Ung thư biểu mô tuyến	5. 77E4
RCC-HB	Thận	Ung thư biểu mô tuyến, tế bào rõ	1. 03E4
WM-115	Da	U melamin	1. 37E3
VMRC-MELG	Da	U melamin	1. 58E3
SJCRH30	Cơ vân	Sacôm	9. 26E3
BxPC-3	Tụy	Ung thư biểu mô tuyến	1. 06E3
Shmac 4	Tụy	Ung thư biểu mô	3. 46E3
NTERA-2	Tinh hoàn	Caxinom quái	7. 60E3
C-33 A	Cổ tử cung	Ung thư biểu mô	2. 10E3

Ví dụ 3. Đánh giá hiệu quả thuốc *in vivo* (kháng thể đặc hiệu kép kháng chuỗi CD3ε người và kháng GPC3 người) (nghiên cứu đánh giá hiệu quả thuốc khi kháng thể của các mẫu số 30, 31, 32, 33, và 38, hoặc kháng thể của các mẫu số 39 và 40 được mô tả trong bảng 17 của ví dụ tham khảo 3 được sử dụng làm chất đơn lẻ)

Hiệu quả thuốc *in vivo* được đánh giá bằng cách sử dụng mẫu mang khối u của một trong số các dòng trong đó hoạt tính gây độc tế bào được quan sát bởi thử nghiệm *in vitro* được mô tả trong ví dụ 1 cũng như các dòng được cho đi qua *in vivo*.

Các phương pháp có tên là mô hình NOD scid/tiêm tế bào T, mô hình chuột NOG được làm cho tương thích với người và mô hình chuột biến đổi gen CD3εδγ của

người được sử dụng trong đánh giá hiệu quả thuốc *in vivo*. Thử nghiệm sử dụng mô hình NOD scid/tiêm tế bào T được thực hiện như sau. Một vài trong số các dòng trong đó hoạt tính gây độc tế bào được quan sát thấy trong thử nghiệm *in vitro* và dòng tế bào được đưa qua *in vivo* được cấy vào chuột NOD scid. Tế bào được phát triển bằng cách nuôi cấy PBMC của người *in vitro* được tiêm vào chuột NOD scid với sự thiết lập khối u đã được xác nhận. Chuột được điều trị bằng cách sử dụng kháng thể đặc hiệu kép 38 và kháng thể đặc hiệu kép 30, 31, 32, hoặc 33. Thử nghiệm sử dụng mẫu chuột NOG được làm cho tương thích với người được thực hiện như sau. Tế bào gốc tạo máu dương tính với CD34 thu được từ máu dây rốn được cấy vào chuột NOG bằng cách tiêm tĩnh mạch đuôi. Các tế bào T của người được cung cấp cố định vào chuột, được gọi là chuột NOG được làm cho tương thích với người. Dòng tế bào PC-10 được cấy vào chuột NOG được làm cho tương thích với người. Chuột NOG được làm cho tương thích với người có sự thiết lập khối u PC-10 đã được xác nhận bằng cách sử dụng kháng thể 38. Thử nghiệm sử dụng mẫu chuột biến đổi gen CD3εδγ của người được thực hiện như sau. Các tế bào của dòng tế bào thu được từ chuột bị cưỡng bức biểu hiện GPC3 của người được cấy vào mẫu chuột biến đổi gen CD3εδγ của người, mà đã được chuẩn bị theo ví dụ tham khảo 10. Chuột biến đổi gen CD3εδγ của người có sự thiết lập khối u đã được xác nhận được điều trị bằng cách sử dụng kháng thể 38.

Các nghiên cứu đánh giá hiệu quả thuốc đối với kháng thể đặc hiệu kép 38, và kháng thể đặc hiệu kép 30, 31, 32, và 33 trong mô hình NOD scid/tiêm tế bào T được thực hiện như sau. Môi trường nuôi cấy mở rộng tế bào T được thực hiện sử dụng PBMC được tách từ máu gom từ người khỏe mạnh và hoạt hóa tế bào T/ kit mở rộng/ người. Mỗi trong số các dòng tế bào ung thư của người (MKN74, FU-97, SNU-1, SCC152, KYSE70, PC-10, HuH-7, TOV-21G, RMG-1, và SK-pca31a (SK-HEP-1/hGPC3)) được trộn với chất nền màng đáy Matrigel™, và được cấy dưới da vào chuột NOD scid (CLEA Japan). Dòng đi qua *in vivo* (STM-03) được cấy dưới da dưới dạng các khối mô khối u khoảng 2mm vào chuột NOD scid (CLEA Japan). Ngày cấy được xác định là ngày 0. Vào ngày trước ngày cấy, kháng thể GM1 kháng asialo (Wako Pure Chemical Industries) được sử dụng trong màng bụng ở 0,2mg/con chuột. Khi khối u đã được thiết lập rõ ràng sau khi cấy, chuột được tách thành các nhóm theo kích thước khối u và trọng lượng cơ thể. Sau đó, kháng thể GM1 kháng asialo được sử dụng lần nữa trong màng bụng ở 0,2mg/con chuột. Vào ngày tiếp theo, các tế bào T thu dược bằng môi trường phát triển

nêu trên được cấy vào trong màng bụng ở 1,5 x 10^7 đến 3 x 10^7 tế bào/con chuột. Khoảng từ hai đến năm giờ sau khi cấy tế bào T, kháng thể 38 được sử dụng ở 1 mg/kg (MKN74, FU-97, SNU-1, SCC152, KYSE70, PC-10, HuH-7, TOV-21G, RMG-1, và STM-03) thông qua tĩnh mạch đuôi. Việc sử dụng này được thực hiện chỉ một lần. Kháng thể đặc hiệu kép 30, 31, 32, và 33 được sử dụng ở 5 mg/kg (SK-pca31a) thông qua tĩnh mạch đuôi. Việc sử dụng này được thực hiện chỉ một lần.

Kháng thể đặc hiệu kép 39 và 40 được sử dụng ở 1 mg/kg (PC-10) thông qua tĩnh mạch đuôi. Việc sử dụng này được thực hiện chỉ một lần. Kháng thể 39 và 40 dùng trong thử nghiệm có các trình tự vùng không đổi khác nhau, nhưng chúng có chung một trình tự axit amin của vùng biến đổi liên kết CD3, vùng biến đổi liên kết GPC3, và vùng biến đổi chuỗi L chung (vùng biến đổi liên kết CD3: SEQ ID NO: 433, vùng biến đổi liên kết GPC: SEQ ID NO: 434, vùng biến đổi chuỗi L chung: SEQ ID NO: 435). Kháng thể được tạo ra bằng phương pháp đã biết với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này.

Kết quả là, kháng thể đặc hiệu kép 38 tạo ra tác dụng kháng khối u rõ ràng so với nhóm sử dụng chất dẫn thuốc (Fig.2).

Kết quả là, kháng thể đặc hiệu kép 39 và 40 tạo ra tác dụng kháng khối u rõ ràng so với nhóm sử dụng chất dẫn thuốc (Fig.3).

Kết quả là, kháng thể đặc hiệu kép 30, 31, 32, và 33 tạo ra tác dụng kháng khối u rõ ràng so với nhóm sử dụng chất dẫn thuốc (Fig.4).

Nghiên cứu đánh giá hiệu quả thuốc đối với kháng thể 38 ở mẫu chuột NOG được làm cho tương thích với người được thực hiện như sau. 2,5 Gy tia X được chiếu vào chuột NOG (In-Vivo Science Inc., ♀). Vào ngày tiếp theo, 1 x 10^5 tế bào gốc tạo máu dương tính với CD34 thu được từ máu dây rốn được cấy vào chuột NOG bằng cách tiêm tĩnh mạch đuôi. Sau 16 tuần, tế bào ung thư PC-10 của người được trộn với chất nền màng đáy Matrigel™, và được cấy dưới da vào chuột NOG được làm cho tương thích với người. Ngày cấy được xác định là ngày 0. Khi khối u được thiết lập rõ ràng, chuột được tách thành các nhóm theo kích thước khối u và trọng lượng cơ thể. Kháng thể 38 được sử dụng ở 0,008, 0,04, 0,2, hoặc 1mg/kg thông qua tĩnh mạch đuôi. Kháng thể 38 được sử dụng chỉ một lần.

Kết quả là, tác dụng kháng khối u rõ ràng, phụ thuộc liều được tạo ra trong nhóm

sử dụng kháng thể 38 so với nhóm sử dụng chất dẫn thuốc (Fig.5).

Nghiên cứu đánh giá hiệu quả thuốc đối với kháng thể 38 trong thử nghiệm sử dụng mẫu chuột biến đổi gen CD3εδγ của người được thực hiện như sau. Tế bào ung thư LLC1/hGPC3, là dòng tế bào ung thư thu được từ chuột có sự biểu hiện quá GPC3 của người, được cấy dưới da vào chuột biến đổi gen CD3εδγ của người (Chugai Pharmaceutical Co. Ltd., ♀). Ngày cấy được xác định là ngày 0. Vào ngày 11, chuột được tách thành các nhóm theo kích thước khối u và trọng lượng cơ thể. Kháng thể 38 được sử dụng ở 5mg/kg thông qua tĩnh mạch đuôi. Kháng thể 38 được sử dụng hai lần (ngày 11 và ngày 14). Kháng thể kháng GPC3 người (WO2006/006693, tên dòng: GC33), kháng thể CTLA-4 kháng chuột (BioXCell, Catalog# BE0032), kháng thể PD-1 kháng chuột (BioXCell, Catalog# BE0146), và kháng thể PD-L1 kháng chuột (BioXCell, Catalog# BE0101), là các dược chất được sử dụng làm đối chứng, được sử dụng ở 25 mg/kg thông qua tĩnh mạch đuôi. Kháng thể kháng GPC3 người, kháng thể CTLA-4 kháng chuột, kháng thể PD-1 kháng chuột, và kháng thể PD-L1 kháng chuột được sử dụng hai lần (ngày 11 và ngày 14).

Kết quả là, kháng thể 38 tạo ra tác dụng kháng khối u rõ ràng so với nhóm sử dụng dung môi, hoặc kháng thể kháng GPC3 người, kháng thể CTLA-4 kháng chuột, kháng thể PD-1 kháng chuột, và kháng thể PD-L1 kháng chuột (Fig.6).

Ví dụ 4. Đánh giá hiệu quả thuốc *in vivo* (nghiên cứu đánh giá hiệu quả thuốc đối với hỗn hợp của kháng thể 38 và chất khác)

Nghiên cứu đánh giá hiệu quả thuốc *in vivo* đối với hỗn hợp của kháng thể 38 và các chất khác được tiến hành sử dụng mẫu mang khối u. Hiệu quả thuốc *in vivo* bởi hỗn hợp này được đánh giá bằng cách sử dụng mẫu NOD scid/tiêm tế bào T được mô tả trong ví dụ 3, mẫu chuột biến đổi gen CD3εδγ của người được mô tả trong ví dụ 3, hoặc mẫu chuột biến đổi gen CD3ε của người. Nghiên cứu hỗn hợp sử dụng mẫu NOD scid/tiêm tế bào T được thực hiện như sau. Dòng tế bào MKN45 hoặc NCI-H446 được cấy vào chuột NOD scid. Tế bào T được phát triển bằng cách nuôi cấy PBMC của người *in vitro* được tiêm vào chuột NOD scid có sự thiết lập khối u rõ ràng đã xác nhận. Chuột được điều trị bằng cách cho sử dụng kháng thể 38 kết hợp với capecitabine, cisplatin, hoặc paclitaxel. Nghiên cứu hỗn hợp sử dụng mẫu chuột biến đổi gen CD3εδγ của người được thực hiện như sau. Tế bào ung thư LLC1/hGPC3 hoặc tế bào Hepa1-6/hGPC3, là

dòng tế bào thu được từ chuột bị cưỡng bức biểu hiện GPC3 của người, được cấy vào chuột biến đổi gen CD3εδγ của người. Chuột biến đổi gen CD3εδγ của người có sự thiết lập khối u rõ ràng đã được xác nhận được điều trị bằng cách cho sử dụng kháng thể 38 kết hợp với kháng thể TIM-3 kháng chuột (BioXCell, Catalog# BE0115), kháng thể LAG-3 kháng chuột (BioXCell, Catalog# BE0174), kháng thể CD137 kháng chuột (BioXCell, Catalog# BE0169), hoặc kháng thể VEGFR2 kháng chuột (BioXCell, Catalog# BP0060). Nghiên cứu hỗn hợp sử dụng mẫu chuột biến đổi gen CD3ε của người được thực hiện như sau. Tế bào ung thư Hepa1-6/hGPC3, là dòng tế bào ung thư thu được từ chuột bị cưỡng bức biểu hiện GPC3 của người, được cấy vào chuột biến đổi gen CD3ε của người. Chuột biến đổi gen CD3ε của người có sự thiết lập khối u rõ ràng đã được xác nhận được điều trị bằng cách cho sử dụng kháng thể 38 kết hợp với kháng thể PD-1 kháng chuột (BioXCell, Catalog# BE0146) hoặc kháng thể PD-L1 kháng chuột (BioXCell, Catalog# BE0101).

Nghiên cứu đánh giá hiệu quả thuốc đối với kháng thể 38 và các chất khác sử dụng mô hình NOD scid/tiêm tế bào T được thực hiện như sau. Môi trường nuôi cấy mở rộng tế bào T được thực hiện sử dụng PBMC tách từ máu được lấy từ người khỏe mạnh và hoạt hóa tế bào T/ kit mở rộng/ người. Mỗi trong số các dòng tế bào ung thư của người (MKN45 và NCI-H446) được trộn với chất nền màng đáy Matrigel™, và được cấy dưới da vào chuột NOD scid (CLEA Japan). Ngày cấy được xác định là ngày 0. Vào ngày trước ngày cấy, kháng thể GM1 kháng asialo được sử dụng trong màng bụng ở 0,2mg/con chuột. Khi khối u đã được thiết lập rõ ràng được xác nhận sau khi cấy, chuột được tách thành các nhóm theo kích thước khối u và trọng lượng cơ thể. Sau đó, kháng thể GM1 kháng asialo được sử dụng lần nữa trong màng bụng ở 0,2mg/con chuột. Vào ngày tiếp theo, các tế bào T thu được bằng môi trường mở rộng nêu trên được cấy vào trong màng bụng ở 3 x 10^7 tế bào/con chuột. Khoảng từ hai đến năm giờ sau khi cấy tế bào T, kháng thể 38 được sử dụng. Kết hợp với kháng thể 38, capecitabine, cisplatin, hoặc paclitaxel được sử dụng theo liều và chế độ liều được thể hiện trong bảng 7.

Bảng 7

Dòng tế bào	Dược chất để sử dụng kết hợp	Dược chất để sử dụng kết hợp Liều và đường dùng	Dược chất để sử dụng kết hợp Chế độ liều	Liều kháng thể 38	Chế độ liều kháng thể 38
MKN45	Capecitabine	431mg/kg	Sử dụng lặp	5mg/kg	Dùng một

		Dùng qua đường miệng	lại trong năm ngày từ ngày 17	Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	lần vào ngày 14
	Cisplatin	7,5mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Dùng một lần vào ngày 13	1mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Dùng một lần vào ngày 14
	Paclitaxel	20mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Dùng một lần vào ngày 13	1mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Dùng một lần vào ngày 14
NCI-H446	Cisplatin	7,5mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Dùng một lần vào ngày 14	1mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Dùng một lần vào ngày 15
	Paclitaxel	20mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Ngày 14 và 21	1mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Dùng một lần vào ngày 15

Kết quả là, tác dụng kháng khối u được tăng cường trong nhóm hỗn hợp được cho sử dụng kết hợp kháng thể 38 và dược chất khác so với nhóm trong kháng thể 38 hoặc dược chất dùng để sử dụng kết hợp được sử dụng một mình (Fig. 7 và 8).

ARN được chiết từ mẫu khối u sau khi sử dụng paclitaxel, cisplatin, hoặc capecitabine và kháng thể 38. Phân tích ARN toàn diện sử dụng nCounter, phân tích lympho bào thâm nhiễm khối u (TIL), và phân tích bệnh học được thực hiện như sau.

Các mẫu khối u được chuẩn bị như sau. Các mẫu khối u khi kháng thể 38 được sử dụng kết hợp với chất hóa trị liệu trong mẫu chuột NOG được làm cho tương thích với người đượcchuẩn bị theo quy trình được mô tả dưới đây. Chiếu 2,5 Gy tia X vào chuột NOG (In-Vivo Science Inc., ♀). Vào ngày tiếp theo, 1 x 10^5 tế bào gốc tạo máu dương tính với CD34 thu được từ máu dây rốn được cấy vào chuột NOG bằng cách tiêm tĩnh mạch đuôi. Sau từ 16 đến 20 tuần, mỗi trong số các dòng tế bào ung thư của người (MKN45 và NCI-H446) được trộn với chất nền màng đáy Matrigel™, và được cấy dưới da vào chuột NOG được làm cho tương thích với người. Ngày cấy được xác định là ngày 0.

Khi khối u được thiết lập, chuột đươc tách thành các nhóm dựa vào kích thước khối u và trọng lượng cơ thể. Kháng thể 38 và dược chất để sử dụng kết hợp được sử dụng theo liều và chế độ liều được mô tả trong bảng 21. Chuột được trợ tử ở thời điểm

được mô tả trong bảng 21, và khối u được cắt và được bảo quản để sử dụng trong phân tích lympho bào thâm nhiễm khối u (TIL), phân tích bệnh học, hoặc phân tích ARN.

Bảng 21

Dòng tế bào	Dược chất để sử dụng kết hợp	Dược chất để sử dụng kết hợp Liều và đường dùng	Dược chất để sử dụng kết hợp Chế độ liều	Liều kháng thể 38	Chế độ liều kháng thể 38	Lấy mẫu khối u	Phân tích
MKN45	Capecitabine	359mg/kg Dùng qua đường miệng	Sử dụng lặp lại trong năm ngày từ ngày 21	5mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Dùng một lần vào ngày 22	Ngày thứ 14 từ lúc bắt đầu sử dụng capecitabine	ARN
NCI-H446	Cisplatin	7,5mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Dùng một lần vào ngày 20	5mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Dùng một lần vào ngày 21	Ngày thứ 6 sau khi sử dụng kháng thể 38	TIL
	Paclitaxel	20mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Ngày 20	5mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Dùng một lần vào ngày 21	Ngày thứ 6 sau khi sử dụng kháng thể 38	TIL, ARN, Bệnh học

Phân tích ARN được thực hiện như sau. ARN được chiết (miRNeasy Mini Kit, QIAGEN) từ các mẫu khối u nêu trên và nồng độ ARN được xác định (NanoDrop, Thermo Fisher Scientific). 100ng ARN được đem đi phân tích sự biểu hiện ARN (người) toàn diện sử dụng nCounter PanCancer Pathway Panel và PanCancer Immune Profiling Panel (NanoStrng). Việc chuẩn hóa được thực hiện sử dụng gen giữ nhà được bao gồm trong Panel. Phần mềm phân tích được sử dụng là nSolver (NanoStrng).

Kết quả là, sự biểu hiện của các gen đánh dấu tế bào miễn dịch, chemokin, xytokin, gen liên quan đến sự chết tế bào, gen liên quan đến sự điều tiết chu trình tế bào được tăng và sự biểu hiện gen liên quan đến tiến triển của chu trình tế bào bị ức chế khi kháng thể 38 được sử dụng kết hợp với chất hóa trị liệu, paclitaxel hoặc capecitabine, so với nhóm được sử dụng một mình kháng thể 38 hoặc một mình chất hóa trị liệu (Fig.35-1 đến 35-6).

Phân tích TIL được thực hiện như sau. Các mô khối u cắt ra từ chuột được cấy NCI-H446 được mô tả trong bảng 21 vào ngày thứ sáu sau khi sử dụng kháng thể 38 được phân ly thành các tế bào nhờ xử lý enzym sử dụng MACS™ Octo Dissociator nhẹ. Các tế bào được đánh dấu kháng thể CD45, CD3, CD4, CD8, và GZMB và được kiểm

tra tỷ lệ dương tính của chúng trong mỗi phần TIL sử dụng BD LSRFortessa X-20.

Kết quả là, quần thể tế bào biểu hiện gen đánh dấu tế bào T, gen đánh dấu tế bào T hoạt hóa, và các protein liên quan đến hoạt tính độc tính tế bào được tăng khi sử dụng kháng thể 38 kết hợp với chất hóa trị liệu, paclitaxel hoặc capecitabine, so với nhóm sử dụng một mình kháng thể 38 hoặc một mình chất hóa trị liệu (Fig. 36-1 và 36-2).

Đối với phân tích mô học của các mô khối u, các mẫu khối u từ các con chuột sáu ngày sau khi sử dụng kháng thể 38 và paclitaxel được trộn trong dung dịch đệm trung tính formaldehyt 10%. Sau đó, các mẫu được nhuộm HE được chuẩn bị theo phương pháp thông thường, và đánh giá mô bệnh học được thực hiện sử dụng kính hiển vi quang học.

Kết quả là, sự thâm nhiễm tế bào miễn dịch được quan sát quanh chu vi khối u khi sử dụng kháng thể 38, và diện tích thâm nhiễm được mở rộng khi sử dụng kháng thể 38 kết hợp với paclitaxel.

Nghiên cứu đánh giá hiệu quả thuốc đối với kháng thể 38 và các chất khác sử dụng mẫu chuột biến đổi gen CD3εδγ của người được thực hiện như sau. Các dòng tế bào ung thư Hepa1-6/hGPC3 và LLC1/hGPC3, là dòng tế bào ung thư của chuột có sự biểu hiện quá GPC3 của người, được cấy dưới da vào chuột biến đổi gen CD3εδγ của người (Chugai Pharmaceutical Co. Ltd.). Ngày cấy được xác định là ngày 0. Khi sự thiết lập khối u rõ ràng đã được xác nhận, chuột được chia vào các nhóm dựa trên kích thước khối u và trọng lượng cơ thể. Việc điều trị được thực hiện bằng cách sử dụng kháng thể 38 kết hợp với kháng thể TIM-3 kháng chuột, kháng thể LAG-3 kháng chuột, kháng thể CD137 kháng chuột, hoặc kháng thể VEGFR2 kháng chuột. Liều của mỗi dược chất được sử dụng kết hợp với kháng thể 38 được thể hiện trong bảng 8.

Bảng 8

Dòng tế bào	Mẫu	Dược chất để sử dụng kết hợp	Dược chất để sử dụng kết hợp Liều và đường dùng	Dược chất để sử dụng kết hợp Chế độ liều	Liều kháng thể 38	Chế độ liều kháng thể 38
Hepa1-6/hGPC3	Chuột biến đổi gen CD3εδγ của người	TIM3 Ab (dòng RMT 3-23)	10mg/kg Dùng qua đường trong tĩnh mạch	Dùng một lần vào ngày 13	0,2mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Dùng một lần vào ngày 13
		LAG-3 Ab	10mg/kg	Dùng một	0,2mg/kg	Dùng một

		(dòng C9B7W)	Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	lần vào ngày 13	Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	lần vào ngày 13
		CD137 Ab (dòng LOB12.3)	10mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Dùng một lần vào ngày 13	0,2mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Dùng một lần vào ngày 13
		VEGFR2 Ab (dòng DC101)	10mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Dùng một lần vào ngày 13	0,2mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Dùng một lần vào ngày 13
LLC1/h GPC3	Chuột biến đổi gen CD3εδγ của người	CD137 Ab (dòng LOB12.3)	10mg/kg Dùng qua đường trong màng bụng	Ngày 11 và 15	5mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Ngày 11 và 15

Kết quả là, tác dụng kháng khối u được tăng cường trong nhóm kết hợp được sử dụng kháng thể 38 và dược chất để sử dụng kết hợp so với nhóm mà kháng thể 38 hoặc dược chất để sử dụng kết hợp được sử dụng một mình (Fig. 9 và 10).

Nghiên cứu đánh giá hiệu quả thuốc đối với kháng thể 38 với chất khác trên mẫu chuột biến đổi gen CD3ε của người được thực hiện như sau. Dòng tế bào ung thư Hepa1-6/hGPC3, là dòng tế bào ung thư của chuột có sự biểu hiện quá GPC3 của người, được cấy dưới da vào chuột biến đổi gen CD3ε của người (Chugai Pharmaceutical Co. Ltd.). Ngày cấy được xác định là ngày 0. Vào ngày 15, chuột được chia vào các nhóm dựa vào kích thước khối u và trọng lượng cơ thể. Việc điều trị được thực hiện bằng cách cho sử dụng kháng thể 38 kết hợp với kháng thể PD-1 kháng chuột hoặc kháng thể PD-L1 kháng chuột. Liều của mỗi dược chất được sử dụng kết hợp với kháng thể 38 được thể hiện trong bảng 9.

Bảng 9

Dòng tế bào	Mẫu	Dược chất để sử dụng kết hợp	Dược chất để sử dụng kết hợp Liều và đường dùng	Dược chất để sử dụng kết hợp Chế độ liều	Liều kháng thể 38	Chế độ liều kháng thể 38
Hepa1-6/hGPC3	Chuột biến đổi gen CD3ε của người	PD-1 Ab (dòng RMP 1-14)	200μg/con chuột Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Ngày 15 và 18	5mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Ngày 15 và 18
		PD-L1 Ab (dòng 10F.9G2)	200μg/ con chuột Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Ngày 15 và 18	5mg/kg Dùng qua đường tĩnh mạch đuôi	Ngày 15 và 18

Kết quả là, tác dụng kháng khối u được tăng cường trong nhóm kết hợp được sử dụng kháng thể 38 và dược chất để sử dụng kết hợp so với nhóm trong đó kháng thể 38 hoặc dược chất để sử dụng kết hợp được sử dụng một mình (Fig. 11).

Ví dụ tham khảo

Ví dụ tham khảo 1. Sản xuất GPC3_ERY22_rCE115 và đo hoạt tính gây độc tế bào

(1-1) Sản xuất GPC3_ERY22_rCE115

Phân tử trong đó một trong số các Fab được thay bằng miền liên kết CD3 epsilon được tạo ra sử dụng IgG dựa vào kháng nguyên ung thư (GPC3) dưới dạng cấu trúc cơ bản. Trong trường hợp này, IgG Fc được sử dụng dưới dạng cấu trúc cơ bản là Fc câm có ái lực đối với FcgR (thụ thể Fcγ (Fc gamma)) đã được làm yếu đi. Kháng thể kháng GPC3, H0000 (SEQ ID NO: 40) / GL4 (SEQ ID NO: 41), được sử dụng làm miền liên kết GPC3. Kháng thể kháng CD3, rCE115H/rCE115L (SEQ ID NO: 42/SEQ ID NO: 43), được sử dụng làm miền liên kết CD3.

G1d được tạo ra bằng cách loại bỏ Gly và Lys ở đầu tận C của IgG1 được sử dụng làm vùng không đổi chuỗi H của kháng thể, và vùng này được sử dụng kết hợp với H0000/GL4 và rCE115H/rCE115L. Khi vùng không đổi chuỗi H của kháng thể được gọi là H1, trình tự tương ứng với chuỗi H của kháng thể mang H0000 trong vùng biến đổi được thể hiện là H0000-H1. Ở đây, sự biến đổi axit amin được thể hiện, ví dụ, là D356K. Chữ cái đầu tiên (tương ứng với D trong D356K) là mã một chữ cái đại diện cho gốc axit amin trước khi biến đổi, số theo sau (tương ứng với 356 của D356K) là vị trí biến đổi được chỉ ra bởi cách đánh số EU, và chữ cái cuối cùng (tương ứng với K của D356K) là mã một chữ cái đại diện cho gốc axit amin sau khi biến đổi. G1dh (SEQ ID NO: 44) được tạo ra bằng cách loại bỏ Gly và Lys ở đầu tận C của IgG1, ERY22_Hk (SEQ ID NO: 45) được tạo ra bằng cách đưa các đột biến L234A/L235A/Y349C/T366W vào G1dh, và ERY22_Hh (SEQ ID NO: 46) được tạo ra bằng cách đưa các đột biến L234A/L235A/D356C/T366S/L368A/Y407V vào G1dh được tạo ra theo phương pháp nêu trong ví dụ tham khảo 5. Các đột biến L234A và L235A được đưa vào các chuỗi H tương ứng để làm giảm ái lực đối với FcgR (thụ thể Fcγ), và các đột biến Y349C/T366W và D356C/T366S/L368A/Y407V được đưa vào để tạo thành hiệu quả các heterome của từng chuỗi H khi tạo ra các kháng thể dị đime chứa hai kiểu chuỗi H.

Các kháng thể dị đime, GPC3_ERY22_rCE115, được tạo ra bằng cách thế bằng

miền VH và VL của Fab dựa trên GPC3 được tạo ra theo ví dụ tham khảo 5 (Fig.12a).

Một loạt các vectơ biểu hiện được chèn bằng polynucleotit mã hóa mỗi trong số GL4-ERY22_Hk (SEQ ID NO: 47), H0000-ERY22_L (SEQ ID NO: 48), rCE115H-ERY22_Hh (SEQ ID NO: 49), và rCE115L-k0 (SEQ ID NO: 50) được tạo ra bằng các phương pháp đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, như phương pháp PCR sử dụng đoạn mồi được bổ sung trình tự thích hợp tương tự với trình tự trong phương pháp nêu trên.

Các kết hợp sau đây của vectơ biểu hiện được đưa vào các tế bào 293-F FreeStyle để biểu hiện tạm thời mỗi phân tử đích.

Phân tử đích: GPC3_ERY22_rCE115

Các polypeptit được mã hóa bởi các polynucleotit được chèn vào vectơ biểu hiện: GL4-ERY22_Hk, H0000-ERY22_L, rCE115H-ERY22_Hh, rCE115L-k0

(1-2) Tinh chế GPC3_ERY22_rCE115

Bổ sung dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy thu được vào cột kháng FLAG M2 (Sigma), và sau đó rửa cột này, sau đó rửa giải sử dụng 0,1 mg/mL peptit FLAG (Sigma). Các phần chứa phân tử quan tâm được bổ sung vào cột HisTrap HP (GE Healthcare), và sau đó rửa cột, sau đó rửa giải sử dụng građien nồng độ imidazol. Các phần chứa phân tử quan tâm được cô đặc sử dụng màng siêu lọc, sau đó các phần được bổ sung vào cột Superdex 200 (GE Healthcare), và mỗi trong số các phân tử tinh chế quan tâm thu được bằng cách chỉ gom các phần monome từ dung dịch rửa giải.

(1-3) Đo hoạt tính gây độc tế bào của GPC3_ERY22_rCE115 bằng cách sử dụng các tế bào đơn nhân máu ngoại biên của người

Hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của GPC3_ERY22_rCE115 được đánh giá.

(1-3-1) Chuẩn bị dung dịch tế bào đơn nhân máu ngoại biên của người (PBMC)

Bằng cách sử dụng xylanh đã nạp trước 100 μL dung dịch heparin 1000 đơn vị/mL (Novo Heparin để tiêm, 5000 đơn vị, Novo Nordisk), 50 mL máu ngoại biên được gom từ mỗi tình nguyên viên khỏe mạnh (người trưởng thành). Máu ngoại biên được pha loãng hai lần trong PBS(-), được chia thành bốn phần, và được thêm vào ống Leucosep để tách lympho bào (Cat. No. 227290, Greiner Bio-One), ống này đã được tải 15 mL Ficoll-Paque PLUS, và được đem đi ly tâm trước. Ống phân tách này được ly

tâm (ở 2150 vòng/phút trong mười phút ở nhiệt độ trong phòng), và sau đó phần tế bào đơn nhân được gom. Các tế bào trong phần tế bào đơn nhân được rửa một lần bằng môi trường Eagle cải biến Dulbecco chứa FBS 10% (được sản xuất bởi SIGMA, sau đây được gọi là FBS 10%/D-MEM), và sau đó được chuẩn bị để có mật độ tế bào là 4 x 10^6 tế bào/mL bằng cách sử dụng FBS 10%/D-MEM. Huyền phù tế bào được tạo ra theo cách này được sử dụng làm dung dịch PBMC của người trong thử nghiệm dưới đây.

(1-3-2) Đo hoạt tính gây độc tế bào

Hoạt tính gây độc tế bào được đánh giá bởi tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào sử dụng thiết bị phân tích tế bào thời gian thực xCELLigence (Roche Diagnostics). Dòng tế bào ung thư của người NCI-H446 hoặc dòng tế bào ung thư của người PC-10, biểu hiện GPC3 của người, được sử dụng làm tế bào đích. NCI-H446 hoặc PC-10 được dỡ ra khỏi đĩa, sau đó các tế bào được cấy đĩa vào E-Plate 96 (Roche Diagnostics) thành các phần 100 μL/giếng bằng cách điều chỉnh các tế bào đến 1 x 10^4 tế bào/giếng, và đo các tế bào sống được bắt đầu bằng cách sử dụng thiết bị phân tích tế bào thời gian thực xCELLigence. Vào ngày tiếp theo, đĩa được lấy ra khỏi thiết bị xCELLigence, và 50 μL các kháng thể tương ứng được tạo ra ở mỗi nồng độ (0,004, 0,04, 0,4, 4, hoặc 40 nM) được cho vào đĩa. Sau 15 phút phản ứng ở nhiệt độ trong phòng, 50 μL dung dịch PBMC của người được tạo ra trong (1-2) được bổ sung (2 x 10^5 tế bào/giếng), và đo các tế bào sống được bắt đầu bằng cách đặt đĩa vào thiết bị xCELLigence lần nữa. Tiến hành phản ứng ở các điều kiện khí cacbon đioxit 5% ở 37°C, và từ giá trị chỉ số Cell thu được tại thời điểm 72 giờ sau khi bổ sung PBMC của người, tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (%) được xác định bằng cách sử dụng phương trình dưới đây. Giá trị chỉ số Cell được sử dụng trong quá trình tính toán là giá trị chuẩn hóa trong đó chỉ số giá trị Cell ngay trước khi bổ sung kháng thể được xác định là 1.

Tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (%) = (A-B) x 100/(A-1)

A là giá trị trung bình của giá trị chỉ số Cell trong các giếng không bổ sung kháng thể (chỉ chứa các tế bào đích và PBMC của người), và B là giá trị trung bình của giá trị chỉ số Cell trong mỗi giếng. Các kiểm tra được thực hiện làm ba lần.

Khi các tế bào đơn nhân máu ngoại biên (PBMC) được tạo ra từ máu của người được sử dụng làm tế bào đáp ứng để đo độc tính tế bào của GPC3_ERY22_rCE115, quan sát thấy hoạt tính rất mạnh (Fig.13).

Ví dụ tham khảo 2. Làm cho chuỗi H của kháng thể kháng CD3, rCE115, và có chung chuỗi L chung tương thích với người

(2-1) Thiết kế hCE115HA, vùng biến đổi chuỗi H rCE115 được làm cho tương thích với người

Vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể rCE115 kháng CD3 (SEQ ID NO: 42) được làm cho tương thích với người. CDR và FR được xác định như được định nghĩa bởi Kabat (đánh số Kabat).

Đầu tiên, trình tự FR của người được chọn bằng cách so sánh trình tự vùng biến đổi kháng thể của người trong cơ sở dữ liệu với trình tự vùng biến đổi của chuột cống rCE115. Cơ sở dữ liệu IMGT (http://www.imgt.org/) và ngân hàng gen NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) được sử dụng cho cơ sở dữ liệu này. Trình tự vùng biến đổi chuỗi H được làm cho tương thích với người được thiết kế bằng cách liên kết trình tự CDR chuỗi H của vùng biến đổi rCE115 với trình tự FR của người đã chọn. Việc này tạo ra trình tự vùng biến đổi chuỗi H được làm cho tương thích với người, hCE115HL (SEQ ID NO: 51).

Gốc axit amin ở vị trí 93 được chỉ ra bằng cách đánh số Kabat là Ala trong trình tự FR3chuỗi H của người đã chọn, nhưng là Arg trong trình tự vùng biến đổi rCE115. Khi sử dụng cơ sở dữ liệu của chuột cống và trình tự dòng mầm của người (IMGT Database (http://www.imgt.org/)), chỉ một vài trình tự được thấy là chứa Arg ở vị trí này. Được báo cáo rằng gốc axit amin ở vị trí 94 được chỉ ra bởi việc đánh số Kabat góp phần làm ổn định cấu trúc kháng thể bằng cách tạo thành lõi phía trên (Ewert *et al.* Methods. 2004 Oct;34(2):184-99). Dựa trên thông tin này, trình tự vùng biến đổi chuỗi H được làm cho tương thích với người, trong đó các gốc axit amin ở các vị trí Kabat 93 và 94 trong FR3 chuỗi H được thế bằng các gốc có trong trình tự vùng biến đổi rCE115, được thiết kế mới. Đây là trình tự vùng biến đổi chuỗi H được làm cho tương thích với người, hCE115HA (SEQ ID NO: 52).

(2-2) Thiết kế chuỗi L chung, L0000, đối với kháng thể rCE115 kháng CD3 và kháng thể kháng GPC3

Việc xáo trộn FR/CDR của vùng biến đổi chuỗi L rCE115L (SEQ ID NO: 43) của kháng thể rCE115 kháng CD3 và vùng biến đổi chuỗi L GL4 (SEQ ID NO: 41) của kháng thể kháng GPC3 được thực hiện.

Trình tự FR của GL4 được chọn làm trình tự FR chuỗi L. CDR2 chuỗi L giống với rCE115L và GL4. CDR1 chuỗi L được chọn từ trình tự CDR của GL4, và CDR3 chuỗi L được chọn từ trình tự CDR của rCE115L, theo thứ tự. Ngoài ra, CDR3 chuỗi L được tạo ra bằng cách thế gốc axit amin Asp ở vị trí Kabat 94 của CDR3 chuỗi L đã chọn bằng gốc Val có trong GL4 được thiết kế mới.

Trình tự vùng biến đổi chuỗi L được làm cho tương thích với người được thiết kế bằng cách liên kết FR và CDR đã chọn ở trên. Điều này tạo ra trình tự vùng biến đổi chuỗi L được làm cho tương thích với người, L0000 (SEQ ID NO: 53).

(2-3) Đánh giá ái lực đối với GPC3 của người

Hoạt tính liên kết GPC3 của người khi sử dụng GL4 (SEQ ID NO: 41) và L0000 (SEQ ID NO: 53) làm vùng biến đổi chuỗi L được đánh giá. Việc đánh giá này được thực hiện bằng cách sử dụng dạng phân tử của kháng thể một nhánh có Fab đơn ở vùng Fc của IgG1 của người được dị đime hóa bằng kỹ thuật tra khóa vào ổ. H0000 (SEQ ID NO: 40) được sử dụng cho vùng biến đổi chuỗi H của kháng thể kháng GPC3.

Ái lực và hằng số tốc độ liên kết của kháng thể kháng GPC3 đối với kháng nguyên được đo bằng phương pháp động lực nhiều chu trình của phân tích cộng hưởng plasmon bề mặt sử dụng Biacore™-T200 (GE Healthcare Japan). HBS-EP+ (GE Healthcare Japan) được sử dụng để chạy đệm, và bộ kit ghép amin (GE Healthcare Japan) được sử dụng để liên kết cộng hóa trị Protein A/G với chip CM5 (chip được bọc carboxymetyl dextran). Mỗi kháng thể kháng GPC3 được tạo ra sao cho khoảng 100 RU sẽ được bắt giữ bởi Protein A/G. GPC3 của người được sử dụng làm chất phân tích được tạo ra ở 8, 16, 32, 64, và 128nM sử dụng HBS-EP+. Tiến hành đo bằng cách đầu tiên cho Protein A/G bắt giữ dung dịch kháng thể, và sau đó tiêm dung dịch GPC3 của người ở tốc độ dòng là 30 μL/phút trong ba phút để phản ứng diễn ra. Sau đó, dung dịch được chuyển đến HBS-EP+ và pha phân ly được xác định trong 15 phút. Sau khi hoàn thành việc xác định pha phân ly, chip cảm biến được hoàn nguyên bằng cách rửa với Gly-HCl 10mM ở pH=1,5. Việc đo ở nồng độ bằng 0 được tiến hành tương tự bằng cách cho Protein A/G bắt giữ dung dịch kháng thể, thực hiện tiêm HBS-EP+ ba phút để cho phản ứng xảy ra, và sau đó chuyển đến HBS-EP+ để xác định pha phân ly trong 15 phút. Sau khi hoàn thành việc xác định pha phân ly, chip cảm biến được hoàn nguyên bằng cách rửa với Gly-HCl 10mM ở pH=1,5. Phần mềm phân tích dữ liệu dành riêng cho Biacore,

phần mềm đánh giá Biacore T200 phiên bản 1.0, được sử dụng để thực hiện các phân tích động lực để tính toán hằng số tốc độ liên kết (ka), hằng số tốc độ phân ly (kd), và tỷ lệ hằng số tốc độ từ đồ thị cảm biến thu được. Kết quả được thể hiện trong bảng 10.

Bảng 10

Vùng biến đổi		Ái lực đối với GPC3 của người		
Vùng biến đổi chuỗi H	Vùng biến đổi chuỗi L	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)
H0000	GL4	$4,2x10^{-9}$	$4,3x10^{5}$	$1,8x10^{-3}$
H0000	L0000	$3,6x10^{-8}$	$3,0x10^{5}$	$1,1x10^{-2}$

(2-4) Đánh giá ái lực đối với CD3 của người

Hoạt tính liên kết CD3 của người khi sử dụng hCE115HA (SEQ ID NO: 52) làm vùng biến đổi chuỗi H và L0000 (SEQ ID NO: 53) làm vùng biến đổi chuỗi L được đánh giá. Việc đánh giá này được thực hiện bằng cách sử dụng dạng phân tử của kháng thể nhánh đơn có Fab đơn ở vùng Fc của IgG1 của người được dị đime hóa bằng kỹ thuật tra khóa vào ổ.

Ái lực và hằng số tốc độ liên kết của kháng thể kháng CD3 đối với kháng nguyên được đo bằng phương pháp động lực chu trình đơn của phân tích cộng hưởng plasmon bề mặt bằng cách sử dụng Biacore™-T200 (GE Healthcare Japan). HBS-EP+ (GE Healthcare Japan) được dùng để chạy đệm, và bộ kit ghép amin (GE Healthcare Japan) được sử dụng để liên kết cộng hóa trị CD3 của người với chip CM4 (chip được bọc carboxymetyl dextran). Kháng thể kháng CD3 dùng làm chất phân tích được tạo ra ở 5 và 20μg/mL sử dụng HBS-EP+. Tiến hành đo bằng cách đầu tiên tiêm mỗi trong số các dung dịch kháng thể kháng CD3 nồng độ 5 và 20 μg/mL trong ba phút liên tục ở tốc độ dòng là 20 μL/phút để phản ứng xảy ra. Sau đó, dung dịch được chuyển đến HBS-EP+ và pha phân ly được xác định trong 3 phút. Sau khi xác định xong pha phân ly, chip cảm biến được hoàn nguyên bằng cách rửa với Gly-HCl 10mM ở pH=1,5. Tiến hành đo ở nồng độ 0 bằng cách thực hiện lần lượt từng lần tiêm HBS-EP+ 3 phút hai lần để phản ứng xảy ra, và sau đó được chuyển đến HBS-EP+ để xác định pha phân ly trong 3 phút. Sau khi xác định xong pha phân ly, chip cảm biến được hoàn nguyên bằng cách rửa với Gly-HCl 10mM ở pH=1,5. Phần mềm phân tích dữ liệu dành riêng cho Biacore, phần

mềm đánh giá Biacore T200 phiên bản 1.0, được sử dụng để thực hiện các phân tích động lực để tính toán hằng số tốc độ liên kết (ka), hằng số tốc độ phân ly (kd), và tỷ lệ hằng số tốc độ từ đồ thị cảm biến được thu nhận. Kết quả được thể hiện trong bảng 11.

Bảng 11

Vùng biến đổi		Ái lực đối với CD3 của người		
Vùng biến đổi chuỗi H	Vùng biến đổi chuỗi L	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)
rCE115H	rCE115L	$1,0x10^{-7}$	$5,9x10^{4}$	$6,0x10^{-3}$
hCE115HA	L0000	$1,2x10^{-7}$	$1,9x10^{5}$	$2,3x10^{-2}$

(2-5) Chuẩn bị GPC3_ERY27_hCE115

IgG4 chống lại kháng nguyên ung thư (GPC3) được sử dụng làm cấu trúc cơ bản để tạo ra phân tử ERY27 (Fig. 12b), trong đó vùng biến đổi chuỗi H của một trong số các Fab được thay bằng miền liên kết CD3 epsilon, và chuỗi L là chung với cả hai Fab. Trong trường hợp này, Fc IgG4 dùng làm cấu trúc cơ bản là Fc câm có ái lực đối với FcgR (thụ thể Fcγ) giảm. H0000 (SEQ ID NO: 40) được sử dụng làm vùng biến đổi chuỗi H của miền liên kết GPC3, và hCE115HA (SEQ ID NO: 52) được sử dụng làm vùng biến đổi chuỗi H của miền liên kết CD3. L0000 (SEQ ID NO: 53) được sử dụng làm vùng biến đổi chuỗi L. Các đột biến D356K và K439E được đưa vào các chuỗi H tương ứng được đưa vào để tạo thành heterome hiệu quả của mỗi chuỗi H khi đưa vào các kháng thể dị đime chứa hai kiểu chuỗi H (WO2006/106905). H435R là biến đổi làm phá vỡ liên kết với Protein A, và được đưa vào để tách hiệu quả heterome và homome (WO/2011/078332).

Một loạt các vectơ biểu hiện chèn bằng polynucleotit mã hóa, mỗi trong số H0000-ERY27_HK (SEQ ID NO: 54), hCE115HA-ERY27_HE (SEQ ID NO: 55), và L0000-k0 (SEQ ID NO: 56) được tạo ra bằng các phương pháp đã biết.

Dạng kết hợp sau đây của các vectơ biểu hiện được đưa vào các tế bào FreeStyle 293-F để biểu hiện tạm thời mỗi phân tử mục tiêu.

Phân tử mục tiêu: GPC3_ERY27_hCE115

Polypeptit được mã hóa bởi polynucleotit được chèn vào vectơ biểu hiện: H0000-ERY27_HK, hCE115HA-ERY27_HE, và L0000-k0

(2-6) Tinh chế GPC3_ERY27_hCE115

Mỗi phân tử quan tâm được tinh chế bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ tham khảo 1-2.

(2-7) Đo hoạt tính gây độc tế bào bằng cách sử dụng các tế bào đơn nhân máu ngoại biên của người

(2-7-1) Chuẩn bị dung dịch tế bào đơn nhân máu ngoại biên (PBMC) của người

Dung dịch được chuẩn bị bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ tham khảo 1-3-1.

(2-7-2) Đo hoạt tính gây độc tế bào

Hoạt tính gây độc tế bào được đo bằng phương pháp được mô tả trong ví dụ tham khảo 1-3-2.

Khi các PBMC được chuẩn bị từ máu của người được sử dụng làm tế bào đáp ứng để đo độc tính tế bào của GPC3_ERY27_hCE115, việc làm giảm hoạt tính được quan sát thấy từ kết quả của việc làm cho chuỗi H của rCE115 tương thích với người và có cùng chuỗi L chung (Fig.2).

Ví dụ tham khảo 3. Sản xuất và đánh giá các biến thể kháng thể đặc hiệu kép được làm cho tương thích với người đối với việc cải thiện các đặc tính khác nhau

Hoạt tính gây độc tế bào phụ thuộc tế bào T của kháng thể đặc hiệu kép kháng chuỗi CD3ε (CD3 epsilon) người và kháng GPC3 người được làm cho tương thích với người thu được trong ví dụ tham khảo 2, GPC3_ERY27_hCE115 (SEQ ID NO: 54, 55, và 56), thấp hơn hoạt tính gây độc tế bào phụ thuộc tế bào T của GPC3_ERY22_rCE115 (SEQ ID NO: 47, 48, 49, và 50). Điều này có thể là do sự giảm ái lực đối với GPC3 và chuỗi CD3ε do việc làm cho tương thích với người và có cùng chuỗi L chung. Đối với GPC3 và kháng nguyên chuỗi CD3ε có trình tự độc lập, cho đến nay không có báo cáo nào về các kháng thể đặc hiệu kép được làm cho tương thích với người mà hoạt tính gây độc tế bào phụ thuộc tế bào T của chúng được tăng cường và ái lực của chúng đối với cả hai kháng nguyên được cải thiện bằng cách sử dụng chuỗi L kháng thể thông thường. Do đó, được cho là khó để thu được các kháng thể được làm cho tương thích với người có tính đặc hiệu kép thể hiện công hiệu của thuốc tương đương hoặc lớn hơn công hiệu của GPC3_ERY22_rCE115.

Trong các trường hợp này, tác giả tạo ra các kháng thể đặc hiệu kép được biến đổi được làm cho tương thích với người với ái lực biến đổi đối với GPC3 của người và chuỗi CD3ε của người bằng các phương pháp đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm việc thay thế hoàn toàn các gốc axit amin được mã hóa bởi gen kháng thể để tạo ra các biến thể kháng thể kháng lại cả hai kháng nguyên GPC3 của người và chuỗi CD3ε của người, và bằng cách thực hiện nhiều đánh giá khác nhau bằng cách sàng lọc. Ngoài ra, phương pháp tương tự được sử dụng để tạo ra các kháng thể đặc hiệu kép được làm cho tương thích với người được biến đổi với các tính chất hóa lý thay đổi. Ngoài ra, bằng cách kết hợp các phần thế của các gốc axit amin có hiệu quả để thay đổi ái lực và các tính chất hóa lý, các kháng thể đặc hiệu kép được tối ưu hóa có hoạt tính TDCC tương đương hoặc lớn hơn độc tính tế bào tế bào phụ thuộc tế bào T của GPC3_ERY22_rCE115 trước khi làm cho tương thích với người được tạo ra.

Việc đưa vào các đột biến điểm, biểu hiện và tinh chế các kháng thể, đo ái lực kháng nguyên, và xác định độc tính tế bào phụ thuộc tế bào T trong việc tối ưu hóa các kháng thể đặc hiệu kép được làm cho tương thích với người được thực hiện bằng các phương pháp tương tự với phương pháp trong ví dụ tham khảo 1 và 2. CDR và FR được xác định theo định nghĩa Kabat (cách đánh số Kabat).

Tùy vào mục đích, các đối tượng sau được sử dụng làm vùng không đổi chuỗi H của kháng thể (đánh số theo EU): E22Hh (SEQ ID NO: 57) được tạo ra bằng cách đưa các đột biến xóa L234A/L235A/N297A/D356C/T366S/L368A/Y407V/G446/xóa K447 vào IgG1 của người; E22Hk (SEQ ID NO: 58) được tạo ra bằng cách đưa các đột biến xóa L234A/L235A/N297A/Y349C/T366W/G446/xóa K447 và đột biến cài xen Ser-Ser ngay trước vị trí 118 vào IgG1 của người; G1dh được tạo ra bằng cách đưa các đột biến xóa D356C/T366S/L368A/Y407V/G446/xóa K447 vào IgG1 của người; none-Hi-Kn010G3 được tạo ra bằng cách đưa các đột biến xóa 118-215 và C220S/Y349C/T366W/H435R vào IgG1 của người; E2702GsKsc (SEQ ID NO: 60) được tạo ra bằng cách đưa các đột biến xóa L235R/S239K/N297A/E356K/R409K/H435R/L445P/G446/xóa K447 vào IgG4 của người; E2704sEpsc (SEQ ID NO: 61) được tạo ra bằng cách đưa các đột biến xóa K196Q/L235R/S239K/N297A/R409K/K439E/L445P/G446/xóa K447 vào IgG4 của người; và E2702sKsc (SEQ ID NO: 62) được tạo ra bằng cách đưa các đột biến xóa

L235R/S239K/N297A/E356K/R409K/L445P/G446/xóa K447 vào IgG4 của người. Ngoài ra, chuỗi κ (kappa) k0 của người (SEQ ID NO: 63) và E22L (SEQ ID NO: 432) được tạo ra bằng cách đưa các đột biến R108A/T109S vào chuỗi κ của người được sử dụng làm các vùng không đổi chuỗi L của kháng thể.

Đột biến dùng Cys thay cho Asp ở vị trí 356 đánh số theo EU, đột biến dùng Ser thay cho The ở vị trí 366 đánh số theo EU, đột biến dùng Ala thay cho Leu ở vị trí 368 đánh số theo EU, đột biến dùng Val thay cho Tyr ở vị trí 407 đánh số theo EU, đột biến dùng Cys thay cho Tyr ở vị trí 349 đánh số theo EU, đột biến dùng Trp thay cho Thr ở vị trí 366 đánh số theo EU, đột biến chèn Ser-Ser ngay trước vị trí 118 là các đột biến tạo ra phân tử dị đime hiệu quả với mỗi chuỗi H khi tạo ra các kháng thể heterome. Tương tự, đột biến dùng Lys thay cho Glu ở vị trí 356 đánh số theo EU và đột biến dùng Glu thay cho Lys ở vị trí 439 đánh số theo EU cũng là các đột biến tạo thành phân tử dị đime hiệu quả với mỗi chuỗi H khi tạo ra các kháng thể heterome. Chúng được mong đợi là cải thiện tính hiệu quả của việc tạo ra kháng thể đặc hiệu kép.

Đột biến dùng Ala thay cho Leu ở vị trí 234 đánh số theo EU, đột biến dùng Ala hoặc Arg thay cho Leu ở vị trí 235 đánh số theo EU, đột biến dùng Lys thay cho Ser ở vị trí 239 đánh số theo EU, và đột biến dùng Ala thay cho Asn ở vị trí 297 đánh số theo EU là các đột biến để làm giảm ái lực đối với thụ thể Fcγ và phần bổ trợ (C1q). Chúng được mong đợi là ức chế liên kết của Fab với CD3 và liên kết ngang qua trung gian bởi Fc của thụ thể Fcγ hoặc phần bổ trợ, và tránh hội chứng giải phóng xytokin đi kèm với việc tăng các chức năng đáp ứng không đặc hiệu.

Chuỗi H được đưa các đột biến xóa vào ở các vị trí 118 đến 215 đánh số theo EU có thể được kết hợp với trình tự chuỗi H có chiều dài đầy đủ để tạo ra kháng thể chỉ có một Fab (kháng thể hóa trị một), và nó hữu ích để đánh giá ái lực.

Đột biến dùng Lys thay cho Arg ở vị trí 409 đánh số theo EU và đột biến dùng Arg thay cho His ở vị trí 435 đánh số theo EU là các đột biến làm biến đổi các tính chất của kháng thể cho giống với các tính chất của IgG1 của người và IgG3 của người, theo thứ tự.

(3-1) Thay đổi ái lực của kháng thể kháng CD3 được làm cho tương thích với người bằng các đột biến điểm

Đầu tiên, các đột biến điểm được đưa vào FR1, FR2, FR3, CDR1, CDR2, và CDR3 của trình tự kháng thể kháng chuỗi CD3ε của người được làm cho tương thích với người tạo ra trong ví dụ tham khảo 2, hCE115HA-ERY27_HE (SEQ ID NO: 55), để tạo ra các kháng thể được biến đổi. Tiếp theo, ái lực của các kháng thể biến đổi này đối với chuỗi CD3ε hòa tan của người được xác định. Các vị trí kết hợp có tác dụng tăng ái lực tạo ra các kháng thể biến đổi có ái lực được thể hiện trong bảng 12.

Bảng 12

Tên kháng thể	KD (CD3 của người)
hCE115HA-E22Hh//-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.43E-07
TR01H083-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0212-k0	5.86E-11
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0240-k0	2.17E-09
TR01H002-E22Hh/GLS3108-k0/GL4-E22Hk/H0610-E22L	2.04E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0212-k0	2.17E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0235-k0	2.81E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0238-k0	2.91E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L016-k0	2.52E-09
TR01H083-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0262-k0	2.45E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0207-k0	2.60E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0241-k0	3.48E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0242-k0	3.58E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0206-k0	2.90E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L019-k0	3.20E-09
TR01H080-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.25E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0211-k0	3.22E-09
TR01H002-E22Hh//-Hi-Kn010G3/GLC3108-k0	4.61E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0209-k0	4.25E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0208-k0	4.16E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0224-k0	5.06E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0236-k0	5.64E-09
TR01H083-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0201-k0	4.42E-09
TR01H084-E2702GsKsc/none-Hi-E2704sE/L0011-k0	4.14E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0210-k0	5.06E-09
TR01H114-E2702GsKsc/none-Hi-E2704sE/L0011-k0	4.22E-09
CE115HA236-E22Hh/GLS3108-k0/GL4-E22Hk/H0610-E22L	6.08E-09
TR01H077-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0200-k0	6.12E-09
TR01H071-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0200-k0	6.13E-09
TR01H111-E2702GsKsc/none-Hi-E2704sE/L0011-k0	4.91E-09
TR01H081-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0262-k0	5.76E-09
TR01H001-E22Hh//-Hi-Kn010G3/GLC3108-k0	6.22E-09
CE115HA179-G1dh//-Hi-Kn010G3/L0000-k0	8.35E-09
TR01H112-E2702GsKsc/none-Hi-E2704sE/L0011-k0	5.12E-09
TR01H113-E2702GsKsc/none-Hi-E2704sE/L0011-k0	5.14E-09
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0212-k0	4.75E-09
CE115HA236-E22Hh//-Hi-Kn010G3/GLC3108-k0	9.10E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0231-k0	7.75E-09
TR01H037-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	6.93E-09
CE115HA252-E22Hh//-Hi-Kn010G3/L0000-k0	9.48E-09
TR01H083-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	6.70E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0223-k0	8.15E-09
TR01H083-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	6.83E-09
TR01H071-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	8.85E-09
TR01H067-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0212-k0	5.88E-09
CE115HA178-G1dh//-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.09E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0237-k0	1.02E-08
TR01H083-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0222-k0	9.42E-09
TR01H084-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0262-k0	8.51E-09
TR01H071-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0215-k0	9.51E-09
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0218-k0	8.20E-09
TR01H081-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0201-k0	9.46E-09
TR01H071-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0222-k0	1.04E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0220-k0	9.15E-09
TR01H067-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L016-k0	1.09E-08
TR01H002-E22Hh/GLS3108-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L	4.78E-09
TR01H067-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L019-k0	1.21E-08
TR01H038-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.24E-08
TR01H061-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0200-k0	1.27E-08
TR01H082-E2702GsKsc/none-Hi-E2704sE/L0011-k0	1.01E-08
CE115HA180-G1dh//-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.68E-08
CE115HA251-E22Hh/L0000-k0/GL4-E22Hk/H0610-E22L	1.37E-08
TR01H100-E2702GsKsc/none-Hi-E2704sE/L0011-k0	1.11E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0228-k0	1.80E-08
TR01H081-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	1.35E-08
TR01H061-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0215-k0	1.54E-08
TR01H110-E2702GsKsc/none-Hi-E2704sE/L0011-k0	1.26E-08
TR01H043-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.52E-08
TR01H081-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.56E-08
CE115HA251-E22Hh//-Hi-Kn010G3/L0000-k0	2.23E-08
TR01H091-E2702GsKsc/none-Hi-E2704sE/L0011-k0	1.39E-08
CE115HA236-E22Hh/GLS3108-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L	6.95E-09
TR01H084-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0201-k0	1.65E-08
TR01H072-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	2.03E-08
TR01H099-E2702GsKsc/none-Hi-E2704sE/L0011-k0	1.46E-08
TR01H061-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0222-k0	1.88E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0239-k0	2.31E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0262-k0	1.81E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0234-k0	2.40E-08
TR01H012-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	7.94E-09
TR01H061-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.71E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0243-k0	2.46E-08
TR01H109-E2702GsKsc/none-Hi-E2704sE/L0011-k0	1.64E-08
TR01H047-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	2.04E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0267-k0	2.29E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0266-k0	2.29E-08
TR01H084-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	1.98E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0250-k0	2.15E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0204-k0	2.21E-08
TR01H084-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	2.13E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0213-k0	2.01E-08

Tên kháng thể	KD (CD3 của người)
hCE115HA-E22Hh//-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.43E-07
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0214-k0	2.02E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0217-k0	2.07E-08
TR01H071-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0226-k0	2.51E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0200-k0	2.87E-08
TR01H074-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	2.91E-08
TR01H039-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	2.61E-08
CE115HA177-G1dh//-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.55E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0201-k0	2.81E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0263-k0	3.09E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.60E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0216-k0	2.53E-08
TR01H051-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	2.91E-08
TR01H003-E22Hh//-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.03E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0264-k0	3.44E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0232-k0	3.86E-08
TR01H041-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.16E-08
CE115HA122-E22Hh//-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.28E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0233-k0	4.01E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0215-k0	3.37E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0203-k0	3.24E-08
TR01H015-E2702GsKsc/GCH019-E2704sEpsc/L0000-k0	2.96E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L008-k0	2.93E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0205-k0	3.42E-08
TR01H015-E22Hh/L0000-k0/GL4-E22Hk/H0610-E22L	3.57E-08
TR01H064-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.07E-08
TR01H044-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.52E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0262-k0	3.98E-08
TR01H062-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.13E-08
CE115HA251-E22Hh/L0000-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L	1.48E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	3.48E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0222-k0	4.65E-08
CE115HA192-E22Hh//-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.05E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L010-k0	3.28E-08
TR01H025-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.86E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L023-k0	4.25E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L015-k0	3.95E-08
TR01H055-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.88E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0260-k0	4.53E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L009-k0	3.56E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L011-k0	3.57E-08
TR01H017-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.50E-08
CE115HA122-E22Hh/L0000-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L	1.69E-08
TR01H076-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.78E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0258-k0	4.70E-08
TR01H046-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.23E-08
rCE115H-G1dh//-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.76E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L024-k0	4.76E-08
TR01H016-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.69E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L018-k0	4.51E-08
TR01H084-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0271-k0	2.76E-08
TR01H084-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0270-k0	2.76E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000vk1-k0	4.69E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0219-k0	3.94E-08
TR01H014-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.87E-08
TR01H061-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0226-k0	4.71E-08
TR01H048-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.52E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0259-k0	5.07E-08
TR01H028-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.80E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0201-k0	4.49E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L013-k0	4.15E-08
TR01H033-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.88E-08
hCE115HA-G1dh//-Hi-Kn010G3/L0000-k0	6.50E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L012-k0	4.22E-08
TR01H065-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.31E-08
TR01H079-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.05E-08
TR01H042-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.48E-08
TR01H063-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.35E-08
TR01H084-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0272-k0	3.10E-08
CE115HA121-E22Hh//-Hi-Kn010G3/L0000-k0	6.76E-08
TR01H026-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.12E-08
TR01H067-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0262-k0	4.92E-08
TR01H073-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.97E-08
TR01H045-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.22E-08
TR01H007-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	2.17E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0203-k0	4.07E-08
TR01H032-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.73E-08
TR01H006-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	2.30E-08
TR01H013-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.94E-08
TR01H050-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.76E-08
TR01H067-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0200-k0	6.03E-08
TR01H015-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	6.13E-08
hCE115HA-E22Hh/L0000-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L	6.16E-08
hCE115HA-E22stHh/none-Hi-stKn010G3/L0000-k0	5.17E-08
TR01H069-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	7.11E-08
TR01H015-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L003-k0	6.34E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0202-k0	6.19E-08
TR01H067-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0201-k0	5.93E-08
TR01H020-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	6.48E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	5.95E-08

Tên kháng thể	KD (CD3 của người)
hCE115HA-E22Hh//-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.43E-07
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L018-k0	4.72E-08
TR01H015-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L005-k0	6.53E-08
TR01H052-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	6.27E-08
TR01H036-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	6.50E-08
TR01H067-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0203-k0	4.79E-08
TR01H030-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	6.54E-08
TR01H015-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L001-k0	6.56E-08
TR01H100-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	6.25E-08
TR01H029-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	6.70E-08
TR01H019-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	6.85E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	7.37E-08
TR01H018-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	6.93E-08
TR01H027-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	6.95E-08
TR01H049-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	6.79E-08
TR01H066-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	6.02E-08
TR01H091-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	6.67E-08
rCE115H-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	8.00E-08
TR01H015-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L002-k0	7.14E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0226-k0	8.01E-08
TR01H067-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L018-k0	5.26E-08
TR01H093-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	6.80E-08
TR01H067-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0215-k0	7.41E-08
TR01H015-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L004-k0	7.34E-08
TR01H107-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	6.91E-08
TR01H105-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	6.95E-08
TR01H090-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	6.95E-08
TR01H108-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	6.98E-08
TR01H094-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	7.00E-08
TR01H109-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	7.06E-08
TR01H056-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	7.32E-08
TR01H031-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	7.55E-08
TR01H022-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	7.58E-08
TR01H092-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	7.21E-08
TR01H067-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	7.15E-08
TR01H067-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	7.18E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0248-k0	7.89E-08
TR01H009-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.15E-08
TR01H023-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	7.94E-08
TR01H096-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	7.47E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L007-k0	6.82E-08
TR01H054-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	7.79E-08
TR01H021-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	8.05E-08
TR01H103-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	7.72E-08
TR01H099-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	7.74E-08
rCE115H-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000vk1-k0	8.52E-08
TR01H101-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	7.87E-08
TR01H053-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	8.23E-08
TR01H035-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	8.49E-08
TR01H067-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L015-k0	8.64E-08
TR01H104-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	8.26E-08
TR01H075-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	9.88E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0227-k0	1.01E-07
TR01H102-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	8.54E-08
TR01H034-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	9.11E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0222-k0	1.01E-07
rCE115H-E22Hh/rCE115L-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L	9.37E-08
TR01H015-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L006-k0	9.30E-08
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0246-k0	9.28E-08
TR01H097-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	8.76E-08
TR01H011-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.71E-08
TR01H010-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.73E-08
TR01H095-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	9.09E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L020-k0	1.06E-07
TR01H098-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	9.14E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/TR01L017-k0	1.09E-07
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0247-k0	1.00E-07
rCE115H-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/rCE115L-k0	1.24E-07
TR01H004-E22Hh//-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.35E-07
TR01H067-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0222-k0	7.63E-08
rCE115H-E22Hh//-Hi-Kn010G3/rCE115L-k0	1.38E-07
TR01H008-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.22E-08
TR01H070-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.20E-07
TR01H106-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	1.00E-07
TR01H024-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.08E-07
CE115HA124-E22Hh//-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.43E-07
TR01H040-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0249-k0	1.11E-07
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0271-k0	6.82E-08
TR01H057-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.12E-07
TR01H058-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.15E-07
TR01H068-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.01E-07
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0270-k0	7.42E-08
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0272-k0	7.44E-08
hCE115HA-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.24E-07
TR01H082-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0268-k0	1.36E-07
hCE115HAa-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.08E-07
TR01H067-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0226-k0	1.32E-07
TR01H067-E22Hh/none-Hi-Kn010G3/L0248-k0	1.39E-07

(3-2) Biến đổi ái lực của kháng thể kháng GPC3 được làm cho tương thích với người

Đầu tiên, các đột biến điểm được đưa vào CDR1, CDR2, và CDR3 của trình tự

kháng thể đặc hiệu kép kháng GPC3 của người tạo ra trong ví dụ tham khảo 2, H0000-ERY27_HK (SEQ ID NO: 54), để tạo ra các kháng thể biến đổi. Tiếp theo, xác định ái lực của các kháng thể cải biến này đối với GPC3 hòa tan của người. Các vị trí kết hợp có tác dụng tăng ái lực tạo ra các kháng thể biến đổi có ái lực được thể hiện trong bảng 13.

Bảng 13

Tên kháng thể	KD (CD3 của người)
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.97E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0222-k0	1.40E-13
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0258-k0	3.52E-13
GCH054-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0262-k0	5.25E-13
GCH060-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0222-k0	6.42E-13
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0246-k0	1.21E-12
GCH057-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0222-k0	1.85E-12
GCH054-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0249-k0	3.61E-12
GCH055-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0222-k0	3.90E-12
GCH094-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0246-k0	4.12E-12
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0249-k0	6.86E-12
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/TR01L017-k0	8.27E-12
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0265-k0	8.70E-12
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0261-k0	1.07E-11
GCH065-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0262-k0	1.18E-11
GCH056-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0262-k0	1.19E-11
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0268-k0	1.69E-11
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/TR01L020-k0	2.24E-11
GCH054-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0246-k0	3.15E-11
GCH054-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0222-k0	3.15E-11
GCH073-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0201-k0	3.50E-11
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0248-k0	5.55E-11
GCH065-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0201-k0	7.74E-11
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0226-k0	9.30E-11
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0093-k0	1.06E-10
GCH098-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0201-k0	1.11E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0267-k0	1.79E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0228-k0	2.02E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0262-k0	2.11E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0266-k0	2.13E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0264-k0	2.19E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0224-k0	2.43E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0167-k0	2.11E-10
CE115HA251-E22Hh/L0000-k0/GL4-E22Hk/H0610-E22L	2.36E-10
TR01H015-E22Hh/L0000-k0/GL4-E22Hk/H0610-E22L	2.63E-10
CE115HA236-E22Hh/GLS3108-k0/GL4-E22Hk/H0610-E22L	2.67E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0259-k0	3.34E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0227-k0	4.08E-10
GCH065-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0272-k0	3.93E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0269-k0	4.59E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0223-k0	4.75E-10
TR01H002-E22Hh/GLS3108-k0/GL4-E22Hk/H0610-E22L	4.75E-10
GCH054-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0212-k0	5.17E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0208-k0	5.30E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0263-k0	5.64E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0231-k0	5.89E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0143-k0	5.73E-10
GCH055-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0212-k0	6.14E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0211-k0	6.47E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0238-k0	6.37E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0214-k0	6.57E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0243-k0	6.49E-10
GCH025-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0204-k0	6.70E-10
GCH054-G1dh/none-Hi-Kn010G3/TR01L016-k0	7.63E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0168-k0	6.99E-10
GCH094-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0271-k0	6.92E-10
GCH054-G1dh/none-Hi-Kn010G3/TR01L019-k0	8.71E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0234-k0	7.78E-10
GCH098-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	8.02E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0204-k0	7.27E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0240-k0	8.48E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0239-k0	8.74E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0212-k0	9.94E-10
GCH065-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	8.84E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0200-k0	1.04E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0124-k0	9.72E-10
GCH073-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	9.10E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/TR01L016-k0	1.08E-09
GCH054-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0201-k0	1.08E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0090-k0	1.12E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0209-k0	1.12E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0201-k0	1.13E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0161-k0	9.73E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0206-k0	8.65E-10
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0186-k0	1.08E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/TR01L019-k0	1.15E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0085-k0	1.17E-09
GCH055-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0200-k0	1.13E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0154-k0	1.01E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0229-k0	1.20E-09
GCH054-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0200-k0	1.18E-09
GCH094-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0201-k0	1.17E-09

Tên kháng thể	KD (CD3 của người)
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.97E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0205-k0	1.01E-09
GCH099-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0201-k0	1.29E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0242-k0	1.19E-09
GCH056-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0201-k0	1.16E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0213-k0	1.25E-09
GCH060-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0200-k0	1.34E-09
GCH055-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.41E-09
GCH100-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0201-k0	1.37E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0015-k0	1.31E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0151-k0	1.25E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0237-k0	1.31E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0220-k0	1.36E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0155-k0	1.28E-09
GCH055-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0215-k0	1.52E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0202-k0	1.22E-09
GCH056-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0215-k0	1.59E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0012-k0	1.55E-09
GCH054-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0215-k0	1.62E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0215-k0	1.64E-09
GCH098-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	1.77E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0125-k0	1.71E-09
GCH057-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0215-k0	1.83E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0217-k0	1.79E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0014-k0	1.82E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0216-k0	1.86E-09
TR01H015-E2702GsKsc/GCH019-E2704sEpsc/L0000-k0	1.64E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/TR01L015-k0	2.16E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/TR01L018-k0	2.17E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0218-k0	1.99E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000vk1-k0	2.16E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0160-k0	2.12E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0047-k0	2.23E-09
GCH073-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	2.00E-09
GCH054-G1dh/none-Hi-Kn010G3/TR01L015-k0	2.45E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0219-k0	2.28E-09
GCH094-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0272-k0	2.10E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0149-k0	2.16E-09
GCH054-G1dh/none-Hi-Kn010G3/TR01L018-k0	2.59E-09
GCH054-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0203-k0	2.48E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0122-k0	2.42E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0134-k0	2.53E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0152-k0	2.36E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0203-k0	2.11E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0075-k0	2.85E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0038-k0	2.75E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	2.76E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0157-k0	2.60E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0145-k0	2.66E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/TR01L010-k0	2.92E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0009-k0	2.99E-09
GCH099-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	2.78E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0006-k0	3.04E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0173-k0	2.83E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0127-k0	3.12E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0082-k0	3.43E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0064-k0	3.37E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0008-k0	3.30E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0013-k0	3.35E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0140-k0	3.38E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0039-k0	3.41E-09
GCH043-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.74E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/TR01L008-k0	3.48E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0148-k0	3.28E-09
GCH062-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.73E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0163-k0	3.38E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0233-k0	3.55E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0230-k0	4.00E-09
GCH006-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.06E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0032-k0	3.72E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0181-k0	3.51E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/TR01L009-k0	3.81E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0141-k0	3.86E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0079-k0	4.23E-09
GCH094-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0270-k0	3.60E-09
GCH066-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.29E-09
GCH064-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.14E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0066-k0	4.20E-09
GCH027-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.83E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0003-k0	4.01E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0042-k0	4.27E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/TR01L011-k0	4.02E-09

Tên kháng thể	KD (CD3 của người)
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	3.97E-09
GCH015-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.14E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0175-k0	3.84E-09
GCH100-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	3.81E-09
GCH014-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.20E-09
GCH053-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.05E-09
hCE115HA-E22Hh/L0000-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L	4.28E-09
GCH094-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	3.88E-09
GCH045-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.63E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/TR01L012-k0	4.25E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0115-k0	4.34E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0044-k0	4.57E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0107-k0	4.38E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0007-k0	4.39E-09
GCH013-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.44E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0045-k0	4.66E-09
GCH010-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.12E-09
GCH040-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.80E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0002-k0	4.43E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0016-k0	4.44E-09
GCH007-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.93E-09
GCH042-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.89E-09
rCE115H-E22Hh/rCE115L-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L	4.57E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0120-k0	4.54E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0065-k0	4.79E-09
GCH016-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.59E-09
GCH035-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.94E-09
GCH039-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.95E-09
GCH099-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.24E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0041-k0	4.85E-09
GCH019-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.36E-09
GCH029-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.01E-09
GCH056-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	4.31E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0147-k0	4.38E-09
GCH034-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.09E-09
GCH003-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.20E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0139-k0	4.78E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0089-k0	5.24E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0113-k0	4.82E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0180-k0	4.48E-09
GCH005-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.32E-09
GCH067-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.24E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0187-k0	4.92E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0043-k0	5.14E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0117-k0	4.92E-09
GCH061-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.13E-09
GCH022-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.92E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0091-k0	5.43E-09
GCH023-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	4.94E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0062-k0	5.28E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0136-k0	5.04E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/TR01L003-k0	5.08E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0069-k0	5.32E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0123-k0	5.08E-09
GCH025-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.05E-09
GCH100-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.39E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0046-k0	5.45E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0144-k0	4.84E-09
GCH026-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.17E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0138-k0	5.24E-09
GCH056-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.03E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0129-k0	5.28E-09
GCH032-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.74E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/TR01L005-k0	5.37E-09
GCH012-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.40E-09
GCH055-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.60E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0104-k0	5.90E-09
GCH059-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.70E-09
GCH054-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.30E-09
GCH008-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.55E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0232-k0	5.38E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0126-k0	5.62E-09
GCH094-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.89E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0132-k0	5.65E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0106-k0	5.66E-09
GCH054-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0011-k0	5.25E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0109-k0	5.70E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0063-k0	6.03E-09
GCH068-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	6.23E-09
GCH057-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0000-k0	5.61E-09
H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/L0137-k0	5.87E-09

(3-3) Biến đổi pI bằng các đột biến điểm

Trong sản xuất thương mại các kháng thể đặc hiệu kép, mức độ tinh khiết cao

là cần thiết. Khi sử dụng sắc ký trao đổi ion, sự thay đổi điểm đẳng điện (pI) của phân tử được báo cáo là có hiệu quả (PLoS One. 2013;8(2):e57479). Do đó, các đột biến điểm đối với các thay đổi pI được đưa vào CDR1, CDR2, và CDR3 của trình tự kháng thể kháng GPC3 của người được làm cho tương thích với người tạo ra trong ví dụ tham khảo 2, H0000-ERY27_HK (SEQ ID NO: 54), để tạo ra các kháng thể biến đổi. Tiếp theo, ái lực của các kháng thể biến đổi này đối với GPC3 hòa tan của người được xác định.

Kết quả là, các biến đổi axit amin mà có thể làm giảm pI trong khi vẫn giữ được ái lực đối với GPC3 của người được thấy là các axit amin ở vị trí 19, 43, 53, và 61 theo cách đánh số Kabat.

Tổ hợp các vị trí cho thấy tác dụng duy trì ái lực đối với GPC3 của người và làm giảm pI tạo ra các kháng thể có ái lực và giá trị pI được thể hiện trong bảng 14.

Bảng 14

Tên kháng thể (kháng thể homome)	Giá trị pI tính được (kháng thể homome)	Tên kháng thể (kháng thể một nhánh)	KD của GPC3 của người (kháng thể một nhánh)	Các vị trí đột biến dựa trên H0610-E2704sEpsc
H0610-E2704sEpsc/ L0000-k0	7,8	H0610-G1dh/none-Hi-Kn010G3/ L0000-k0	4,16E-09	-
GCH054-E2704sEpsc/ L0011-k0	6,2	GCH054-G1dh/none-Hi-Kn010G3/ L0011-k0	5,25E-09	K19T/Q43E/P52aG/K53E/G55P/Q61E
GCH065-E2704sEpsc/ L0011-k0	6,4	GCH065-G1dh/none-Hi-Kn010G3/ L0011-k0	8,84E-10	K19T/Q43E/P52aG/K53E/G55P/Q61E
GCH094-E2704sEpsc/ L0011-k0	6,2	GCH094-G1dh/none-Hi-Kn010G3/ L0011-k0	4,54E-09	K19T/I37V/P40A/Q43E/I48M/P52aG/K53E/G55P/Q61E

(3-4) Biến đổi khả năng liên kết nền ngoại bào bằng đột biến điểm

Đã được báo cáo rằng liên kết không đặc hiệu với nền ngoại bào (extracellular matrix-ECM) và liên kết tương tự có thể có ảnh hưởng đến đặc điểm dược động học (MAbs. 2012 Nov-Dec;4(6):753-60). Do đó, khả năng liên kết ECM của các kháng thể biến đổi thu được trong các ví dụ tham khảo được xác định bằng phương pháp được nêu trong ví dụ tham khảo 8. Kết quả là, kháng thể đặc hiệu kép kháng chuỗi CD3ε của người và kháng GPC3 của người được làm cho tương thích với người, GPC3_ERY27_hCE115 (SEQ ID NO: 54, 55, và 56), được xác nhận là có khả năng liên kết ECM cao. Do đó, bất kỳ trong số các đột biến điểm được kiểm tra trong các ví dụ

tham khảo 3-1, 3-2, và 3-3 đối với trình tự kháng thể kháng chuỗi CD3ε của người được làm cho tương thích với người hCE115HA-ERY27_HE (SEQ ID NO: 55) được kiểm tra là hỗn hợp làm giảm khả năng liên kết ECM. Kết quả là, các axit amin ở vị trí 11, 16, 52a, 53, 98, và 100 theo cách đánh số Kabat được thấy là góp phần duy trì ái lực đối với CD3ε và có ảnh hưởng đến sự giảm khả năng liên kết ECM, và các kháng thể có khả năng liên kết ECM giảm so với khả năng liên kết ECM của biến thể kháng thể của được làm cho tương thích với người kháng thể đặc hiệu kép kháng chuỗi CD3ε của người và kháng GPC3 của người, GPC3_ERY27_hCE115, được thu nhận (bảng 15).

Bảng 15

Tên kháng thể	Tỷ số liên kết ECM (chuẩn = 1)
GPC3_ERY22_CE115 (rCE115H-E22Hh/rCE115L-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L)	4.0
GPC3_ERY27 (hCE115HA-E22Hh/L0000-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L)	50.9
CE115HA236-E22Hh/GLS3108-k0/GL4-E22Hk/H0610-E22L	429.9
CE115HA236-E22Hh/GLS3108-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L	414.8
CE115HA251-E22Hh/L0000-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L	346.9
CE115HA251-E22Hh/L0000-k0/GL4-E22Hk/H0610-E22L	334.4
TR01H002-E22Hh/GLS3108-k0/GL4-E22Hk/H0610-E22L	301.1
TR01H002-E22Hh/GLS3108-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L	216.9
TR01H015-E22Hh/L0000-k0/GL4-E22Hk/H0610-E22L	185.7
TR01H040-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0208-k0	50.4
CE115HA122-E22Hh/L0000-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L	47.0
TR01H040-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0211-k0	15.5
TR01H040-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0206-k0	15.4
TR01H040-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0209-k0	7.4
rCE115H-E22Hh/rCE115L-k0/GL4-E22Hk/H0610-E22L	4.6
TR01H040-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0204-k0	4.4
TR01H067-E2702GsKsc/GCH054-E2704sEpsc/L0212-k0	3.3
TR01H113-E2702GsKsc/GCH065-E2704sEpsc/L0011-k0	2.5
TR01H082-E2702GsKsc/GCH065-E2704sEpsc/L0011-k0	1.7
TR01H113-E2702GsKsc/GCH094-E2704sEpsc/L0011-k0	1.6
rCE115H-E22Hh/rCE115L-k0/L0000-E22Hk/H0610-E22L	1.4
TR01H084-E2702GsKsc/GCH065-E2704sEpsc/L0011-k0	1.3
TR01H084-E2702GsKsc/GCH094-E2704sEpsc/L0011-k0	1.2
TR01H082-E2702GsKsc/GCH094-E2704sEpsc/L0201-k0	1.1
TR01H040-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0000-k0	0.8
TR01H040-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0201-k0	0.8
TR01H040-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0203-k0	0.8
TR01H082-E2702GsKsc/GCH094-E2704sEpsc/L0011-k0	0.7
TR01H109-E2702GsKsc/GCH065-E2704sEpsc/L0011-k0	0.7
TR01H067-E2702GsKsc/GCH054-E2704sEpsc/L0222-k0	0.6
TR01H067-E2702GsKsc/GCH054-E2704sEpsc/L0201-k0	0.5
TR01H109-E2702GsKsc/GCH094-E2704sEpsc/L0011-k0	0.4
TR01H113-E2702sKsc/GCH065-E2704sEpsc/L0011-k0	0.3
MRAH-G1d/MRAL-k0 (chuẩn)	1

(3-5) Biến đổi ái lực liên kết với phối tử SuRe™ bằng các đột biến điểm

Ví dụ trong đó liên kết của kháng thể với Protein A phụ thuộc vào trình tự vùng biến đổi (VH3) của nó là đã biết (J Biomol Tech. 2011 Jul; 22(2):50-2). Trong việc tinh chế Protein A của kháng thể đặc hiệu kép kháng chuỗi CD3ε của người và kháng GPC3 của người được làm cho tương thích với người, việc loại bỏ kháng thể kháng CD3 dạng homome là quan trọng để ức chế phản ứng không đặc hiệu thông qua CD3. Do đó, được cho là mong muốn ức chế liên kết của kháng thể kháng CD3 dạng homome với Protein A. Có thể là, phối tử SuRe™ sẽ được sử dụng trong sản xuất thương mại, và do đó các đột biến điểm đối với liên kết phối tử SuRe™ được đưa vào CDR2 của biến thể chuỗi H của kháng thể kháng CD3 được làm cho tương thích với người, TR01H082-E2702GsKsc và TR01H084-E2702GsKsc (SEQ ID NO: 398 và 399), để tạo ra các kháng thể được biến đổi. Khả năng liên kết của các kháng thể biến đổi này với phối tử SuRe™ được xác định bằng các phương pháp được mô tả trong ví dụ tham khảo 9. Kết quả là, các axit amin ở vị trí 19, 57, và 59 theo cách đánh số Kabat được thấy là góp phần duy trì ái lực đối với CD3ε và có ảnh hưởng đến khả năng liên kết phối tử Sure™, và các kháng thể có khả năng liên kết phối tử Sure™ giảm so với khả năng liên kết phối tử của TR01H082-E2702GsKsc/L0011-k0 (SEQ ID NO: 398 và 410) hoặc TR01H084-E2702GsKsc/L0011-k0 (SEQ ID NO: 399 và 410) thu được (bảng 16).

Bảng 16

Tên kháng thể	Liên kết Sure™ (RU)	Các vị trí đột biến dựa trên CE115HA000
TR01H084-E2702GsKsc/L0011-k0	5065.8	R16G/A52aD/N53Q/D72A/L78I/G98A/Y100G/A102I
TR01H082-E2702GsKsc/L0011-k0	4469.2	V11L/A52aD/N53Q/G98A/Y100G
TR01H090-E2702GsKsc/L0011-k0	3606.3	V11L/R16G/A52aD/N53Q/G98A/Y100G
TR01H093-E2702GsKsc/L0011-k0	2459.7	V11L/A52aD/N53Q/K64Q/G98A/Y100G
TR01H094-E2702GsKsc/L0011-k0	2351.9	V11L/A52aD/N53Q/K64S/G98A/Y100G
TR01H114-E2702GsKsc/L0011-k0	1485.5	R16G/A52aD/N53Q/T57S/D72A/L78I/G98A/Y100G/A102I
TR01H092-E2702GsKsc/L0011-k0	1159.5	V11L/A52aD/N53Q/K64A/G98A/Y100G
TR01H100-E2702GsKsc/L0011-k0	383.0	V11L/A52aD/N53Q/T57S/G98A/Y100G
TR01H111-E2702GsKsc/L0011-k0	50.7	R16G/R19K/A52aD/N53Q/D72A/L78I/G98A/Y100G/A102I
TR01H110-E2702GsKsc/L0011-k0	29.5	R19K/A52aD/N53Q/G98A/Y100G
TR01H091-E2702GsKsc/L0011-k0	27.5	V11L/R19K/A52aD/N53Q/G98A/Y100G
TR01H091-E2702GsKsc/L0011-k0	15.0	V11L/R19K/A52aD/N53Q/G98A/Y100G
TR01H112-E2702GsKsc/L0011-k0	8.8	R16G/A52aD/N53Q/T57Q/D72A/L78I/G98A/Y100G/A102I
TR01H113-E2702GsKsc/L0011-k0	7.0	R16G/A52aD/N53Q/Y59V/D72A/L78I/G98A/Y100G/A102I
TR01H096-E2702GsKsc/L0011-k0	2.7	V11L/A52aD/N53Q/T57G/G98A/Y100G
TR01H109-E2702GsKsc/L0011-k0	2.2	V11L/A52aD/N53Q/Y59V/G98A/Y100G
TR01H098-E2702GsKsc/L0011-k0	1.6	V11L/A52aD/N53Q/T57P/G98A/Y100G
TR01H107-E2702GsKsc/L0011-k0	1.4	V11L/A52aD/N53Q/Y59Q/G98A/Y100G
TR01H103-E2702GsKsc/L0011-k0	1.4	V11L/A52aD/N53Q/Y59G/G98A/Y100G
TR01H104-E2702GsKsc/L0011-k0	1.0	V11L/A52aD/N53Q/Y59I/G98A/Y100G
TR01H105-E2702GsKsc/L0011-k0	0.8	V11L/A52aD/N53Q/Y59L/G98A/Y100G
TR01H099-E2702GsKsc/L0011-k0	0.6	V11L/A52aD/N53Q/T57Q/G98A/Y100G
TR01H102-E2702GsKsc/L0011-k0	0.5	V11L/A52aD/N53Q/Y59F/G98A/Y100G
TR01H101-E2702GsKsc/L0011-k0	0.5	V11L/A52aD/N53Q/T57V/G98A/Y100G
TR01H108-E2702GsKsc/L0011-k0	0.4	V11L/A52aD/N53Q/Y59T/G98A/Y100G
TR01H097-E2702GsKsc/L0011-k0	0.1	V11L/A52aD/N53Q/T57L/G98A/Y100G
TR01H106-E2702GsKsc/L0011-k0	0.0	V11L/A52aD/N53Q/Y59P/G98A/Y100G
TR01H095-E2702GsKsc/L0011-k0	-0.2	V11L/A52aD/N53Q/T57F/G98A/Y100G

(3-6) Sản xuất các kháng thể đặc hiệu kép được tối ưu hóa bằng cách kết hợp các đột biến điểm dẫn đến sự cải thiện nhiều đặc tính khác nhau

Các kháng thể được biến đổi tối ưu có thể được sản xuất bằng cách kết hợp các đột biến điểm dẫn đến sự cải thiện nhiều đặc tính khác nhau như được nêu trong ví dụ tham khảo 3-1 đến 3-5. Lấy ví dụ về các kháng thể biến đổi này, các kháng thể được nêu trong bảng 17 được tạo ra, và chúng được đánh giá độc tính tế bào phụ thuộc tế bào T (TDCC) bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với phương pháp nêu trong ví dụ tham khảo 1. Kết quả được thể hiện trên các Fig. 15 đến 20. Kết quả là, các kháng thể đặc hiệu kép kháng chuỗi CD3ε của người và kháng GPC3 của người được làm cho tương thích với người tối ưu thể hiện độc tính tế bào phụ thuộc tế bào T tương đương với hoặc lớn hơn độc tính phụ thuộc tế bào T của GPC3_ERY22_rCE115 trước khi thu được sự tương thích với người.

Bảng 17

Số mẫu trong thử nghiệm TDCC, viết tắt của tên kháng thể trong đánh giá hiệu quả thuốc	
Số mẫu trong thử nghiệm TDCC	Viết tắt của tên kháng thể
1	GPC3_ERY22_CE115 (rCE115H-E22Hh/rCE115L-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L)
2	GPC3_ERY27 (hCE115HA-E22Hh/L0000-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L)
3	CE115HA251-E22Hh/L0000-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L
4	CE115HA236-E22Hh/GLS3108-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L
5	TR01H002-E22Hh/GLS3108-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L
6	CE115HA122-E22Hh/L0000-k0/GL4-E22Hk/H0000-E22L
7	rCE115H-E22Hh/rCE115L-k0/L0000-E22Hk/H0610-E22L
8	rCE115H-E22Hh/rCE115L-k0/GL4-E22Hk/H0610-E22L
13	TR01H040-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0000-k0
14	TR01H040-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0201-k0
15	TR01H040-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0203-k0
16	TR01H040-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0204-k0
17	TR01H040-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0206-k0
18	TR01H040-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0208-k0
19	TR01H040-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0209-k0
20	TR01H040-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0211-k0
21	rCE115H-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0000-k0
22	TR01H061-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0000-k0
23	TR01H068-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0000-k0
24	TR01H071-E2702GsKsc/H0610-E2704sEpsc/L0000-k0
25	TR01H067-E2702GsKsc/GCH054-E2704sEpsc/L0201-k0
26	TR01H067-E2702GsKsc/GCH054-E2704sEpsc/L0212-k0
27	TR01H067-E2702GsKsc/GCH054-E2704sEpsc/L0222-k0
28	TR01H067-E2702GsKsc/ GCH054-E2704sEpsc/L0000-k0
29	TR01H082-E2702GsKsc/GCH094-E2704sEpsc/L0201-k0
30	TR01H082-E2702GsKsc/GCH094-E2704sEpsc/L0011-k0
31	TR01H084-E2702GsKsc/GCH094-E2704sEpsc/L0011-k0
32	TR01H084-E2702GsKsc/GCH065-E2704sEpsc/L0011-k0
33	TR01H082-E2702GsKsc/GCH065-E2704sEpsc/L0011-k0
34	TR01H109-E2702GsKsc/GCH094-E2704sEpsc/L0011-k0
35	TR01H109-E2702GsKsc/GCH065-E2704sEpsc/L0011-k0
36	TR01H113-E2702GsKsc/GCH094-E2704sEpsc/L0011-k0
37	TR01H113-E2702GsKsc/GCH065-E2704sEpsc/L0011-k0
38	TR01H113-E2702sKsc/GCH065-E2704sEpsc/L0011-k0

Các ví dụ tham khảo 3-1 đến 3-6 cho thấy rằng các gốc axit amin, ví dụ, là quan trọng để duy trì các đặc tính của các kháng thể đặc hiệu kép kháng chuỗi CD3ε của người và kháng GPC3 của người được tối ưu hóa thể hiện độc tính tế bào phụ thuộc tế bào T tương đương với hoặc lớn hơn độc tính phụ thuộc tế bào T của GPC3_ERY22_rCE115 trước khi thu được sự tương thích với người.

Ở các kháng thể kháng chuỗi CD3ε của người, ví dụ là Leu ở vị trí 11, Gly ở vị trí 16, Asp ở vị trí 52a, Gln ở vị trí 53, Ala ở vị trí 72, Ile ở vị trí 78, Ala ở vị trí 98, Gly ở vị trí 100, và Ile ở vị trí 102. Ở các kháng thể kháng GPC3 của người, các ví dụ là Thr ở vị trí 19, Glu ở vị trí 43, Gly ở vị trí 52a, Pro hoặc Glu ở vị trí 53, Pro ở vị trí 55, và

Glu ở vị trí 61. Ngoài ra, trong chuỗi L chung của kháng thể, các ví dụ là Pro ở vị trí 25, Pro ở vị trí 27a, Pro ở vị trí 27b, Ile ở vị trí 33, Gln ở vị trí 34, Arg hoặc Trp ở vị trí 56, và Tyr ở vị trí 89. (Tất cả các vị trí được chỉ định theo cách đánh số Kabat).

Ví dụ tham khảo 4. Đánh giá tính hiệu quả *in vivo*

Một vài trong số các kháng thể nêu trên được đánh giá tính hiệu quả *in vivo* bằng cách sử dụng các mẫu mang khối u.

Việc đánh giá tính hiệu quả *in vivo* được tiến hành trên các kháng thể đại diện từ trong số các kháng thể được thể hiện trong bảng 17, được xác nhận là có hoạt tính gây độc tế bào từ phân tích *in vitro* được nêu trong ví dụ tham khảo 3-6. Trong việc đánh giá tính hiệu quả *in vivo*, bất kỳ ảnh hưởng nào gây ra bởi sự khác biệt về môi trường vi mô do sự tạo thành kết tụ khối u đến kết quả đánh giá đều được tính đến. Do đó, hai loại dòng tế bào ung thư của người có độ nhạy khác nhau đối với công hiệu thuốc kháng thể, nghĩa là, PC-10 và NCI-H446, được sử dụng để đánh giá, ngay cả khi mức độ biểu hiện GPC3 của các dòng tế bào này gần bằng nhau. Các dòng tế bào này được cấy vào chuột nhắt NOD scid, và chuột nhắt NOD scid có sự thiết lập khối u đã được xác nhận được tiêm các tế bào T phát triển bằng cách nuôi cấy *in vitro* PBMC của người. Các con chuột này (được đề cập đến là mẫu được tiêm tế bào T) được điều trị bằng cách cho sử dụng các kháng thể đặc hiệu kép kháng chuỗi CD3ε của người và kháng GPC3 của người được tối ưu hóa.

Cụ thể hơn, trong các thử nghiệm về công hiệu của thuốc của các kháng thể đặc hiệu kép kháng chuỗi CD3ε của người và kháng GPC3 của người được tối ưu hóa bằng cách sử dụng mẫu được tiêm tế bào T PC-10, các thí nghiệm dưới đây được thực hiện. Các tế bào T được nuôi cấy mở rộng sử dụng PBMC được tách từ máu được gom từ các tình nguyện viên khỏe mạnh và sự hoạt hóa tế bào T/bộ kit mở rộng/người (MACS Miltenyi biotec). Dòng tế bào ung thư của người PC-10 (1×10^7 tế bào) được trộn với Matrigel™ Basement Membrane Matrix (BD), và được cấy vào vùng dưới da ở bẹn của chuột nhắt NOD scid (CLEA Japan, chuột cái, 6W). Ngày cấy được xác định là ngày 0. Vào ngày trước khi cấy, kháng thể kháng asialo-GM1 (Wako Pure Chemicals) được đưa vào cơ thể chuột qua đường trong màng bụng ở 0,2 mg với mỗi con chuột. Vào các ngày 13 đến 15 sau khi cấy, các con chuột được tách vào các nhóm theo thể trọng của chúng và kích thước khối u, và kháng thể kháng asialo-GM1 được đưa vào các con chuột lần

nữa theo đường trong màng bụng ở 0,2 mg với mỗi con chuột. Vào các ngày tiếp theo, các tế bào T thu được bằng cách nuôi cấy mở rộng như nêu trên được cấy vào trong bụng với mật độ 3 x 10^7 tế bào mỗi con chuột. Bốn giờ sau khi cấy tế bào T, các kháng thể đặc hiệu kép kháng chuỗi CD3ε của người và kháng GPC3 của người tối ưu hóa được sử dụng theo đường trong tĩnh mạch qua tĩnh mạch đuôi ở liều 1 mg/kg. Các kháng thể đặc hiệu kép kháng chuỗi CD3ε của người và kháng GPC3 của người tối ưu hóa được đưa vào một lần duy nhất.

Kết quả là, hoạt tính kháng khối u được quan sát thấy rõ hơn ở nhóm sử dụng kháng thể đặc hiệu kép kháng chuỗi CD3ε của người và kháng GPC3 của người tối ưu hóa so với nhóm sử dụng dung môi (Fig.21a, b).

Thử nghiệm về công hiệu của thuốc đối với các kháng thể đặc hiệu kép kháng chuỗi CD3ε của người và kháng GPC3 của người tối ưu hóa ở mẫu được tiêm tế bào T NCI-H446 được thực hiện bằng các phương pháp tương tự. Các kháng thể đặc hiệu kép kháng chuỗi CD3ε của người và kháng GPC3 của người tối ưu hóa được đưa vào một lần qua đường trong tĩnh mạch qua tĩnh mạch ở đuôi ở liều 5 mg/kg kháng NCI-H446.

Kết quả là, hoạt tính kháng khối u được quan sát thấy rõ hơn ở nhóm sử dụng kháng thể đặc hiệu kép kháng chuỗi CD3ε của người và kháng GPC3 của người so với nhóm sử dụng dung môi (Fig.22a, b).

Ví dụ tham khảo 5. Sản xuất vectơ biểu hiện kháng thể, và sự biểu hiện kháng thể và tinh chế

Các đoạn thế axit amin được đưa vào bằng phương pháp được biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này như sử dụng QuikChange Site-Directed Mutagenesis Kit (Stratagene), PCR, hoặc In-fusion Advantage PCR cloning kit (TAKARA) để xây dựng vectơ biểu hiện. Trình tự nucleotit của vectơ biểu hiện thu được được xác định bằng phương pháp đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các plasmit sau khi tạo ra được đưa tạm thời vào các tế bào của dòng tế bào HEK293H thu được từ ung thư phôi thận của người (Invitrogen) hoặc FreeStyle293 (Invitrogen) để biểu hiện các kháng thể. Từ dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy thu được, các kháng thể được tinh chế sử dụng rProtein A Sepharose™ Fast Flow (GE Healthcare) bằng phương pháp đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Mức độ hấp thụ ở 280nm của dung dịch kháng thể đã tinh chế

được đo sử dụng quang phổ kế, và nồng độ kháng thể được tính toán từ các giá trị đã xác định sử dụng hệ số hấp thụ được tính bằng phương pháp PACE (Protein Science 1995; 4: 2411-2423).

Ví dụ tham khảo 6. Hoạt tính ADCC của mỗi kháng thể thử nghiệm sử dụng các tế bào đơn nhân máu ngoại biên của người làm tế bào đáp ứng

Hoạt tính ADCC của mỗi kháng thể thử nghiệm được xác định theo phương pháp dưới đây.

Các tế bào đơn nhân máu ngoại biên của người (sau đây gọi là PBMC của người) được sử dụng làm tế bào đáp ứng để đo hoạt tính ADCC của mỗi kháng thể thử nghiệm như dưới đây.

(1) Chuẩn bị dung dịch PBMC của người

Từ tình nguyện viên khỏe mạnh (nam, trưởng thành) từ Chugai Pharmaceutical Co. Ltd., 50mL máu ngoại biên được gom bằng cách sử dụng xylanh đã được nạp trước 200μL dung dịch heparin 1000 đơn vị/mL (Novo-Heparin Injection 5000 units, Novo Nordisk). Máu ngoại biên được pha loãng hai lần bằng PBS(-), được chia thành bốn phần nhỏ, và được cho vào ống tách lympho bào Leucosep (Greiner Bio-one) đã được nạp 15mL Ficoll-Paque PLUS và được li tâm trước. Ống tách chứa các phần máu ngoại biên này được ly tâm ở tốc độ 2150 vòng/phút trong mười phút ở nhiệt độ trong phòng, và sau đó phần tế bào đơn nhân được gom lại. Các tế bào trong mỗi phần được rửa một lần bằng môi trường Eagle cải biến Dulbecco (SIGMA) chứa FBS 10% (sau đây gọi là FBS 10%/D-MEM) và sau đó được tạo huyền phù trong FBS 10%/D-MEM ở mật độ tế bào là 5 x 10^6 tế bào/mL. Sau khi ủ trong tủ nuôi ở 37°C trong một giờ, các tế bào được rửa một lần bằng FBS 10%/D-MEM, và các tế bào được tạo huyền phù trong FBS 10%/D-MEM để tạo ra mật độ tế bào là 2 x 10^5 tế bào/mL. Huyền phù tế bào được đưa qua thử nghiệm dưới đây dưới dạng tế bào đích.

(2) Thử nghiệm giải phóng crom (hoạt tính ADCC)

Hoạt tính ADCC được đánh giá từ tỷ lệ giải phóng crom cụ thể theo phương pháp giải phóng crom. Trước tiên, cho các dung dịch kháng thể được chuẩn bị ở từng nồng độ (0, 0,004, 0,04, 0,4, 4, và 40μg/mL) vào đĩa đáy chữ U 96 giếng ở 50μL mỗi giếng. Tiếp theo, các tế bào đích được gieo ở 50μL mỗi giếng (1 x 10^4 tế bào/giếng), và hỗn hợp này được để yên ở nhiệt độ trong phòng trong 15 phút. Dung dịch PBMC của

người được tạo ra trong (1) được cho vào mỗi giếng ở 100μL/giếng (5 x 10^5 tế bào/ giếng), và đĩa này được để yên trong tủ nuôi chứa khí cacbon dioxit 5% ở 37°C trong bốn giờ, sau đó ly tâm. Hoạt tính phóng xạ của 100 μL dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy trong mỗi giếng của đĩa được đo bằng cách sử dụng máy đếm gamma. Tỷ lệ giải phóng crom cụ thể được xác định dựa vào phương trình dưới đây:

Tỷ lệ giải phóng crom cụ thể (%) = (A-C) x 100 / (B-C)

Trong phương trình này, A là giá trị trung bình của hoạt tính phóng xạ (cpm) của 100μL dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy trong mỗi giếng; B là giá trị trung bình của hoạt tính phóng xạ (cpm) của 100μL dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy trong giếng này trong đó 100 μL dung dịch nước NP-40 2% (Nonidet P-40, Nacalai Tesque) và 50μL FBS 10%/D-MEM đã được cho vào các tế bào đích; và C là giá trị trung bình của hoạt tính phóng xạ (cpm) của 100 μL dịch nổi bề mặt môi trường nuôi cấy trong giếng này trong đó 150μL FBS 10%/D-MEM đã được cho vào các tế bào đích. Thử nghiệm được thực hiện ba lần và giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của tỷ lệ giải phóng crom cụ thể (%) trong thử nghiệm nêu trên phản ánh hoạt tính ADCC được tính với mỗi trong số các kháng thể thử nghiệm.

Ví dụ tham khảo 7. Đánh giá Tm của các kháng thể biến đổi bằng cách đo hàm lượng flo quét vi sai

Trong thử nghiệm này, giá trị Tm (nhiệt độ biến tính do nhiệt) của các kháng thể biến đổi được đánh giá bằng phương pháp đo hàm lượng flo quét vi sai sử dụng Rotor-Gene Q (QIAGEN). Đã được báo cáo rằng phương pháp này có mối tương quan với việc đánh giá Tm khi sử dụng máy phân tích nhiệt lượng quét vi sai đã biết đến rộng rãi như là phương pháp đánh giá tính ổn định nhiệt của các kháng thể (Journal of Pharmaceutical Science 2010; 4: 1707-1720).

Cam SYPRO™ được cô đặc 5000x (Molecular Probes) được pha loãng bằng PBS (Sigma), và sau đó được trộn với dung dịch kháng thể để tạo ra các mẫu đo. Các phần 20μL của mỗi mẫu được đặt vào ống đo, và nhiệt độ được tăng từ 30°C đến 99°C với tốc độ tăng nhiệt độ là 240°C/giờ. Các thay đổi về mức độ phát huỳnh quang đi kèm sự tăng nhiệt độ được phát hiện ở 470nm (bước sóng kích thích)/555nm (bước sóng phát huỳnh quang).

Các dữ liệu được phân tích sử dụng phần mềm Rotor-Gene Q Series (QIAGEN)

để tính toàn nhiệt độ tại đó sự chuyển đổi phát huỳnh quang được quan sát thấy, và nhiệt độ này được xác định là Tm.

Ví dụ tham khảo 8. Đánh giá khả năng liên kết ECM

Việc đánh giá được tiến hành theo phương pháp nêu trong WO2012093704. Cụ thể, BD Matrigel (BD Biosciences, #356237) được chuẩn bị ở nồng độ 2mg/mL sử dụng TBS (Takara, #T903), và dung dịch này được phân bố vào đĩa đo 96 giếng (Meso Scale Discovery, #L15XB-3(High Bind)) ở 5µL mỗi giếng và sau đó để yên qua đêm ở nơi mát mẻ. Sau đó, 150µL đệm phong bế ECL (PBS chứa Tween20 0,05%, BSA 0,5%, và natri azit 0,01%) được phân bố vào mỗi giếng của đĩa, và đĩa được để yên ở nhiệt độ trong phòng trong hai giờ hoặc lâu hơn.

IgG(γ) kháng người của dê (Invitrogen, #628400) được đánh dấu ruteni bằng MSD SULFO-TAG NHS Este (Meso Scale Discovery, #R91AN-2) theo hướng dẫn đi kèm. Kháng thể này được pha loãng trong đệm pha loãng ECL (PBS chứa Tween20 0,01%, BSA 0,1%, và natri azit 0,01%) để thu được nồng độ cuối cùng là 2µg/mL. Ngoài ra, kháng thể chuẩn và các kháng thể thử nghiệm được pha loãng trong PBS-T (PBS chứa Tween 20 0,05% và natri azit 0,01%) để thu được nồng độ cuối cùng là 3µg/mL.

Cho lần lượt 10µL gồm đệm pha loãng ECL, 20µL kháng thể chuẩn và kháng thể thử nghiệm (3µg/mL), và 30µL kháng thể được đánh dấu ruteni (2µg/mL) vào đĩa phản ứng 96 giếng (Thermo scientific, Nunc #145399), và để phản ứng xảy ra trong một giờ ở nhiệt độ trong phòng đồng thời khuấy trong bóng tối.

Đệm phong bế ECL được lấy ra khỏi đĩa đo 96 giếng bằng cách làm nghiêng, thêm 50µL dung dịch mẫu từ đĩa phản ứng 96 giếng, và đĩa được để yên trong bóng tối ở nhiệt độ trong phòng trong một giờ. Sau đó, lấy dung dịch mẫu ra khỏi đĩa đo 96 giếng bằng cách làm nghiêng, và ngay sau khi bổ sung 150µL đệm 2x T (4x đệm đọc MSD T (Meso Scale Discovery) được pha loãng hai lần sử dụng đệm pha loãng ECL), các thông số đo ECL được lấy. SECTOR Imager 2400 (Meso Scale Discovery) được sử dụng để lấy các thông số đo.

Các phân tích được tiến hành bằng cách lấy cường độ phát huỳnh quang của kháng thể thử nghiệm chia cho cường độ phát huỳnh quang của kháng thể chuẩn để tính và so sánh các cường độ này bằng cách cho giá trị này đối với kháng thể chuẩn là 1.

Ví dụ tham khảo 9. Đánh giá khả năng liên kết phối tử SuRe™

Khả năng liên kết với phối tử SuRe™ được đánh giá bằng cách sử dụng Biacore™-T200 (GE Healthcare Japan). HBS-EP+ (GE Healthcare Japan) được dùng để chạy đệm, và bộ kit ghép amin (GE Healthcare Japan) được sử dụng để liên kết cộng hóa trị Phối tử Mab Select SuRe™ (GE Healthcare Japan) với chip CM5 (chip được bọc carboxymetyl dextran). Kháng thể được sử dụng làm chất phân tích được tạo ra ở 5μg/mL sử dụng HBS-EP+. Các phép đo được tiến hành bằng cách trước tiên tiêm 5μg/mL dung dịch kháng thể ở tốc độ dòng 10μL/phút trong 3 phút, sau đó chuyển đến HBS-EP+, và đo đáp ứng (RU) sau khi cho tiếp tục chảy trong 0,5 phút. Sau khi đo xong, chip cảm biến được hoàn nguyên bằng cách rửa với Gly-HCl 10 mM ở pH=1,5. Đối với tế bào dòng đối chứng, thử nghiệm tương tự được thực hiện mà không có liên kết cộng hóa trị giữa phối tử với chip, và ái lực đối với phối tử SuRe™ được phân tích bằng cách đo sự sai khác giữa các đáp ứng (RU).

Trình tự tương ứng với các SEQ ID NO nêu trong các ví dụ tham khảo được thể hiện trong bảng dưới đây.

Bảng 18

SEQ ID NO:	Tên
1	Trình tự nucleotit GPC3 (NM_001164617.1)
2	Trình tự axit amin GPC3 (NP_001158089.1)
3	Trình tự tín hiệu
4	Peptit chuỗi alpha thụ thể tế bào T (CAA26636.1)
5	Peptit chuỗi beta thụ thể tế bào T (C25777)
6	Peptit chuỗi gamma1 thụ thể tế bào T (A26659)
7	Peptit chuỗi gamma2 thụ thể tế bào T (AAB63312.1)
8	Peptit chuỗi deta thụ thể tế bào T (AAA61033.1)
9	Nucleotit chuỗi gamma CD3 (NM_000073.2)
10	Nucleotit chuỗi deta CD3 (NM_000732.4)
11	Peptit chuỗi epsilon CD3 (NM_000733.3)
12	Peptit chuỗi gamma CD3 (NP_000064.1)
13	Peptit chuỗi deta CD3 (NP_000723.1)
14	Peptit chuỗi epsilon CD3 (NP_000724.1)
15~22	Thành phần liên kết peptit
23	Cγ1 của người
24	Cγ2 của người
25	Cγ3 của người
26	Cγ4 của người
27	FcγRI nucleotit (NM_000566.3)
28	FcγRI peptit (NP_000557.1)
29	FcγRIIA nucleotit (BC020823.1)
30	FcγRIIA peptit (AAH20823.1)
31	FcγRIIB nucleotit (BC146678.1)
32	FcγRIIB peptit (AAI46679.1)
33	FcγRIIIA nucleotit (BC033678.1)
34	FcγRIIIA peptit (AAH33678.1)
35	FcγRIIIB nucleotit (BC128562.1)
36	FcγRIIIB peptit (AAI28563.1)
37	Vùng Fc (thêm A vào đầu tận N của số nộp lưu RefSeq AAC82527.1)
38	Vùng Fc (thêm A vào đầu tận N của số nộp lưu RefSeq AAB59393.1)
39	Vùng Fc (thêm A vào đầu tận N của số nộp lưu RefSeq AAB59394.1)
40	H0000, vùng biến đổi chuỗi H GPC3
41	GL4, vùng biến đổi chuỗi L GPC3
42	rCE115H, vùng biến đổi chuỗi H CE115
43	rCE115L, vùng biến đổi chuỗi L CE115
44	G1dh
45	ERY22_Hk
46	ERY22_Hh
47	GL4-ERY22_Hk
48	H0000-ERY22_L
49	rCE115H-ERY22_Hh
50	rCE115L-k0
51	hCE115HL (Chuỗi nặng của CE115 được làm tương thích với người)
52	hCE115HA (Chuỗi nặng của CE115 được làm tương thích với người)
53	L0000 (Chuỗi nhẹ của CE115 được làm tương thích với người)
54	H0000-ERY27_HK
55	hCE115HA-ERY27_HE
56	L0000-k0
57	E22Hh
58	E22Hk
59	Hi-Kn010G3
60	E2702GsKsc
61	E2704sEpsc
62	E2702sKsc
63	k0
64	CE115HA177
65	CE115HA178
66	CE115HA179
67	CE115HA180
68	hCE115HAa
69	TR01H006
70	TR01H007
71	TR01H008
72	TR01H009
73	TR01H010
74	TR01H011
75	TR01H012
76	TR01H013
77	TR01H014
78	TR01H015
79	TR01H016
80	TR01H017
81	TR01H018
82	TR01H019
83	TR01H020
84	TR01H021
85	TR01H022
86	TR01H023
87	TR01H024
88	TR01H025
89	TR01H026
90	TR01H027
91	TR01H028
92	TR01H029
93	TR01H030
94	TR01H031
95	TR01H032
96	TR01H033
97	TR01H034
98	TR01H035
99	TR01H036
100	TR01H037
101	TR01H038
102	TR01H039
103	TR01H040
104	TR01H041
105	TR01H042
106	TR01H043
107	TR01H044
108	TR01H045
109	TR01H046
110	TR01H047
111	TR01H048
112	TR01H049
113	TR01H050
114	TR01H051
115	TR01H052
116	TR01H053
117	TR01H054
118	TR01H055
119	TR01H056
120	TR01H057
121	TR01H058
122	TR01H061
123	TR01H062
124	TR01H063
125	TR01H064
126	TR01H065
127	TR01H066
128	TR01H067
129	TR01H068
130	TR01H069
131	TR01H070
132	TR01H071
133	TR01H072
134	TR01H073
135	TR01H074
136	TR01H075
137	TR01H076
138	TR01H077
139	TR01H079
140	TR01H080
141	TR01H081
142	TR01H082
143	TR01H083
144	TR01H084
145	TR01H090
146	TR01H091
147	TR01H092
148	TR01H093
149	TR01H094
150	TR01H095
151	TR01H096
152	TR01H097
153	TR01H098
154	TR01H099
155	TR01H100
156	TR01H101
157	TR01H102
158	TR01H103
159	TR01H104
160	TR01H105
161	TR01H106
162	TR01H107
163	TR01H108
164	TR01H109
165	TR01H110
166	TR01H111
167	TR01H112
168	TR01H113
169	TR01H114
170	GCH003
171	GCH005
172	GCH006
173	GCH007
174	GCH008
175	GCH010
176	GCH012
177	GCH013
178	GCH014
179	GCH015
180	GCH016
181	GCH019
182	GCH022
183	GCH023
184	GCH025
185	GCH026
186	GCH027
187	GCH029
188	GCH032
189	GCH034
190	GCH035
191	GCH039
192	GCH040
193	GCH042
194	GCH043
195	GCH045
196	GCH053
197	GCH054
198	GCH055
199	GCH056
200	GCH057
201	GCH059
202	GCH060
203	GCH061
204	GCH062
205	GCH064
206	GCH065
207	GCH066
208	GCH067
209	GCH068
210	GCH073
211	GCH094
212	GCH098
213	GCH099
214	GCH100
215	H0610
216	L0000vk1
217	L0002
218	L0003
219	L0006
220	L0007
221	L0008
222	L0009
223	L0011
224	L0012
225	L0013
226	L0014

SEQ ID NO:	Tên
227	L0015
228	L0016
229	L0032
230	L0038
231	L0039
232	L0041
233	L0042
234	L0043
235	L0044
236	L0045
237	L0046
238	L0047
239	L0062
240	L0063
241	L0064
242	L0065
243	L0066
244	L0069
245	L0075
246	L0079
247	L0082
248	L0085
249	L0089
250	L0090
251	L0091
252	L0093
253	L0104
254	L0106
255	L0107
256	L0109
257	L0113
258	L0115
259	L0117
260	L0120
261	L0122
262	L0123
263	L0124
264	L0125
265	L0126
266	L0127
267	L0129
268	L0132
269	L0134
270	L0136
271	L0137
272	L0138
273	L0139
274	L0140
275	L0141
276	L0143
277	L0144
278	L0145
279	L0147
280	L0148
281	L0149
282	L0151
283	L0152
284	L0154
285	L0155
286	L0157
287	L0160
288	L0161
289	L0163
290	L0167
291	L0168
292	L0173
293	L0175
294	L0180
295	L0181
296	L0186
297	L0187
298	L0200
299	L0201

SEQ ID NO:	Tên
300	L0202
301	L0203
302	L0204
303	L0205
304	L0206
305	L0207
306	L0208
307	L0209
308	L0210
309	L0211
310	L0212
311	L0213
312	L0214
313	L0215
314	L0216
315	L0217
316	L0218
317	L0219
318	L0220
319	L0222
320	L0223
321	L0224
322	L0226
323	L0227
324	L0228
325	L0229
326	L0230
327	L0231
328	L0232
329	L0233
330	L0234
331	L0235
332	L0236
333	L0237
334	L0238
335	L0239
336	L0240
337	L0241
338	L0242
339	L0243
340	L0246
341	L0247
342	L0248
343	L0249
344	L0250
345	L0258
346	L0259
347	L0260
348	L0261
349	L0262
350	L0263
351	L0264
352	L0265
353	L0266
354	L0267
355	L0268
356	L0269
357	L0270
358	L0271
359	L0272
360	TR01L001
361	TR01L002
362	TR01L003
363	TR01L004
364	TR01L005
365	TR01L006
366	TR01L007
367	TR01L008
368	TR01L009
369	TR01L010
370	TR01L011
371	TR01L012
372	TR01L013

SEQ ID NO:	Tên
373	TR01L015
374	TR01L016
375	TR01L017
376	TR01L018
377	TR01L019
378	TR01L020
379	TR01L023
380	TR01L024
381	CE115HA122-E22Hh
382	CE115HA236-E22Hh
383	CE115HA251-E22Hh
384	GCH054-E2704sEpsc
385	GCH065-E2704sEpsc
386	GCH094-E2704sEpsc
387	H0610-E2704sEpsc
388	hCE115HA-E22Hh
389	rCE115H-E22Hh
390	rCE115H-E2702GsKsc
391	TR01H002-E22Hh
392	TR01H015-E22Hh
393	TR01H040-E2702GsKsc
394	TR01H061-E2702GsKsc
395	TR01H067-E2702GsKsc
396	TR01H068-E2702GsKsc
397	TR01H071-E2702GsKsc
398	TR01H082-E2702GsKsc
399	TR01H084-E2702GsKsc
400	TR01H109-E2702GsKsc
401	TR01H113-E2702GsKsc
402	TR01H113-E2702sKsc
403	GL4-E22Hk
404	L0000-E22Hk
405	H0000-E22L
406	H0610-E22L
407	rCE115L-k0
408	GLS3108-k0
409	L0000-k0
410	L0011-k0
411	L0201-k0
412	L0203-k0
413	L0204-k0
414	L0206-k0
415	L0208-k0
416	L0209-k0
417	L0211-k0
418	L0212-k0
419	L0222-k0
420	TR01H001
421	TR01H002
422	TR01H003
423	TR01H004
424	rCE115H
425	CE115HA121
426	CE115HA122
427	CE115HA124
428	CE115HA192
429	CE115HA236
430	CE115HA251
431	CE115HA252
432	E22L

Ví dụ tham khảo 10. Tạo ra chuột được thay thế gen CD3 của người

(1) Tạo cấu trúc vectơ biến đổi vùng gen Cd3 của chuột (Fig.26A)

Dòng nhiễm sắc thể nhân tạo của vi khuẩn (BAC) được sử dụng, mà vùng bộ gen có gen CD3ε, CD3δ, và CD3γ của chuột được đặt vào được tách dòng vào đó. Trình tự loxP được cài xen ở vị trí khoảng 3,5kb chiều ngược 5' của vùng gen mã hóa Cd3ε của chuột trong BAC này, và chiều ngược khác của vùng bộ gen được loại bỏ để lại khoảng 3,1kb. Tại thời điểm đó, trình tự loxP được đưa vào cùng với catxet gen kháng kháng sinh (neo) và việc cài xen được thực hiện bằng phương pháp tái tổ hợp đồng nhất sử dụng hệ thống Red/ET (GeneBridges). Trong trường hợp đó, từ trong số các dòng *Escherichia coli* phát triển trong môi trường bổ sung kanamyxin, các dòng được chọn phương pháp phản ứng chuỗi polymeraza (PCR) dẫn đến sự khuếch đại chính xác. Tiếp theo, trình tự loxP và trình tự Rox được đặt ở chiều xuôi 3' của gen Cd3γ trên BAC. Cụ thể hơn, trình tự loxP và trình tự Rox được đưa vào dọc theo catxet gen kháng hygromyxin (Hyg), và việc cài xen được thực hiện bằng phương pháp tái tổ hợp đồng nhất sử dụng hệ thống Red/ET. Trong trường hợp đó, từ trong số các dòng *Escherichia coli* phát triển trong môi trường bổ sung hygromyxin, các dòng trong đó trình tự loxP và trình tự Rox được cài xen như mong đợi được chọn bằng phương pháp PCR. Tiếp theo, dòng xuôi 3' vùng bộ gen của catxet gen Hyg được loại bỏ để lại khoảng 3,4kb.

(2) Đưa vectơ biến đổi vùng gen Cd3 của chuột vào tế bào gốc phôi chuột (tế bào ES) (Fig.26A)

Vectơ biến đổi vùng gen Cd3 của chuột nêu trên được đưa vào các tế bào ES của chuột (tế bào thu được từ chuột C57BL/6N) bằng phương pháp xung điện, và sau khi nuôi cấy có chọn lọc với G418, các dòng kháng thuốc thu được. Từ các dòng này, việc sàng lọc các thể tái tổ hợp đồng nhất được thực hiện bằng phương pháp PCR. Đối với phương pháp xung điện, 60μg vectơ biến đổi vùng gen Cd3 của chuột được làm thẳng với NotI hoặc vectơ vòng chưa được xử lý NotI được chiết bằng phenol/cloroform, kết tủa bằng etanol, và sau đó hòa tan trong PBS.

Các tế bào ES dùng trong việc sàng lọc được nuôi cấy trên đĩa 96 giếng và rửa hai lần sử dụng 200μl dung dịch PBS mỗi giếng. Sau đó, các tế bào này được xử lý ở 55°C trong hai giờ sau khi bổ sung đệm dung giải tế bào có thành phần sau đây (5μl 10x đệm LA II (TAKARA LA đối với Taq), 5μl $MgCl_2$ 25mM, 5μl NP-40 5%, 2μl proteinaza K (TAKARA, 20mg/ml), và 33μl nước cất), và sau đó được xử lý ở 95°C trong 15 phút

để bất hoạt proteinaza K, để từ đó đóng vai trò làm mẫu PCR.

Hỗn hợp phản ứng PCR được tạo nên từ 1µl mẫu, 2,5µl 10x đệm LA II, 2,5µl $MgCl_2$ 25mM, 4µl dNTP (2,5mM), 0,1µl mỗi trong số các đoạn mồi (mỗi đoạn mồi 50µM), 0,25µl LA Taq (TAKARA), và 14,55µl nước cất (tổng 25µl). Các điều kiện PCR bao gồm gia nhiệt sơ bộ ở 94°C trong hai phút, 35 chu trình của chu trình khuếch đại ở 98°C trong mười giây và 68°C trong 4 phút 30 giây, và gia nhiệt thêm ở 68°C trong năm phút.

Các đoạn mồi sau đây được sử dụng. Đoạn mồi là HygF1474 được bố trí trong catxet gen Hyg làm đoạn mồi xuôi, và g4989R được bố trí làm đoạn mồi ngược ở vùng bộ gen của chuột trên phía xuôi chiều 3' của nhánh tương đồng 3' trong vectơ biến đổi gen Cd3 của chuột (xem Fig.27). Trong các mẫu tế bào ES trong đó sự tái tổ hợp đồng nhất xảy ra, dải khoảng 4kb được khuếch đại. HygF1474 (xuôi) 5'-TATCAGAGCTTGGTTGACGG-3' (SEQ ID NO: 436); và g4989R (ngược) 5'-ACTCGTTGTGGCTTAGAAGCAGTAACAATACC-3' (SEQ ID NO: 437). Ngoài ra, các dòng từ đó thu được tín hiệu khuếch đại sử dụng bộ đoạn mồi nêu trên được đem đi xác nhận sử dụng bộ đoạn mồi khác. Cụ thể hơn, e27248F được bố trí làm đoạn mồi xuôi ở vùng bộ gen của chuột trên phía ngược chiều 5' của nhán tương đồng 5' trong vectơ biến đổi gen Cd3 của chuột, và Neo0635R được bố trí làm đoạn mồi ngược bên trong catxet gen Neo. Trong các mẫu của tế bào ES trong đó xảy ra sự tái tổ hợp đồng nhất, dải khoảng 4kb được khuếch đại. e27248F (xuôi) 5'-ACTGTAATCCTAGTACTTAGGAGGCTGAGG-3' (SEQ ID NO: 438); và Neo0635R (ngược) 5'-AATCCATCTTGTTCAATGGCCGATCC-3' (SEQ ID NO: 439).

(3) Tạo cấu trúc vectơ dẫn vùng gen CD3 của người (Fig.26B)

Dòng BAC được sử dụng, có vùng bộ gen trong đó CD3ε, CD3δ, và CD3γ của người được đặt vào đó được tách dòng. Trình tự loxP được cài xen ở chiều ngược 5' của vùng gen mã hóa CD3ε của người trong BAC này. Ở thời điểm này, trình tự loxP được đưa vào cùng với catxet gen Hyg, và việc cài xen được thực hiện bằng phương pháp tái tổ hợp đồng nhất sử dụng hệ thống Red/ET (GeneBridges). Trong trường hợp đó, từ trong số các dòng *Escherichia coli* phát triển trong môi trường bổ sung hygromyxin, các dòng mà đối với các dòng này phương pháp PCR dẫn đến sự khuếch đại chính xác được chọn. Tiếp theo, ở chiều xuôi 3' của gen CD3γ của người trong BAC, gen kháng

puromyxin (Puro) được kẹp sườn trên cả hai đầu bởi các trình tự Frt được đưa vào cùng với catxet gen Neo để định vị chiều xuôi khác nữa của trình tự Rox, và việc cài xen được thực hiện bằng phương pháp tái tổ hợp đồng nhất sử dụng hệ thống Red/ET. Trong trường hợp đó, từ trong số các dòng *Escherichia coli* phát triển trong môi trường bổ sung kanamyxin, các dòng trong đó trình tự Frt, gen Puro, trình tự Rox, và gen Neo được cài xen như mong đợi được chọn bằng phương pháp PCR.

(4) Đưa vectơ dẫn vùng gen CD3 của người và vectơ biểu hiện recombinaza vào các tế bào ES của chuột được biến đổi vùng gen Cd3

Vectơ dẫn vùng gen CD3 của người, vectơ biểu hiện Cre recombinaza, và vectơ biểu hiện Dre recombinaza được đưa vào nhờ phương pháp xung điện vào các dòng tế bào ES (1D4, 5H1, 6I5, và 3A5) trong đó trình tự loxP và trình tự Rox được cài xen chính xác ở các vị trí đích của vùng gen Cd3 của chuột trong bước nêu trên; và sau khi nuôi cấy chọn lọc bằng puromyxin, các dòng tế bào ES đã phát triển được xác định kiểu gen.

Trước tiên, thực hiện sàng lọc PCR để chọn ra các dòng trong đó sự tái tổ hợp giữa các trình tự loxP và giữa các trình tự Rox được đặt ở vùng gen Cd3 của chuột diễn ra bởi tác động của Cre và Dre, và vùng bộ gen từ Cd3ε đến Cd3γ được xóa. Các tế bào ES được sử dụng trong sàng lọc được nuôi trên đĩa 96 giếng, rửa hai lần sử dụng 200μl PBS mỗi giếng, và xử lý ở 55°C trong hai giờ sau khi thêm đệm dung giải tế bào có thành phần sau đây (5μl 10x đệm LA II (TAKARA LA đối với Taq), 5μl $MgCl_2$ 25mM, 5μl NP-40 5%, 2μl proteinaza K (TAKARA, 20mg/mL), và 33μl nước cất), và sau đó xử lý ở 95°C trong 15 phút để bất hoạt proteinaza K, từ đó đóng vai trò làm mẫu PCR.

Hỗn hợp phản ứng PCR được tạo nên từ 1μl mẫu, 2,5μl 10x đệm LA II, 2,5μl $MgCl_2$ 25mM, 4μl dNTP (2,5mM), 0,1μl mỗi trong số các đoạn mồi (50μM mỗi đoạn mồi), 0,25μl LA Taq (TAKARA), và 14,55μl nước cất (tổng 25μl). Các điều kiện PCR bao gồm gia nhiệt sơ bộ ở 94°C trong hai phút, 35 chu trình của chu trình khuếch đại gồm 98°C trong mười giây và 68°C trong 4 phút 30 giây, và gia nhiệt thêm ở 68°C trong năm phút. Các đoạn mồi sau đây được sử dụng. Đoạn mồi là e30230F được bố trí làm đoạn mồi xuôi ở vùng bộ gen trên phía ngược chiều 5' của gen Cd3ε của chuột, và g1439R được bố trí làm đoạn mồi ngược ở vùng bộ gen trên phía xuôi chiều 3' của gen Cd3γ của chuột (xem Fig.28A). Trong các mẫu tế bào ES trong đó vùng gen Cd3 được

xóa, dải khoảng 0,7kb được khuếch đại. e30230F (xuôi) 5'-TAGCAGCCTTCAGATGAAGAGGTAGGACTC-3' (SEQ ID NO: 440); và g1439R (ngược) 5'-TTGATGTGCCACCTCACTGCTGCACTGG-3' (SEQ ID NO: 441).

Việc sàng lọc PCR được thực hiện để chọn ra các dòng trong đó vùng gen CD3 của người được đưa vào từ các dòng tế bào ES thiếu hụt trong vùng gen Cd3 của chuột. Mẫu PCR dùng để phát hiện sự xóa vùng gen Cd3 của chuột được đem đi sàng lọc. Hỗn hợp phản ứng PCR được tạo nên từ 1µl mẫu, 2,5µl 10x đệm LA II, 2,5µl $MgCl_2$ 25mM, 4µl dNTP (2,5mM), 0,1µl mỗi trong số các đoạn mồi (50µM mỗi đoạn), 0,25µl LA Taq (TAKARA), và 14,55µl nước cất (tổng 25µl). Các điều kiện PCR bao gồm gia nhiệt sơ bộ ở 94°C trong hai phút, 35 chu trình của chu trình khuếch đại gồm 94°C trong 30 giây, 58°C trong một phút, và 72°C trong năm phút, và gia nhiệt thêm ở 72°C trong năm phút. Các đoạn mồi sau đây được sử dụng. Đoạn mồi là hCD3e_5arm_F2 được bố trí làm đoạn mồi xuôi ở vùng bộ gen trên phía ngược chiều 5' của gen Cd3ε của chuột, và hCD3e_ex2_R2 được bố trí làm đoạn mồi ngược trong exon thứ hai của gen CD3ε của người (xem Fig.28B). Trong các mẫu tế bào ES trong đó vùng gen CD3 của người được đưa vào, dải khoảng 5,5kb được khuếch đại. hCD3e_5arm_F2 (xuôi) 5'-AACTGACAATGGGACATCAGCTGA-3' (SEQ ID NO: 442); và hCD3e_ex2_R2 (ngược) 5'-ATGGGACTGTTACTTTACTAAGAT-3' (SEQ ID NO: 443).

(5) Tạo ra chuột thiếu gen Cd3 của chuột và được đưa gen CD3 của người vào

Các dòng ES tái tổ hợp đồng nhất được tạo huyền phù bằng việc xử lý trypsin, và rửa bằng môi trường tế bào ES. Chuột BALB/c cái được xử lý tăng rụng trứng bằng cách sử dụng 5 IU chorionic gonadotropin của ngựa (eCG) và chorionic gonadotropin của người (hCG) qua đường trong màng bụng ở các khoảng thời gian là 48 giờ được lai với chuột đực cùng chủng loại. Ngày mà nút chặn được xác nhận ở chuột cái được xem là ngày 0,5. Vào ngày thai nghén 3,5, phôi giai đoạn túi phôi được gom lại bằng cách truyền tử cung được sử dụng làm phôi vật chủ, trong đó 10 đến 15 tế bào ES được tiêm. Phôi sau khi tiêm được chuyển vào tử cung của các con cái nhận ICR vào ngày thai nghén giả 2,5, và con của chúng thu được 17 ngày sau đó. Việc sàng lọc dựa trên màu lông của con thu được bằng cách tiêm các tế bào ES vào túi phôi, tạo ra chuột thể khảm có hỗn hợp tế bào ES tái tổ hợp (màu đen) và các tế bào thu được từ túi phôi (bạch tạng). Sau khi trưởng thành về giới tính, chuột thể khảm đực được lai với chuột cái C57BL/6N,

và sự truyền alen thay thế (knock-in) sang thế hệ sau được xác nhận bằng phương pháp PCR sử dụng ADN bộ gen được tách từ mô của chuột đời thứ hai làm khuôn. PCR được thực hiện bằng phương pháp nêu trên được sử dụng để sàng lọc tế bào ES. Kết quả là, các cá thể từ đó thu được tín hiệu 5,5kb đặc hiệu vùng gen CD3 của người và tín hiệu 0,7kb đặc hiệu với sự thiếu hụt vùng gen Cd3 của chuột được phát hiện, và alen vùng gen CD3 của người và alen thiếu hụt vùng gen Cd3 của chuột được xác nhận là truyền sang cho các cá thể này. Ngoài ra, việc gây giống chuột có kiểu gen nêu trên tạo ra các cá thể chuột có vùng gen Cd3 của chuột được xóa bỏ đồng hợp tử và có vùng gen CD3 của người, tức là, thu được chuột được thay thế vùng gen CD3 của người. Chuột chuyển gen trong đó chỉ một mình CD3ε của người được đưa vào (sau đây gọi là chuột hCD3εTg) được tạo ra theo báo cáo của Wang *et al.* (Wang *et.al.* (1994) PNAS. 91:9402-9406), và chúng được kiểm tra dưới dạng các so sánh trong các thử nghiệm sau đó.

(6) Trọng lượng tuyến ức và trọng lượng lá lách của chuột được thay thế gen CD3 của người

Lá lách và tuyến ức được lấy từ các con chuột (12 đến 14 tuần tuổi, chuột đực) và trọng lượng mô được đo. Như được thể hiện trên Fig.29, tuyến ức của chuột được thay thế gen CD3 của người không thể hiện các khác thường hiển nhiên. Trọng lượng mô trên mỗi trọng lượng cơ thể được tính để phân tích. Trọng lượng cơ thể và trọng lượng mô (lá lách và tuyến ức) được đo với bốn con chuột đực trong mỗi nhóm, và được biểu diễn dưới dạng đồ thị. Tỷ lệ trọng lượng mô trên trọng lượng cơ thể được tính, giá trị thu được với mỗi cá thể được vẽ thành đồ thị bằng chấm đen, và giá trị trung bình được thể hiện bằng cột (Fig.30). Đối với trọng lượng lá lách, xu hướng tăng dần quan sát được trong chuột thiếu gen Cd3 so với chuột có kiểu gen khác, nhưng không quan sát thấy khác biệt đáng kể nào. Mặt khác, đối với trọng lượng tuyến ức, chuột thiếu gen Cd3 cho thấy sự giảm xuống còn một phần ba hoặc tương tự so với chuột kiểu dại. Ở chuột được thay thế gen CD3 của người tạo ra bằng cách đưa gen CD3 của người vào chuột thiếu gen Cd3, quan sát thấy sự phục hồi trọng lượng tuyến ức, và đặc biệt là ở các cá thể của dòng số 1C3, trọng lượng tuyến ức được phục hồi thậm chí đến mức tương đương với chuột kiểu dại. Như được báo cáo bởi Wang *et al.*, sự teo tuyến ức được quan sát thấy ở các con chuột hCD3εTg (Wang *et.al.* (1994) PNAS. 91:9402-9406).

(7) Xác nhận sự biểu hiện D3 của người và Cd3 của chuột trong các dòng tương ứng

của chuột được thay thế gen CD3 của người

- Xác nhận bằng phương pháp RT-PCR sử dụng ARN huyết cầu -

Sự biểu hiện của CD3ε của người, CD3δ của người, CD3γ của người, Cd3ε của chuột, Cd3δ của chuột, và Cd3γ của chuột được phân tích bằng RT-PCR sử dụng ARN huyết cầu. Bằng cách sử dụng kit phân lập ARN Catrimox-14 (TaKaRa Bio), ARN tổng thu được từ máu gom từ tĩnh mạch mu bàn chân hoặc tĩnh mạch chủ ở bụng. Mỗi phần 1μg ARN tổng được sử dụng làm khuôn để tổng hợp cADN bằng cách thực hiện phản ứng phiên mã ngược với bộ kit tổng hợp cADN sợi thứ nhất SuperScript III (Invitrogen) sử dụng các đoạn mồi Oligo dT (20). CD3ε của người, CD3δ của người, CD3γ của người, Cd3ε của chuột, Cd3δ của chuột, và Cd3γ của chuột được phát hiện bằng cách thực hiện PCR sử dụng cADN đã tổng hợp làm khuôn. Các đoạn mồi cho vùng mã hóa protein được thiết kế để phát hiện sự biểu hiện của tất cả các gen. CD3ε của người được phát hiện bằng cách sử dụng hỗn hợp của đoạn mồi xuôi E0333F (5'-AAGAAATGGGTGGTATTACACAGACACC-3' (SEQ ID NO: 444)) và đoạn mồi ngược E0912R (5'-TGGGCCAGCGGGAGGCAGTGTTCTCCAGAGG-3' (SEQ ID NO: 445)). CD3δ của người được phát hiện bằng cách sử dụng hỗn hợp của đoạn mồi xuôi D0092F (5'-TAGTTCGGTGACCTGGCTTTATCTACTGG-3' (SEQ ID NO: 446)) và đoạn mồi ngược D0685R (5'-ATGGCTGCTTCTAGAAGCCACCAGTCTCAGG-3' (SEQ ID NO: 447)). CD3γ của người được phát hiện bằng cách sử dụng hỗn hợp của đoạn mồi xuôi G0048F (5'-TGCTCCACGCTTTTGCCGGAGGACAG-3' (SEQ ID NO: 448)) và đoạn mồi ngược G0666R (5'-TAGGAGGAGAACACCTGGACTACTC-3' (SEQ ID NO: 449)). Mặt khác, Cd3ε của chuột được phát hiện bằng cách sử dụng hỗn hợp của đoạn mồi xuôi e0065F (5'-AGCATTCTGAGAGGATGCGGTGGAACAC-3' (SEQ ID NO: 450)) và đoạn mồi ngược e0699R (5'-TGCTCGGAGGGCTGGATCTGGGTCCACAG-3' (SEQ ID NO: 451)). Cd3δ của chuột được phát hiện bằng cách sử dụng hỗn hợp của đoạn mồi xuôi d055F (5'-TCATCCTGTGGCTTGCCTCTATTTGTTGC-3' (SEQ ID NO: 452)) và đoạn mồi ngược d651R (5'-TTGCTATGGCACTTTGAGAAACCTCCATC-3' (SEQ ID NO: 453)). Cd3γ của chuột được phát hiện bằng cách sử dụng hỗn hợp của đoạn mồi xuôi g080F (5'-AATACTTCTACTGGAGAAGCAAAGAG-3' (SEQ ID NO: 454)) và đoạn mồi ngược g316R (5'-TAGTTGCATTTAGAGGACTTATTATGC-3' (SEQ ID

NO: 455)).

Hợp phần của dung dịch phản ứng PCR (tổng là 25µl) được tạo nên từ 1µl mẫu, 2,5µl 10x đệm Ex, 2µl dNTP (2,5mM), 0,1µl mỗi trong số các đoạn mồi (50µM mỗi đoạn), 0,25µl Ex Taq (TAKARA), và 19,05µl nước cất. Các điều kiện PCR cho CD3δ của người, CD3γ của người, Cd3δ của chuột, và Cd3γ của chuột bao gồm gia nhiệt sơ bộ ở 94°C trong hai phút, 35 chu trình của chu trình khuếch đại gồm 94°C trong 30 giây, 60°C trong 30 giây, và 72°C trong hai phút, và gia nhiệt thêm ở 72°C trong năm phút. Đối với CD3ε của người và Cd3ε của chuột, điều kiện PCR bao gồm gia nhiệt sơ bộ ở 94°C trong hai phút, 40 chu trình của chu trình khuếch đại gồm 94°C trong 30 giây, 60°C trong 30 giây, và 72°C trong hai phút, và gia nhiệt thêm ở 72°C trong năm phút. Các đoạn mồi PCR được thiết kế để các sản phẩm khuếch đại phát hiện được của CD3ε của người, CD3δ của người, và CD3γ của người lần lượt là 580bp, 594bp, và 620bp, và các sản phẩm khuếch đại phát hiện được của Cd3ε của chuột, Cd3δ của chuột, và Cd3γ của chuột lần lượt là 635bp, 597bp, và 237 bp.

Ở chuột thiếu gen Cd3, các tín hiệu PCR thu được từ phân tử Cd3 của chuột không được phát hiện. Chỉ CD3ε của người, CD3δ của người, và CD3γ của người được phát hiện, và không gen nào trong số các gen Cd3ε của chuột, Cd3δ của chuột, và Cd3γ của chuột được phát hiện từ các mẫu thu được từ các dòng 1C3 và 8I12 của các dòng nêu trên trong số các dòng chuột được thay thế gen CD3 của người (dòng số 1C3, 3B1, 8I12, và 2A4) được tạo ra bằng cách đưa vùng gen CD3 của người vào chuột thiếu gen Cd3 (Fig.31). Từ các mẫu thu được từ chuột kiểu dại, CD3ε của người, CD3δ của người, và CD3γ của người không được phát hiện, và Cd3ε của chuột, Cd3δ của chuột, và Cd3γ của chuột được phát hiện (Fig.31). Các kết quả này xác nhận rằng chuột biểu hiện CD3ε, CD3δ, và CD3γ của người thay cho Cd3ε, Cd3δ, và Cd3γ của chuột thu được như được thiết kế. Dòng 4HH3 trên Fig.31 được phân tích trong cá thể trong đó alen Cd3 của chuột là kiểu dại và gen CD3 của người được đưa vào, và phân tử CD3 của người tương ứng và phân tử Cd3 của chuột tương ứng đều được phát hiện. Sau đó, nó được lai giống với chuột thiếu Cd3 để thiết lập dòng thiếu alen Cd3 của chuột và dòng biểu hiện gen CD3 của người.

- Phân tích bằng cách nhuộm màu mô miễn dịch -

Sự phân bố mô được kiểm tra sử dụng kháng thể kháng CD3 làm kháng thể bậc một. Sự nhuộm màu CD3 không được quan sát thấy trong bất kỳ mô nào từ chuột thiếu Cd3, trong khi sự nhuộm màu đặc hiệu CD3 tương đương với sự nhuộm màu CD3 của chuột kiểu dại được quan sát đối với chuột được thay thế CD3 của người tạo ra bằng cách đưa gen CD3 của người vào chuột thiếu gen Cd3. Cụ thể hơn, sự nhuộm màu đặc hiệu được quan sát thấy ở các vùng tế bào T trong tuyến ức (Fig.32A) và lá lách (Fig.32B). Ở tất cả các mô, sự nhuộm màu chỉ được quan sát thấy ở vùng tế bào T, tương tự với chuột kiểu dại. Ngoài ra, sự nhuộm màu không được quan sát thấy ở chuột thiếu gen Cd3, chỉ ra rằng chuột được thay thế gen CD3 của người là do sự biểu hiện của gen CD3 của người đã được đưa vào. Ngoài ra, sự phát hiện của CD3 trong các cơ quan chính là giống với trong kiểu dại, và sự nhuộm màu lệch không được quan sát thấy (bảng 19).

Bảng 19

hCD3, chuột mCD3KOTG
IACUC 14-074

Cơ quan	Dòng	mCD3ko,hCD3TG									hCD3 ε TG		mCD3KO Không			C57BL/6N Không		
Phát hiện	Động vật số	#4HH3			#6I12			#1C3			#3-1-78	#195						
Nhuộm màu IHC : CD3	Giống	008-130	010-163	003-91	003-85	003-86	001-60	168	169	97	195	790	001-63	001-64	001-67	B6-01	B6-02	B6-03
		♀	♀	♂	♂	♂	♂	♀	♀	♂	Đối chứng dương		♀	♀	♂	♀	♀	♂
Ngày nhuộm màu IHC : A. 2014.6.19; B.2014.6.25		A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B	B
Tuyến ức																		
Sư teo		+	±	–	–	±	–	–	–	–	+	–	++	++	++	–	–	–
Lympho bào, vỏ		++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	–	–	–	+++	+++	+++
Lympho bào, tủy sống		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	–	–	–	+++	+++	+++
Mô khác		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Màng treo ruột											NA	NA						
Sư teo		+	+	±	–	±	+	–	+	+			++	++	++	–	–	–
Lympho bào, cận vỏ		++	++	++	+++	+++	++	+++	++	++			–	–	–	+++	+++	+++
Lympho bào, nang		+	+	+	+	+	+	+	+	+			–	–	–	+	+	+
Lympho bào, tủy sống		+	+	+	+	+	+	+	+	+			–	–	–	+	+	+
Mô khác		–	–	–	–	–	–	–	–	–			–	–	–	–	–	–
Hồi tràng											NA	NA						
Sư teo GALT		+	–	–	–	–	–	–	–	–			++	++	++	–	–	–
Lympho bào, GALT		+	±	±	±	++	+	+	++	+			–	–	–	++	+	+
Lympho bào, lớp lamina propria		±	+	+	±	+	+	+	+	+			–	–	–	+	+	±
Mô khác		–	–	–	–	–	–	–	–	–			–	–	–	–	–	–
Lá lách																		
Sư teo		±	–	–	–	–	±	–	–	–	–	–	+	+	+	–	–	–
Lympho bào, PALS		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	–	–	–	+++	+++	+++
Lympho bào, nang		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	+	+	+
Lympho bào, tủy đỏ		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	–	–	–	++	++	++
Mô khác		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Gan																		
Lympho bào, vỏng huyết quản		+	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	NA	–	–	–	+	+	+
Mô khác		–	–	–	–	–	–	–	–	–			–	–	–	–	–	–
Thận											NA	NA						
Lympho bào, khe kẽ		±	–	±	±	±	±	±	±	±			–	–	–	±	±	±
Mô khác		–	–	–	–	–	–	–	–	–			–	–	–	–	–	–
Tuyến thượng thận											NA	NA						
Lympho bào, vỏng huyết quản		–	–	–	–	–	±	±	–	±			–	–	–	±	±	±
Mô khác		–	–	–	–	–	–	–	–	–			–	–	–	–	–	–
Phổi											NA	NA						
Lympho bào, túi chế nang		±	–	±	±	±	±	±	±	±			–	–	–	±	±	±
Mô khác		–	–	–	–	–	–	–	–	–			–	–	–	–	–	–
Tim											NA	NA						
Lympho bào, vỏng huyết quản		–	–	±	–	–	–	±	±	±			–	–	–	±	±	±
Mô khác		–	–	–	–	–	–	–	–	–			–	–	–	–	–	–
Cơ bụng chân		–	–	–	–	–	–	–	–	–	NA	NA	–	–	–	–	–	–

Phát hiện : –, Âm tính ; ±, rất ít ; +, ít ; ++, trung bình ; +++, mạnh
Nhuộm màu IHC : –, Âm tính ; ±, hiếm ; +, thỉnh thoảng ; ++, thường xuyên ; +++, liên tục

(8) Đánh giá tỷ lệ độ nhiều của tế bào T trưởng thành ở chuột được thay thế gen CD3 của người

Các phân tích FACS được thực hiện sử dụng tế bào lá lách. Lá lách được gom từ chuột (12 đến 14 tuần tuổi, con đực), và các tế bào được phân lập bằng cách sử dụng mắt lưới 70μm. Hồng cầu được dung giải bằng cách bổ sung chất làm tan máu (do SIGMA sản xuất). Sau khi phong bế sử dụng dung dịch phong bế Fc, kháng thể Cd3 kháng chuột được đánh dấu FITC, kháng thể kháng CD3 người được đánh dấu FITC, kháng thể kháng Cd4 chuột được đánh dấu APC, và kháng thể kháng Cd8 chuột được đánh dấu PE được sử dụng trên 2 x 10^6 tế bào, và số lượng tế bào dương tính tương ứng được phân tích bằng máy đếm dòng tế bào. Được chỉ ra rằng chuột thiếu gen Cd3 gần như thiếu hoàn toàn các tế bào T trưởng thành, tức là, các tế bào dương tính đơn lẻ Cd4 và Cd8, trong khi các tế bào này có mặt trong chuột được thay thế gen CD3 của người ở tỷ lệ tương đương với trong chuột kiểu dại.

Tỷ lệ độ nhiều của tế bào T

Bảng 20

Nhóm thử nghiệm	Số mẫu	mCd3	hCD3	mCd4	mCd8
Chuột được thay thế CD3 của người #1C3	n=4	ND.	38,8 (±3,1)	19,6 (±0,7)	16,1 (±3,6)
Chuột được thay thế CD3 của người #4HH3	n=2	ND.	29,8 , 28,9	15,5 , 13,9	17,5 , 16,4
Chuột được thay thế CD3 của người #8I12	n=4	ND.	31,5 (±5,4)	15,5 (±3,1)	15,3 (±2,7)
Chuột hCD3E Tg	n=4	19,5 (±3,76)	13,0 (±1,4)	7,4 (±0,6)	7,8 (±0,8)
Chuột thiếu Cd3	n=4	ND.	ND.	1,8 (±1,3)	2,1 (±0,6)
C57BL/6N	n=4	40,4 (±8,42)	ND.	20,3 (±6,7)	12,7 (±2,1)

Bảng này thể hiện tỷ lệ biểu hiện của tế bào dương tính với gen đánh dấu đối với các tế bào lá lách (% đơn vị). Giá trị trung bình từ bốn cá thể được thể hiện với mỗi nhóm thử nghiệm, ngoại trừ chuột được thay thế CD3 của người #4HH3, và tỷ lệ biểu hiện của hai cá thể được thể hiện đối với dòng #4HH3. (Độ lệch chuẩn được thể hiện trong dấu ngoặc đơn) ND: không phát hiện được.

Ví dụ tham khảo 11. Đánh giá chức năng miễn dịch của chuột được thay thế gen CD3

của người

(1) Kiểm tra khả năng tạo ra kháng thể đặc hiệu trong đáp ứng với sự gây miễn dịch cho kháng nguyên từ bên ngoài

Để tạo ra kháng thể đặc hiệu dựa trên kháng nguyên từ bên ngoài, cần có sự tồn tại của tế bào T hỗ trợ chức năng mà có thể liên kết với các peptit kháng nguyên có mặt cùng với kháng nguyên phức hợp tương thích mô chính (major histocompatibility complex-MHC) trên bề mặt của các tế bào có mặt kháng nguyên như tế bào hình cây, và tế bào T phải có chức năng tạo ra các chỉ thị cho tế bào tạo kháng thể để sản xuất ra kháng thể phù hợp. Chuột được thay thế gen CD3 của người nêu trên được kiểm tra xem có mang tế bào T giúp đỡ có chức năng bình thường và tạo ra kháng thể đặc hiệu trong đáp ứng để gây miễn dịch với kháng nguyên từ bên ngoài hay không. Việc gây miễn dịch được tiến hành sử dụng ovalbumin của người (OVA) làm kháng nguyên gây nhạy cùng với tá dược Freund. Việc gây miễn dịch với OVA được thực hiện hai lần với khoảng thời gian bốn tuần. Cụ thể hơn, việc gây miễn dịch trước tiên được thực hiện bằng cách sử dụng qua đường dưới da, 100μg OVA mỗi con với tá dược Freund hoàn chỉnh vào vùng lưng, và bốn tuần sau, việc gây miễn dịch tương tự được thực hiện bằng cách đưa qua đường dưới da kháng nguyên cùng với tá dược Freund chưa hoàn chỉnh vào vùng lưng. Chuột được thay thế gen CD3 của người, hai dòng (dòng số 1C3 và 8I12), mỗi trong số hai dòng này thu được từ dòng tế bào ES biến đổi khác nhau, được chọn lọc và so sánh với chuột biểu hiện quá CD3ε của người. Ngoài ra, dùng làm đối chứng, chuột kiểu dại và chuột thiếu gen Cd3 được lựa chọn và việc gây miễn dịch kháng nguyên tương tự được thực hiện.

Một tuần sau khi gây miễn dịch lần hai, các con vật được đem đi làm thủ thuật mở bụng trong điều kiện gây mê bằng isofluran, và sau đó được trợ tử bằng cách lấy toàn bộ máu và để máu chảy từ tĩnh mạch chủ ở bụng. Huyết tương được tách ra từ máu đã lấy, và các nồng độ của IgG1 đặc hiệu OVA và IgE đặc hiệu OVA được đo (Fig.34).

Kết quả là, không loại nào trong số kháng thể đặc hiệu OVA loại IgG1 hay loại IgE được phát hiện từ huyết tương của chuột thiếu Cd3 của chuột, trong khi IgG1 và IgE đặc hiệu OVA được phát hiện thấy ở cả hai dòng chuột được thay thế gen CD3 của người, và lượng của chúng tương đương với của chuột kiểu dại. Các kết quả này cho thấy rằng chuột được thay thế gen CD3 của người có khả năng tạo ra kháng thể bình

thường trong đáp ứng với việc gây miễn dịch kháng nguyên.

Khả năng ứng dụng trong công nghiệp

Sáng chế đề xuất chất chống ung thư và dược phẩm để sử dụng kết hợp với chất chống ung thư khác, chất hoặc chế phẩm này chứa phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu mới mà duy trì hoạt tính kháng khối u mạnh được tạo ra bởi BiTE và đặc tính an toàn rất tốt khi không gây bão xytokin hoặc tương tự độc lập từ kháng nguyên ung thư, và còn có chu kỳ bán rã dài trong máu. Chất chống ung thư và dược phẩm chứa phân tử liên kết kháng nguyên theo sáng chế làm thành phần hoạt tính có thể nhằm đích tế bào biểu hiện glypican 3 và các mô khối u chứa các tế bào này và gây độc tính tế bào. Việc sử dụng phân tử liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu theo sáng chế cho bệnh nhân giúp có thể có sự điều trị mong muốn không chỉ có mức độ an toàn cao mà còn giảm gánh nặng vật chất và rất thuận tiện.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Bộ kit bao gồm:

(A) dược phẩm chứa kháng thể đặc hiệu kép;

(B) vật chứa; và

(C) hướng dẫn hoặc nhãn chỉ ra rằng kháng thể đặc hiệu kép và ít nhất một loại chất kháng ung thư khác được sử dụng kết hợp cho cá thể để điều trị bệnh ung thư dương tính với glypican-3 ở cá thể này,

trong đó kháng thể đặc hiệu kép chứa vùng biến đổi của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi của kháng thể có hoạt tính liên kết CD3,

trong đó vùng biến đổi của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 và vùng biến đổi của kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ chung, theo thứ tự, và

trong đó (a) vùng biến đổi của kháng thể có hoạt tính liên kết glypican 3 chứa vùng quyết định tính bổ thể của vùng biến đổi chuỗi nặng (CDR) 1, CDR2, và CDR3 chứa trình tự axit amin của các vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 206, theo thứ tự; (b) vùng biến đổi của kháng thể có hoạt tính liên kết CD3 chứa vùng biến đổi chuỗi nặng CDR1, CDR2, và CDR3 chứa trình tự axit amin của các vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 168, theo thứ tự; và (c) vùng biến đổi chuỗi nhẹ chung chứa CDR1, CDR2, và CDR3 chứa trình tự axit amin của các vùng CDR1, CDR2, và CDR3 được nêu trong SEQ ID NO: 223, theo thứ tự.

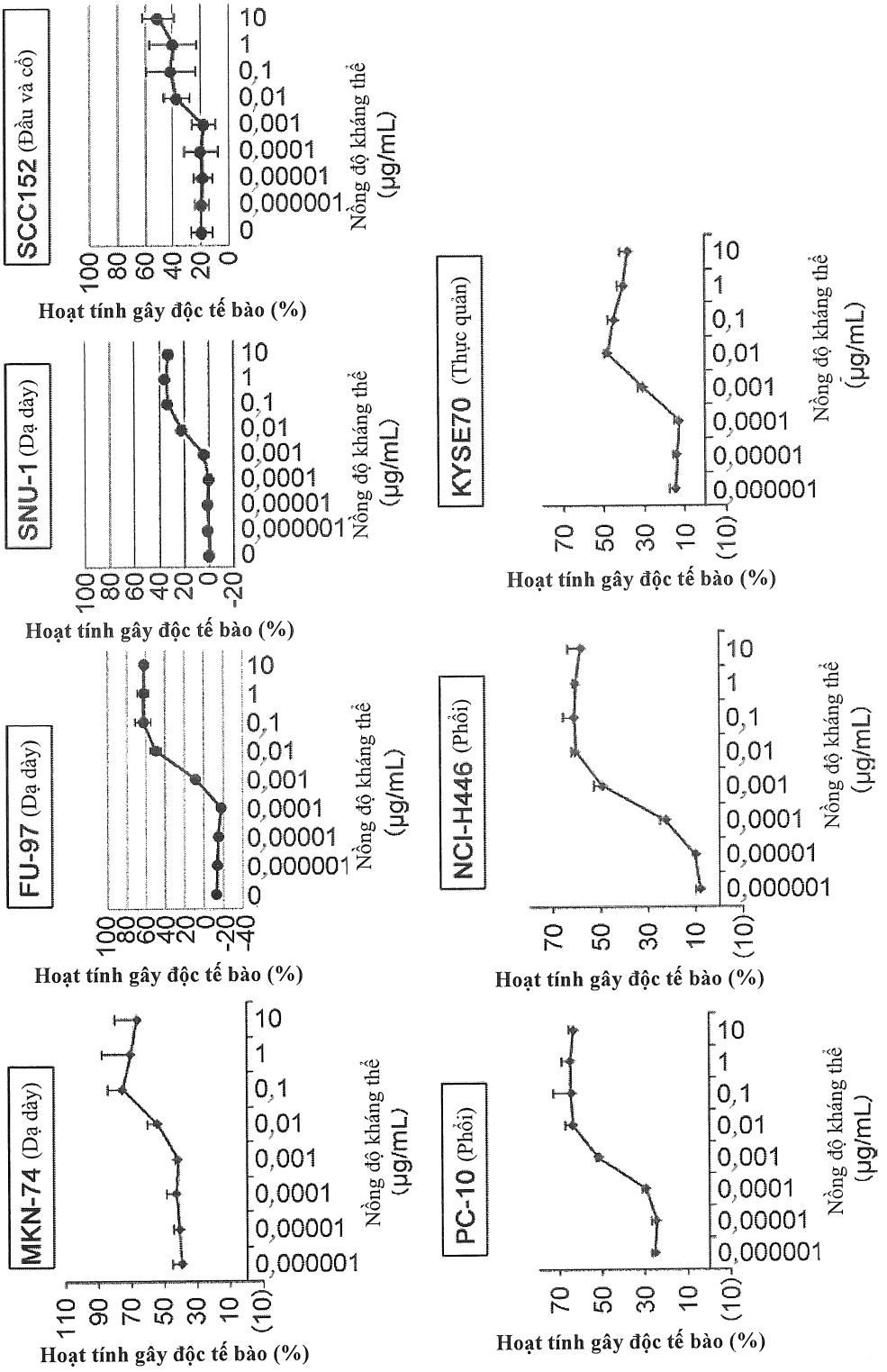

SCC152 (Đầu và cổ)
Hoạt tính gây độc tế bào (%)
Nồng độ kháng thể (µg/mL)
SNU-1 (Dạ dày)
Hoạt tính gây độc tế bào (%)
Nồng độ kháng thể (µg/mL)
FU-97 (Dạ dày)
Hoạt tính gây độc tế bào (%)
Nồng độ kháng thể (µg/mL)
MKN-74 (Dạ dày)
Hoạt tính gây độc tế bào (%)
Nồng độ kháng thể (µg/mL)
KYSE70 (Thực quản)
Hoạt tính gây độc tế bào (%)
Nồng độ kháng thể (µg/mL)
NCI-H446 (Phổi)
Hoạt tính gây độc tế bào (%)
Nồng độ kháng thể (µg/mL)
PC-10 (Phổi)
Hoạt tính gây độc tế bào (%)
Nồng độ kháng thể (µg/mL)

FIG. 1-1

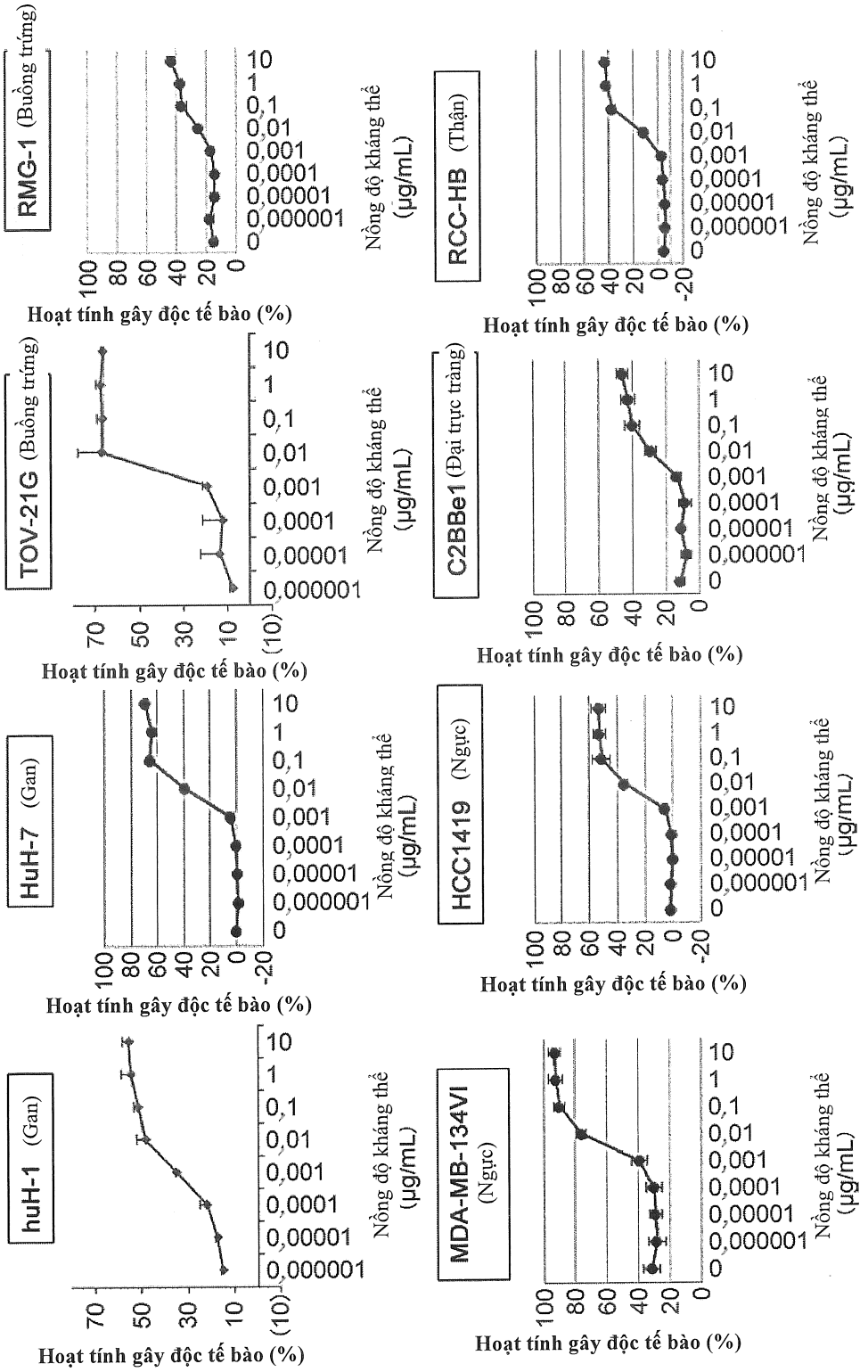

RMG-1 (Buồng trứng)
TOV-21G (Buồng trứng)
HuH-7 (Gan)
huH-1 (Gan)
RCC-HB (Thận)
C2BBe1 (Đại trực tràng)
HCC1419 (Ngực)
MDA-MB-134VI (Ngực)
Hoạt tính gây độc tế bào (%)
Nồng độ kháng thể (µg/mL)
10
1
0,1
0,01
0,001
0,0001
0,00001
0,000001
0
100
80
60
40
20
0
-20
70
50
30
10
(10)

FIG. 1-2

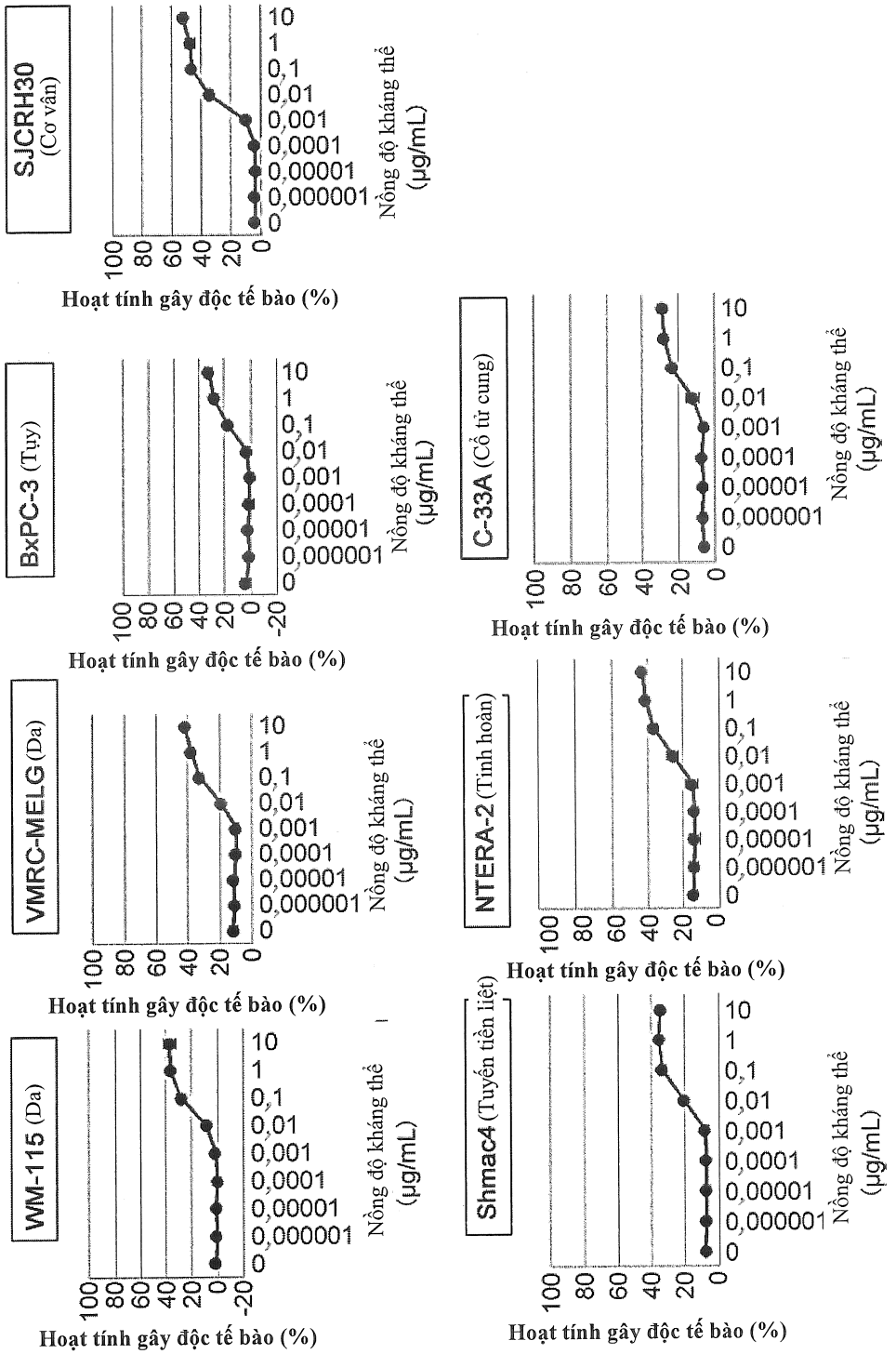

SJCRH30 (Cơ vân)
BxPC-3 (Tụy)
C-33A (Cổ tử cung)
VMRC-MELG (Da)
NTERA-2 (Tinh hoàn)
WM-115 (Da)
Shmac4 (Tuyến tiền liệt)
Hoạt tính gây độc tế bào (%)
Nồng độ kháng thể (µg/mL)
100
80
60
40
20
0
-20
10
1
0,1
0,01
0,001
0,0001
0,00001
0,000001
0

FIG. 1-3

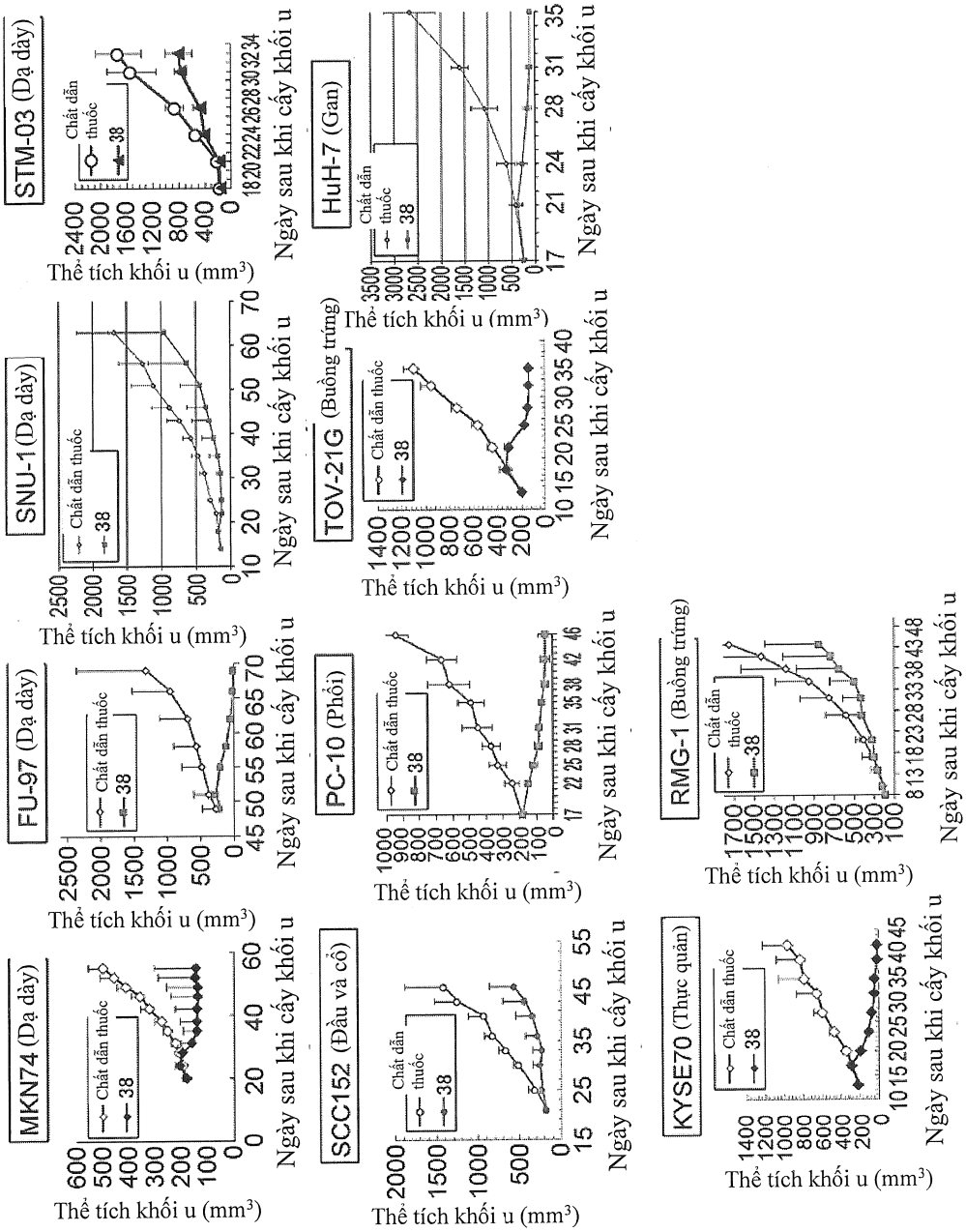

MKN74 (Dạ dày)
FU-97 (Dạ dày)
SNU-1(Dạ dày)
STM-03 (Dạ dày)
SCC152 (Đầu và cổ)
PC-10 (Phổi)
TOV-21G (Buồng trứng)
HuH-7 (Gan)
KYSE70 (Thực quản)
RMG-1 (Buồng trứng)
Chất dẫn thuốc
38
Thể tích khối u (mm3)
Ngày sau khi cấy khối u

FIG. 2

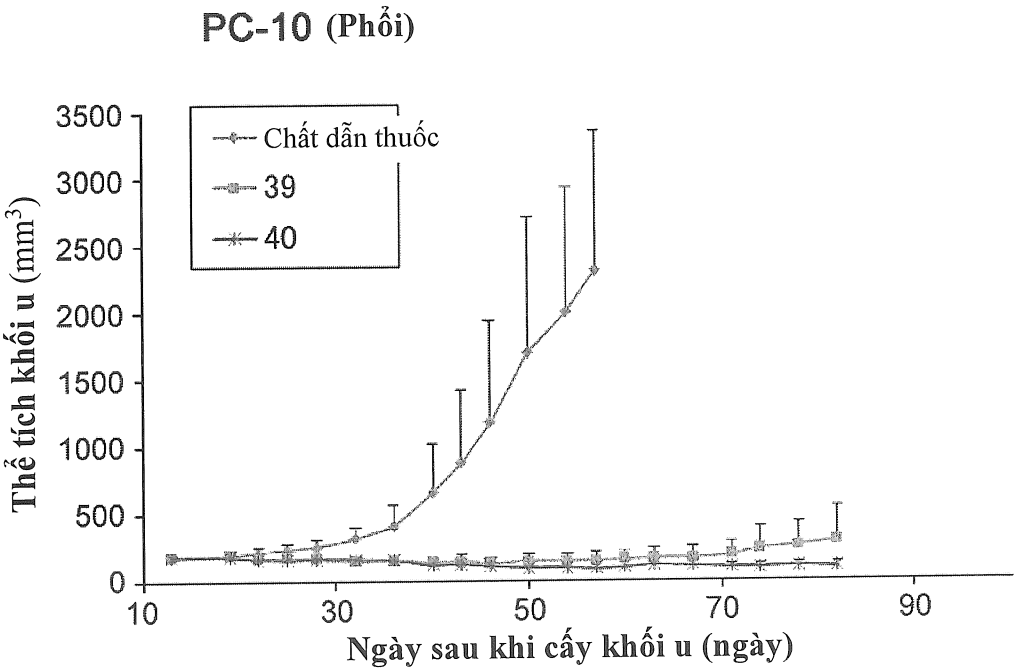

PC-10 (Phổi)
Chất dẫn thuốc
39
40
Thể tích khối u (mm3)
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
10
30
50
70
90
Ngày sau khi cấy khối u (ngày)

FIG. 3

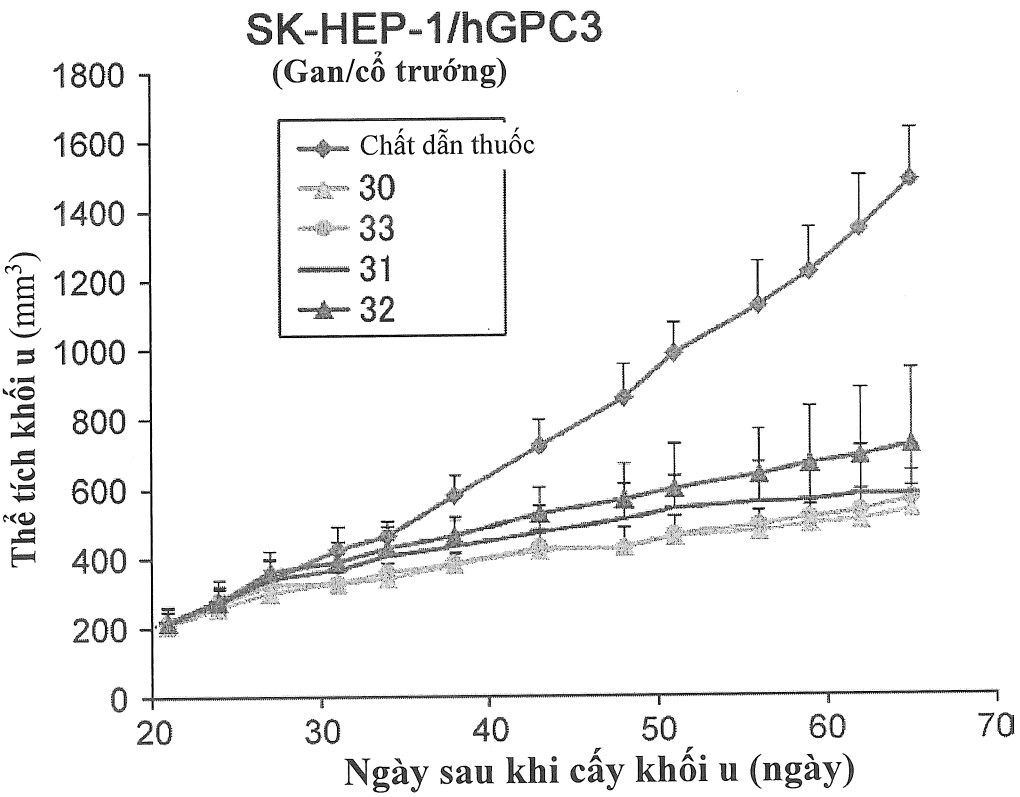

SK-HEP-1/hGPC3
(Gan/cổ trướng)
Chất dẫn thuốc
30
33
31
32
Thể tích khối u (mm3)
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
20
30
40
50
60
70
Ngày sau khi cấy khối u (ngày)

FIG. 4

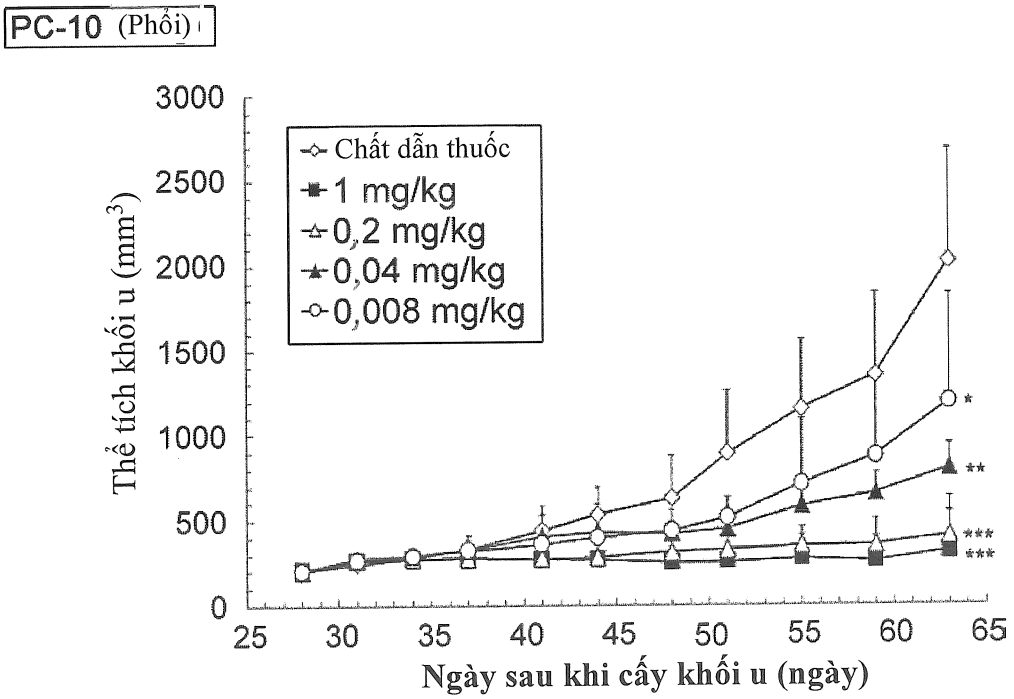

PC-10 (Phổi)
Chất dẫn thuốc
1 mg/kg
0,2 mg/kg
0,04 mg/kg
0,008 mg/kg
Thể tích khối u (mm3)
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
25
30
35
40
45
50
55
60
65
Ngày sau khi cấy khối u (ngày)
*
**
***
***

FIG. 5

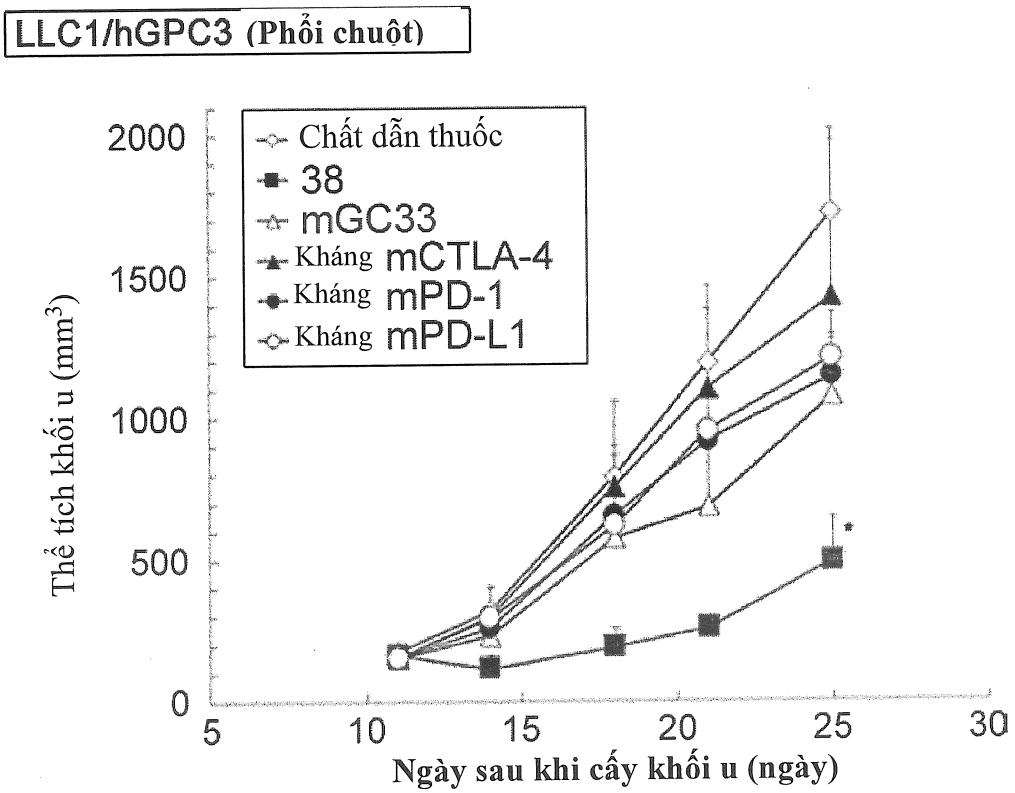

LLC1/hGPC3 (Phổi chuột)
Chất dẫn thuốc
38
mGC33
Kháng mCTLA-4
Kháng mPD-1
Kháng mPD-L1
Thể tích khối u (mm3)
2000
1500
1000
500
0
5
10
15
20
25
30
Ngày sau khi cấy khối u (ngày)
*

FIG. 6

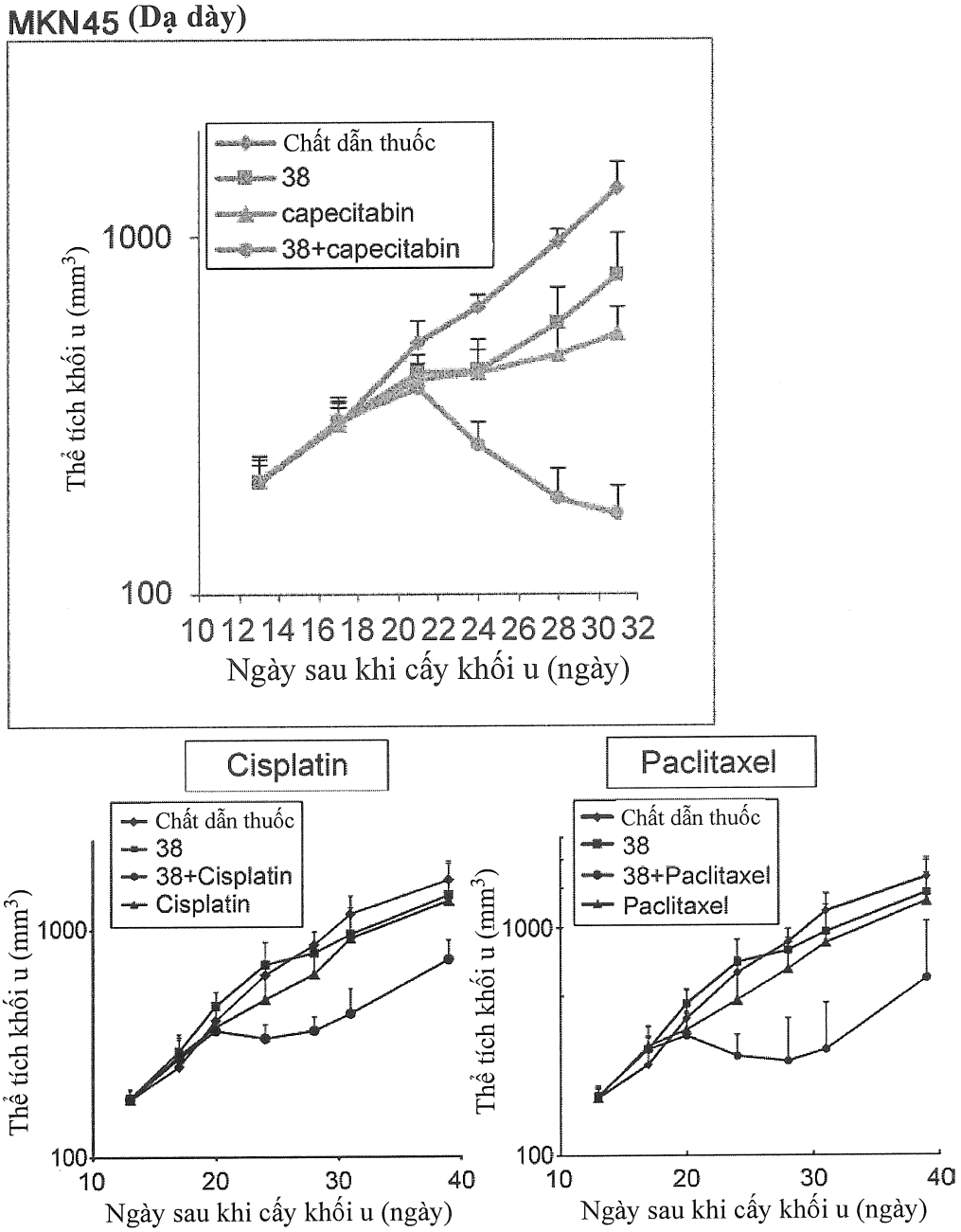

MKN45 (Dạ dày)
Chất dẫn thuốc
38
capecitabin
38+capecitabin
Thể tích khối u (mm3)
1000
100
10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32
Ngày sau khi cấy khối u (ngày)
Cisplatin
Chất dẫn thuốc
38
38+Cisplatin
Cisplatin
Thể tích khối u (mm3)
1000
100
10
20
30
40
Ngày sau khi cấy khối u (ngày)
Paclitaxel
Chất dẫn thuốc
38
38+Paclitaxel
Paclitaxel
Thể tích khối u (mm3)
1000
100
10
20
30
40
Ngày sau khi cấy khối u (ngày)

FIG. 7

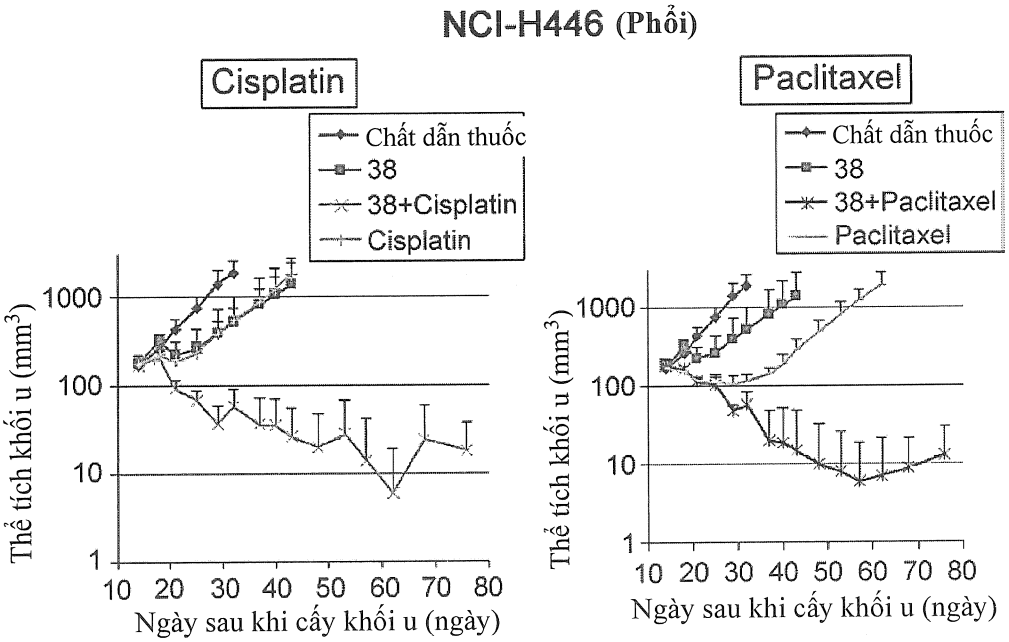

NCI-H446 (Phổi)
Cisplatin
Chất dẫn thuốc
38
38+Cisplatin
Cisplatin
Thể tích khối u (mm3)
1000
100
10
1
10 20 30 40 50 60 70 80
Ngày sau khi cấy khối u (ngày)
Paclitaxel
Chất dẫn thuốc
38
38+Paclitaxel
Paclitaxel
Thể tích khối u (mm3)
1000
100
10
1
10 20 30 40 50 60 70 80
Ngày sau khi cấy khối u (ngày)

FIG. 8

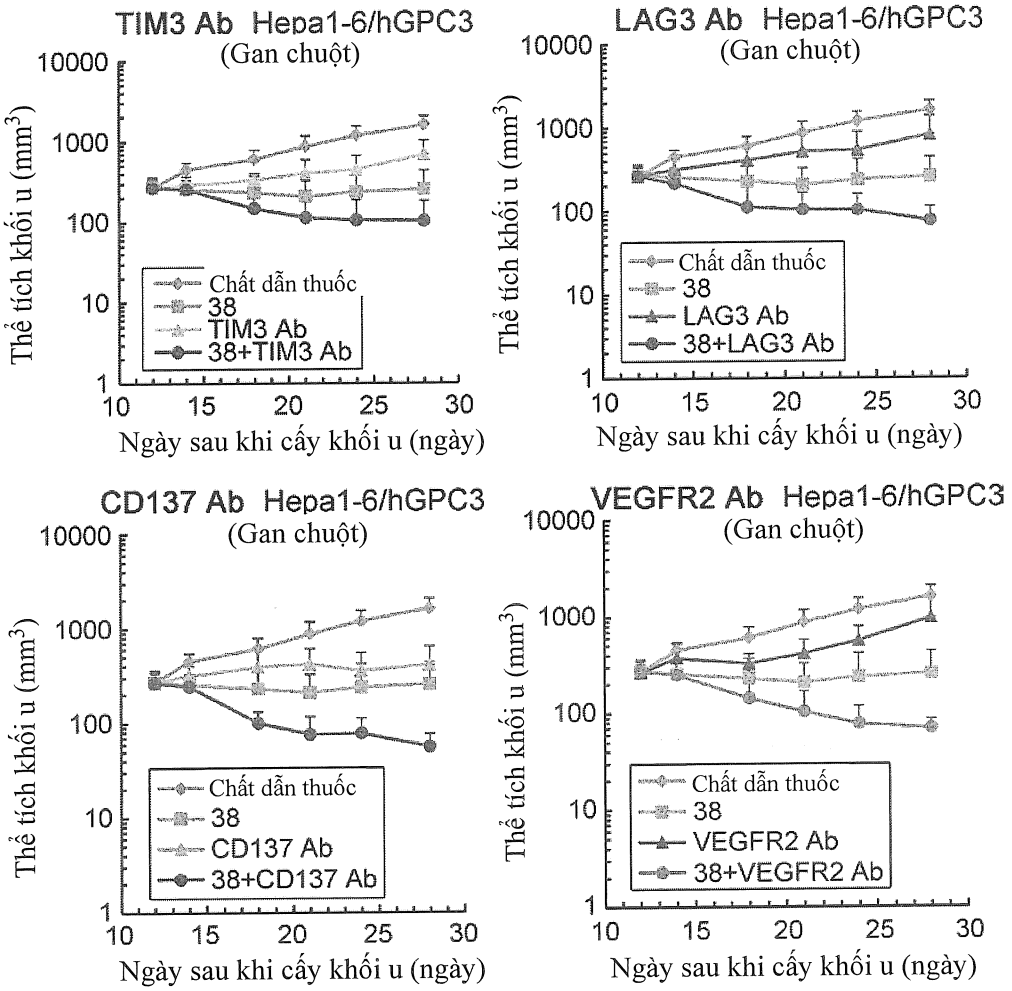

TIM3 Ab Hepa1-6/hGPC3
(Gan chuột)
Thể tích khối u (mm3)
10000
1000
100
10
1
10
15
20
25
30
Ngày sau khi cấy khối u (ngày)
Chất dẫn thuốc
38
TIM3 Ab
38+TIM3 Ab
LAG3 Ab Hepa1-6/hGPC3
(Gan chuột)
Thể tích khối u (mm3)
Ngày sau khi cấy khối u (ngày)
Chất dẫn thuốc
38
LAG3 Ab
38+LAG3 Ab
CD137 Ab Hepa1-6/hGPC3
(Gan chuột)
Thể tích khối u (mm3)
Ngày sau khi cấy khối u (ngày)
Chất dẫn thuốc
38
CD137 Ab
38+CD137 Ab
VEGFR2 Ab Hepa1-6/hGPC3
(Gan chuột)
Thể tích khối u (mm3)
Ngày sau khi cấy khối u (ngày)
Chất dẫn thuốc
38
VEGFR2 Ab
38+VEGFR2 Ab

FIG. 9

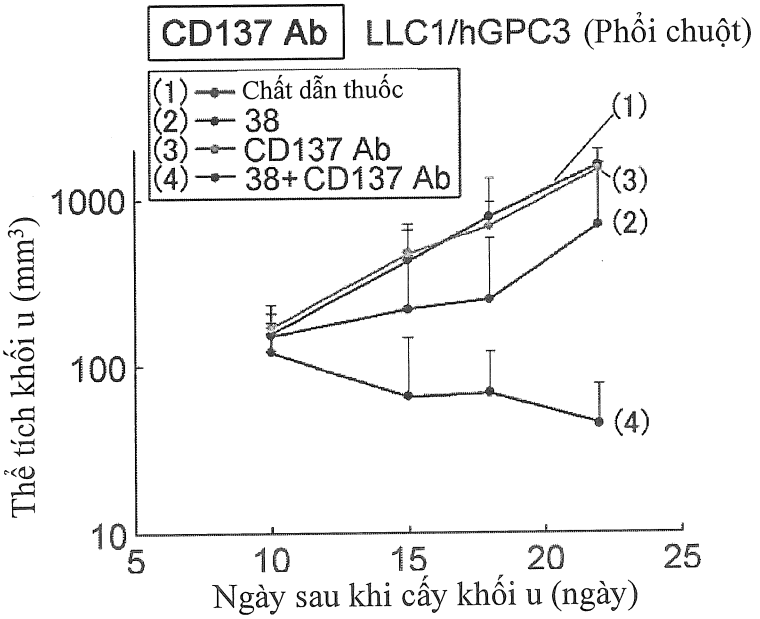

CD137 Ab
LLC1/hGPC3 (Phổi chuột)
(1) Chất dẫn thuốc
(2) 38
(3) CD137 Ab
(4) 38+CD137 Ab
Thể tích khối u (mm3)
1000
100
10
5
10
15
20
25
Ngày sau khi cấy khối u (ngày)
(1)
(3)
(2)
(4)

FIG. 10

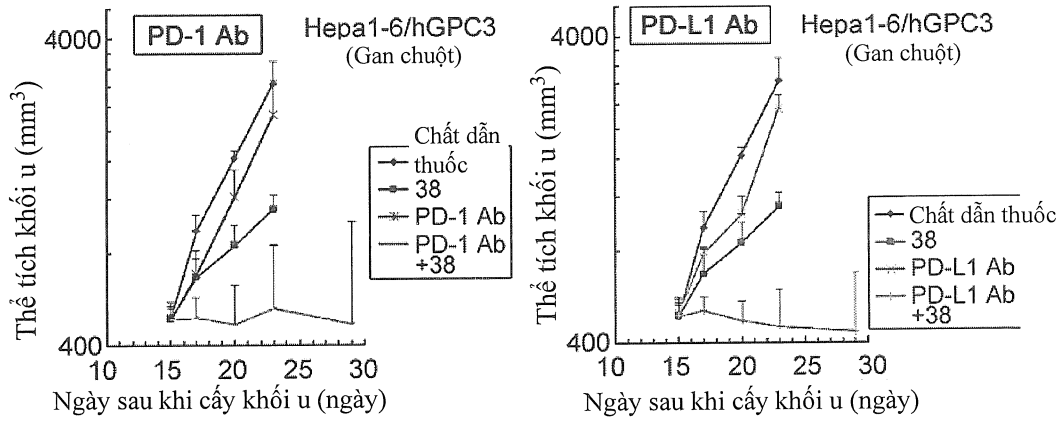
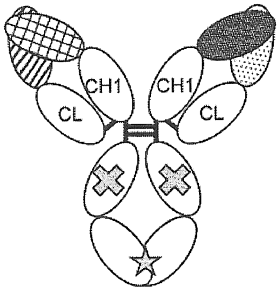
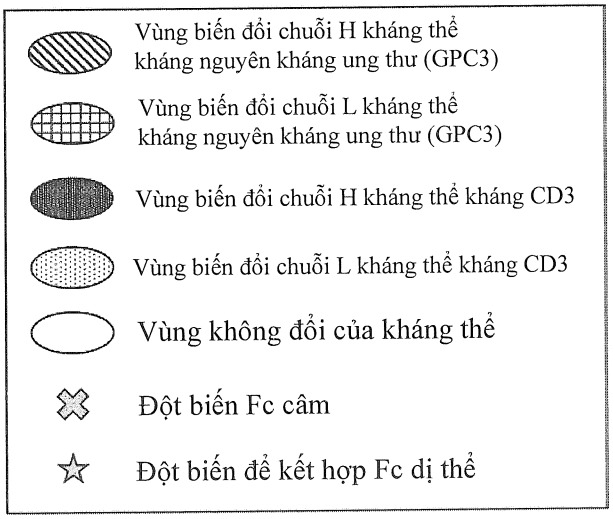

PD-1 Ab
Hepa1-6/hGPC3
(Gan chuột)
4000
400
Thể tích khối u (mm3)
10 15 20 25 30
Ngày sau khi cấy khối u (ngày)
Chất dẫn thuốc
38
PD-1 Ab
PD-1 Ab +38
PD-L1 Ab
Hepa1-6/hGPC3
(Gan chuột)
4000
400
Thể tích khối u (mm3)
10 15 20 25 30
Ngày sau khi cấy khối u (ngày)
Chất dẫn thuốc
38
PD-L1 Ab
PD-L1 Ab +38

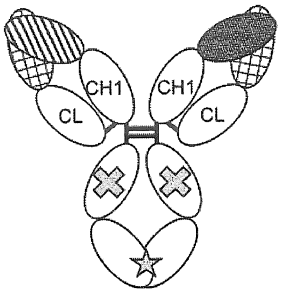
FIG. 11

a ERY22





b ERY27



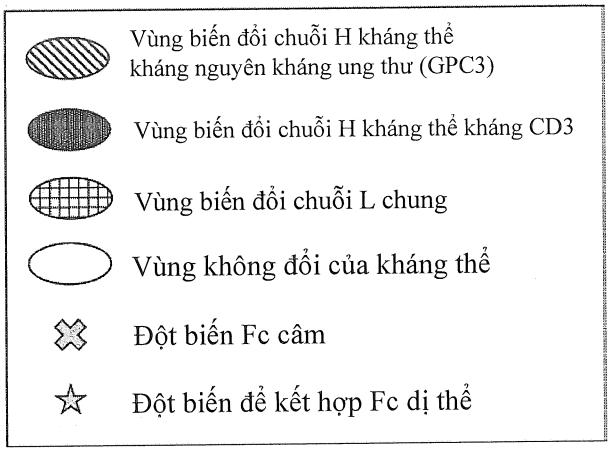


FIG. 12

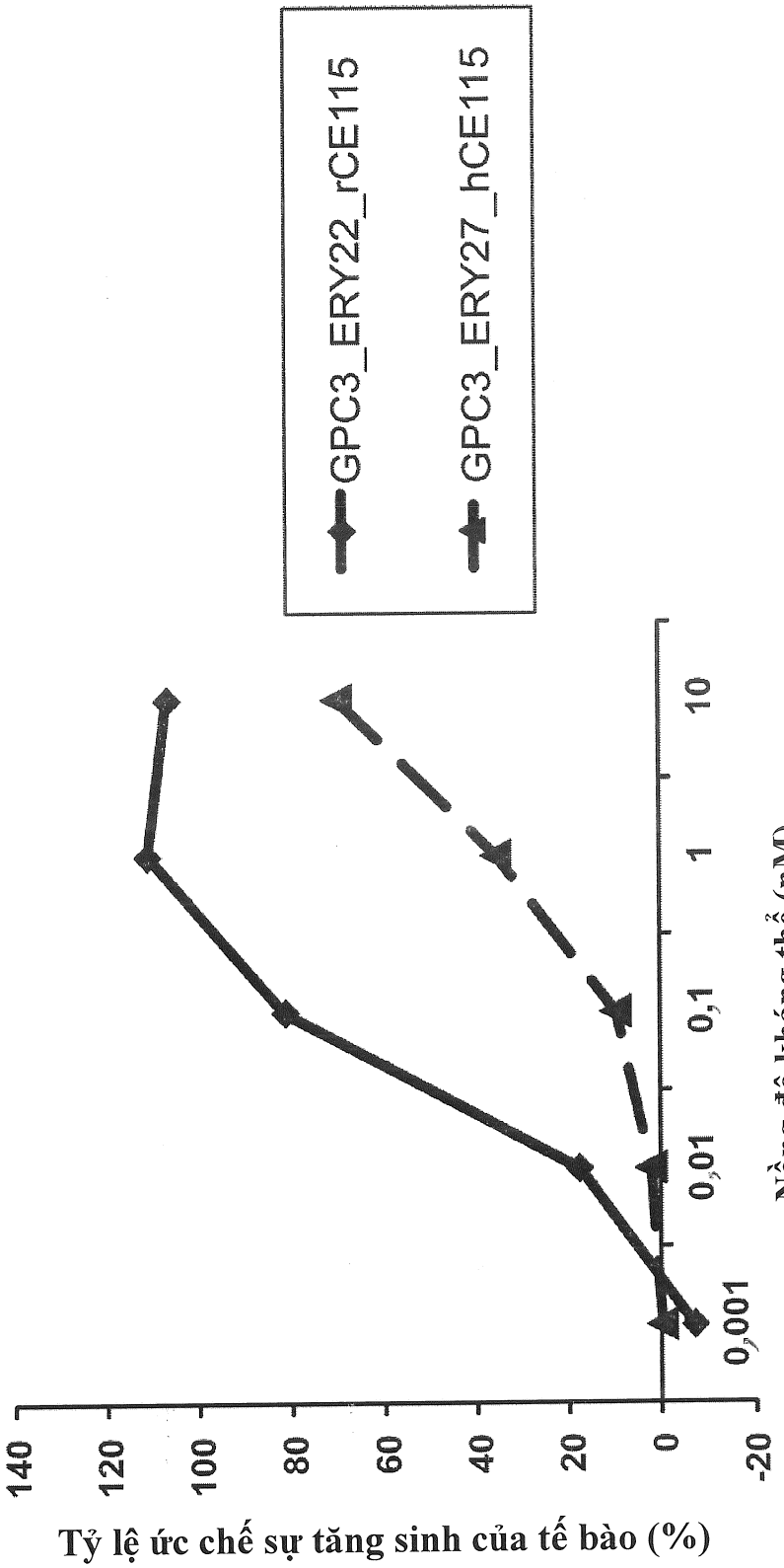

GPC3_ERY22_rCE115
GPC3_ERY27_hCE115
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
0,001
0,01
0,1
1
10
Nồng độ kháng thể (nM)
Tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (%)

FIG. 13

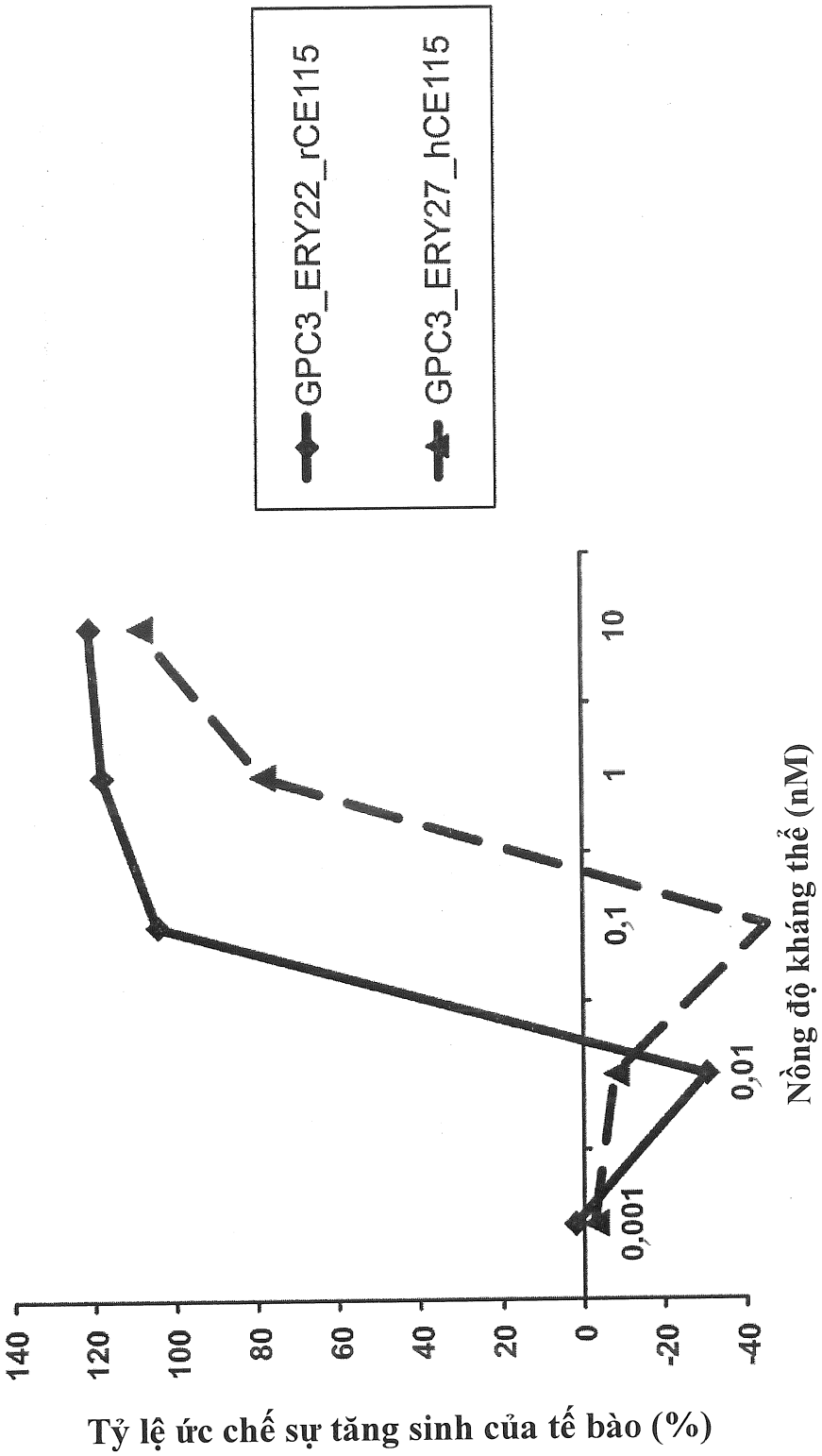

GPC3_ERY22_rCE115
GPC3_ERY27_hCE115
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
-40
0,001
0,01
0,1
1
10
Nồng độ kháng thể (nM)
Tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (%)

FIG. 14

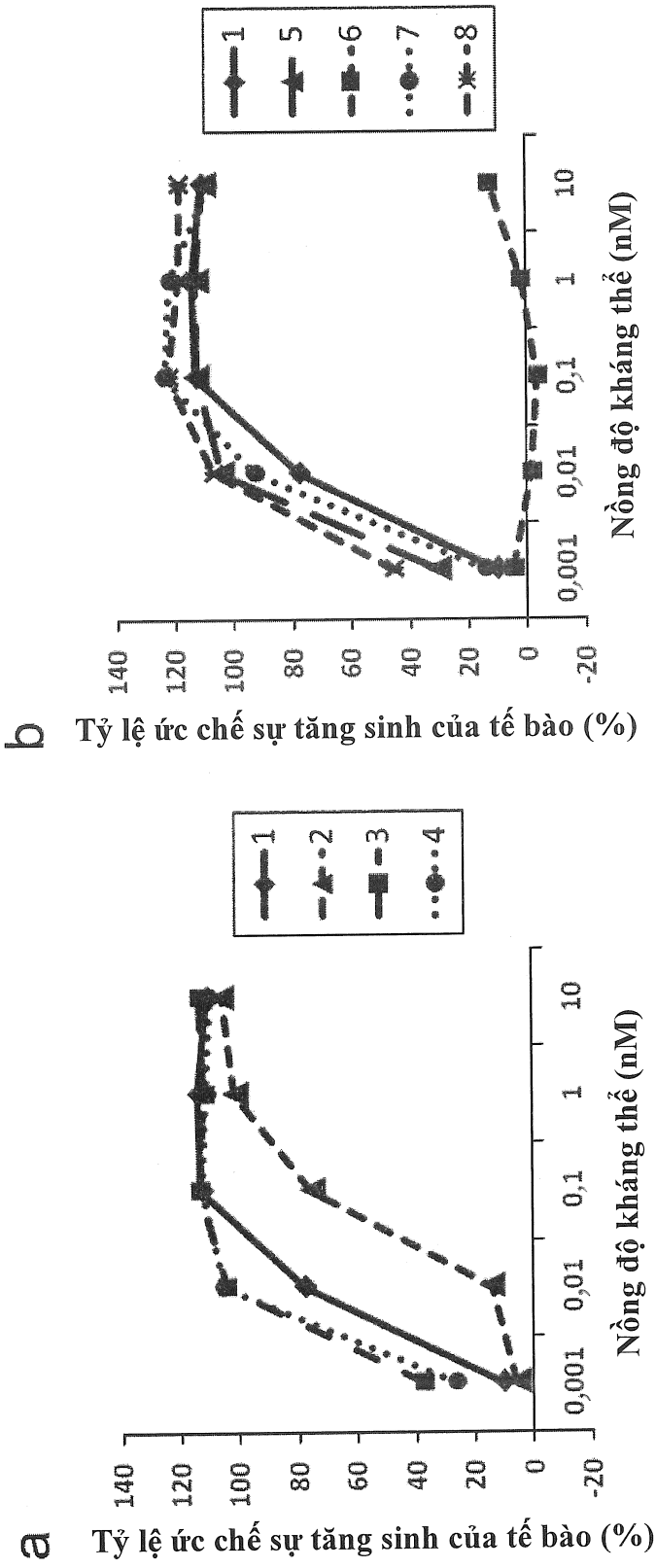

a
Tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
0,001
0,01
0,1
1
10
Nồng độ kháng thể (nM)
1
2
3
4
b
Tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
0,001
0,01
0,1
1
10
Nồng độ kháng thể (nM)
1
5
6
7
8

FIG. 15

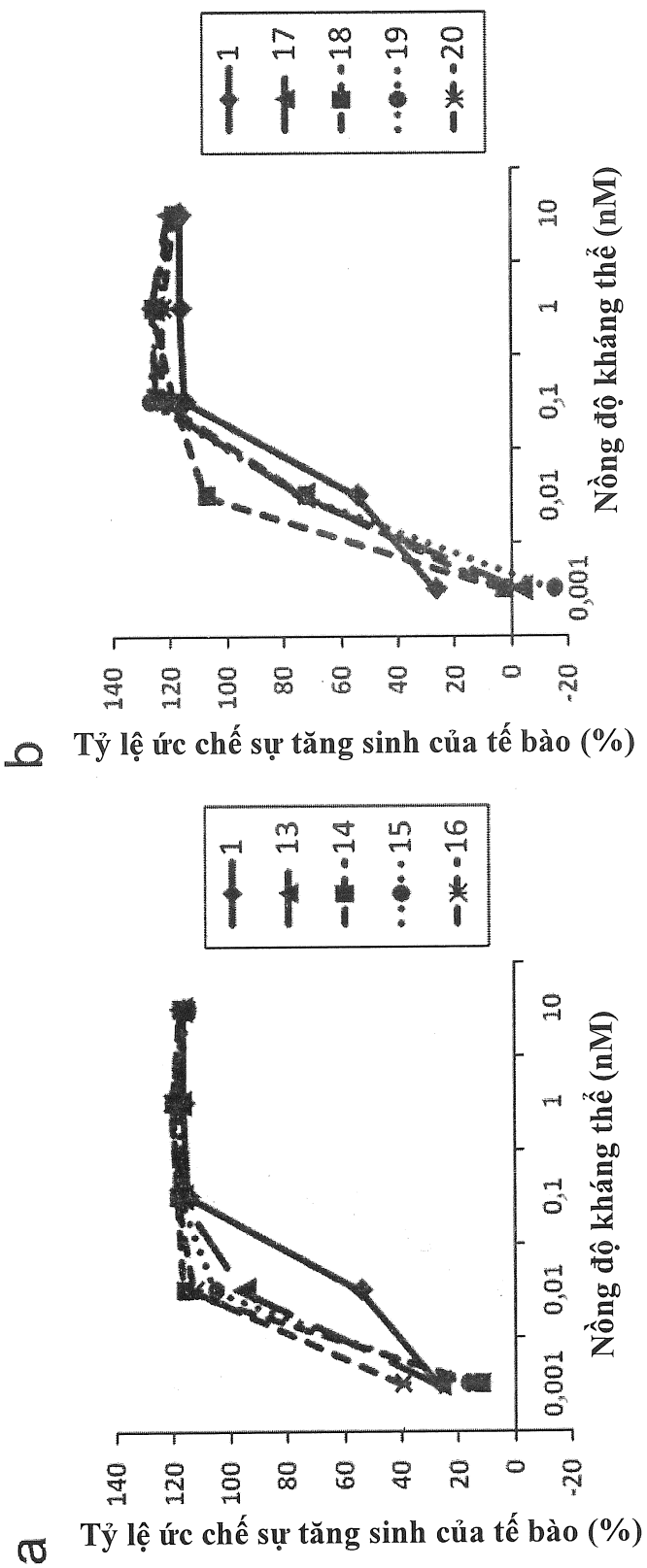

a
Tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
0,001
0,01
0,1
1
10
Nồng độ kháng thể (nM)
1
13
14
15
16
b
Tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
0,001
0,01
0,1
1
10
Nồng độ kháng thể (nM)
1
17
18
19
20

FIG. 16

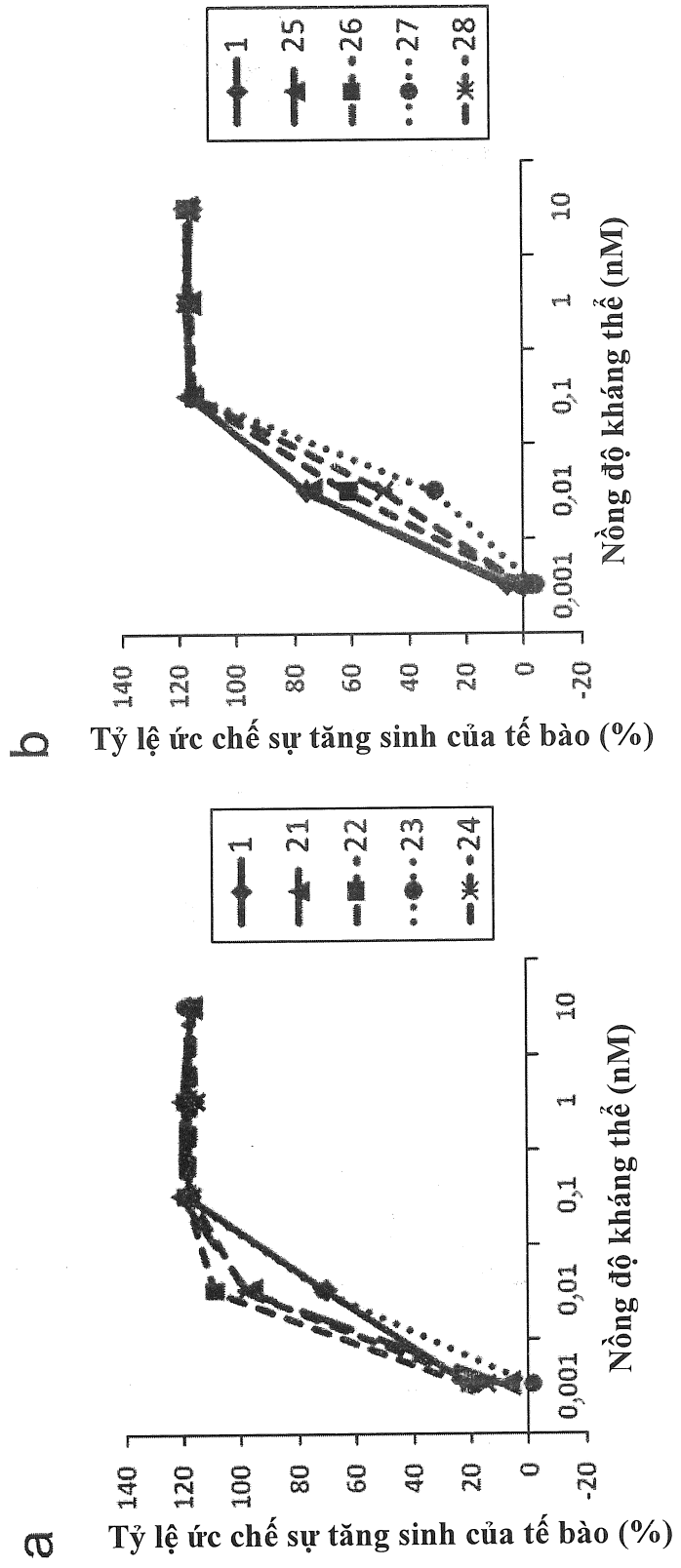

a
Tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
0,001
0,01
0,1
1
10
Nồng độ kháng thể (nM)
1
21
22
23
24
b
Tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
0,001
0,01
0,1
1
10
Nồng độ kháng thể (nM)
1
25
26
27
28

FIG. 17

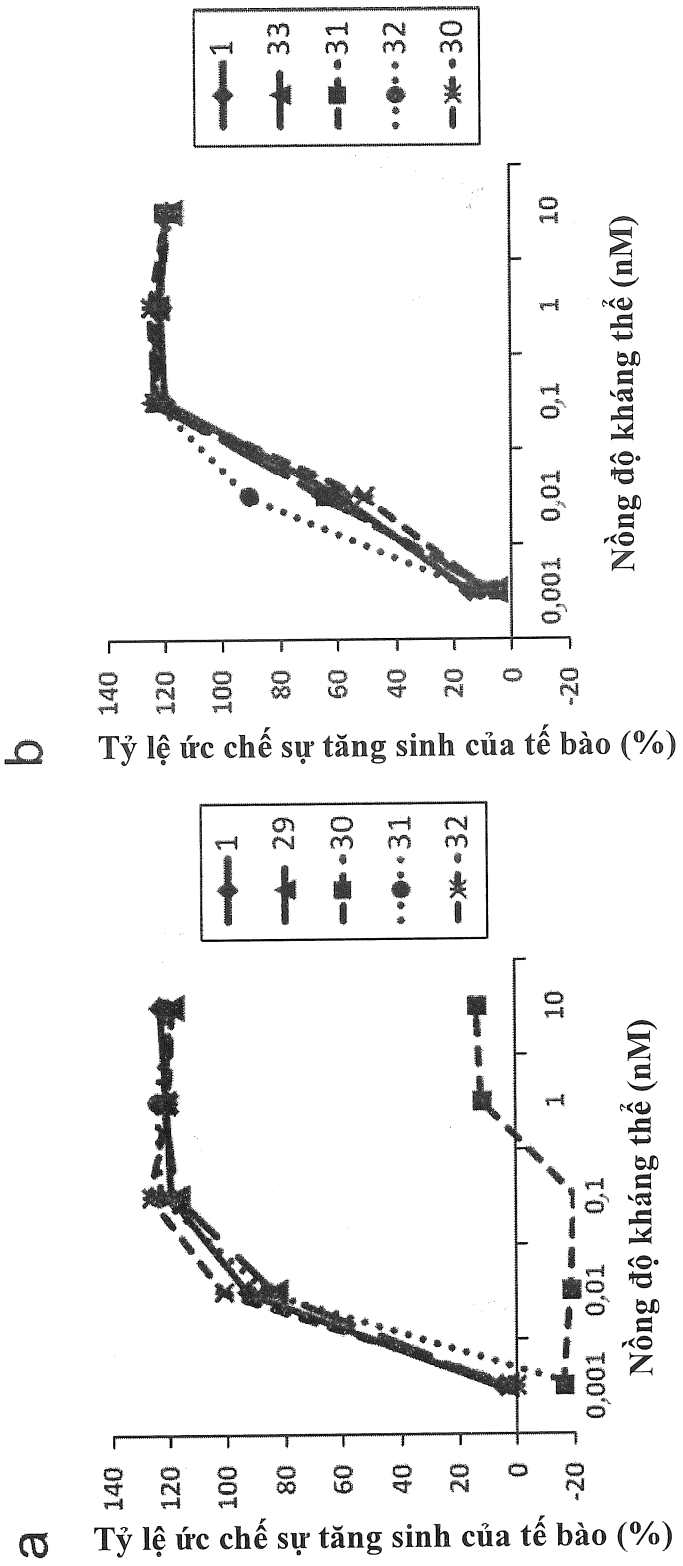

a
Tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
0,001
0,01
0,1
1
10
Nồng độ kháng thể (nM)
1
29
30
31
32
b
Tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
0,001
0,01
0,1
1
10
Nồng độ kháng thể (nM)
1
33
31
32
30

FIG. 18

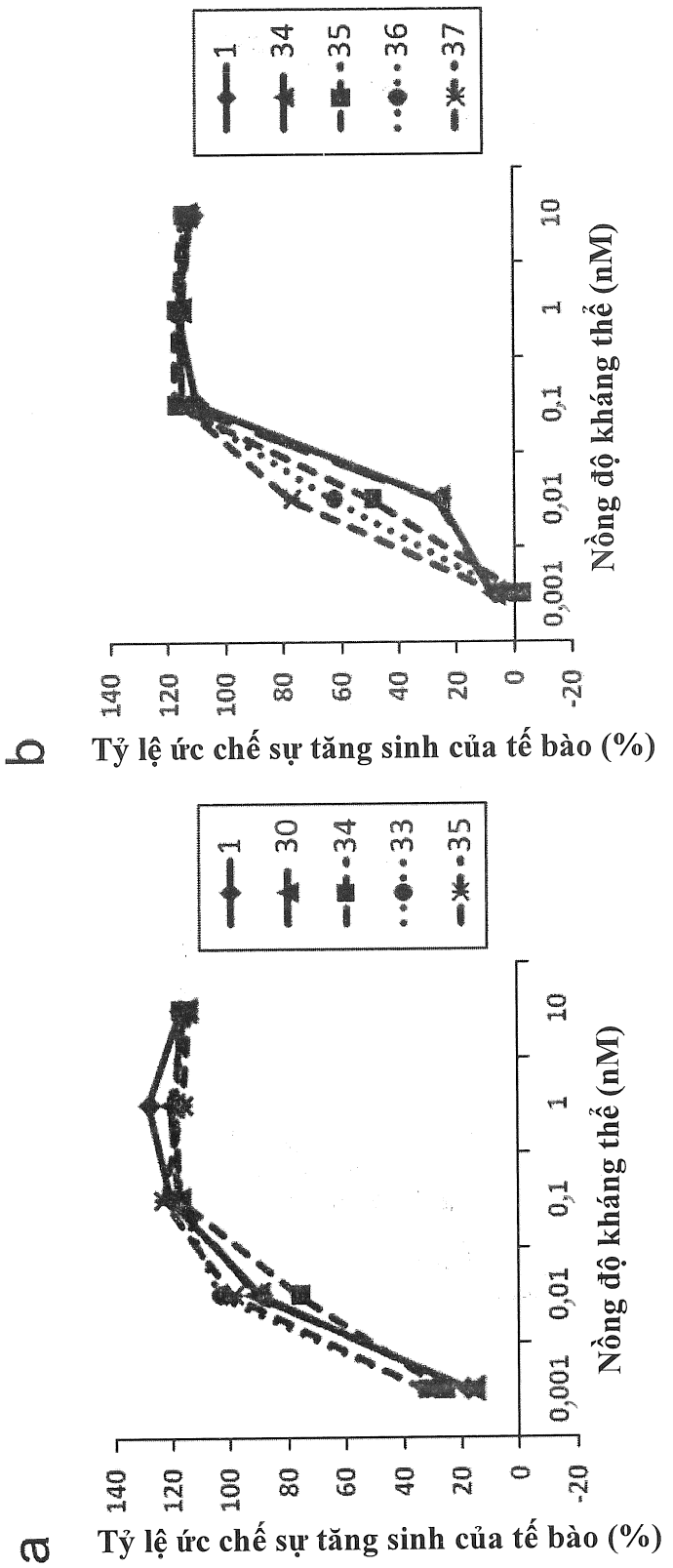

a
Tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
0,001
0,01
0,1
1
10
Nồng độ kháng thể (nM)
1
30
34
33
35
b
Tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
0,001
0,01
0,1
1
10
Nồng độ kháng thể (nM)
1
34
35
36
37

FIG. 19

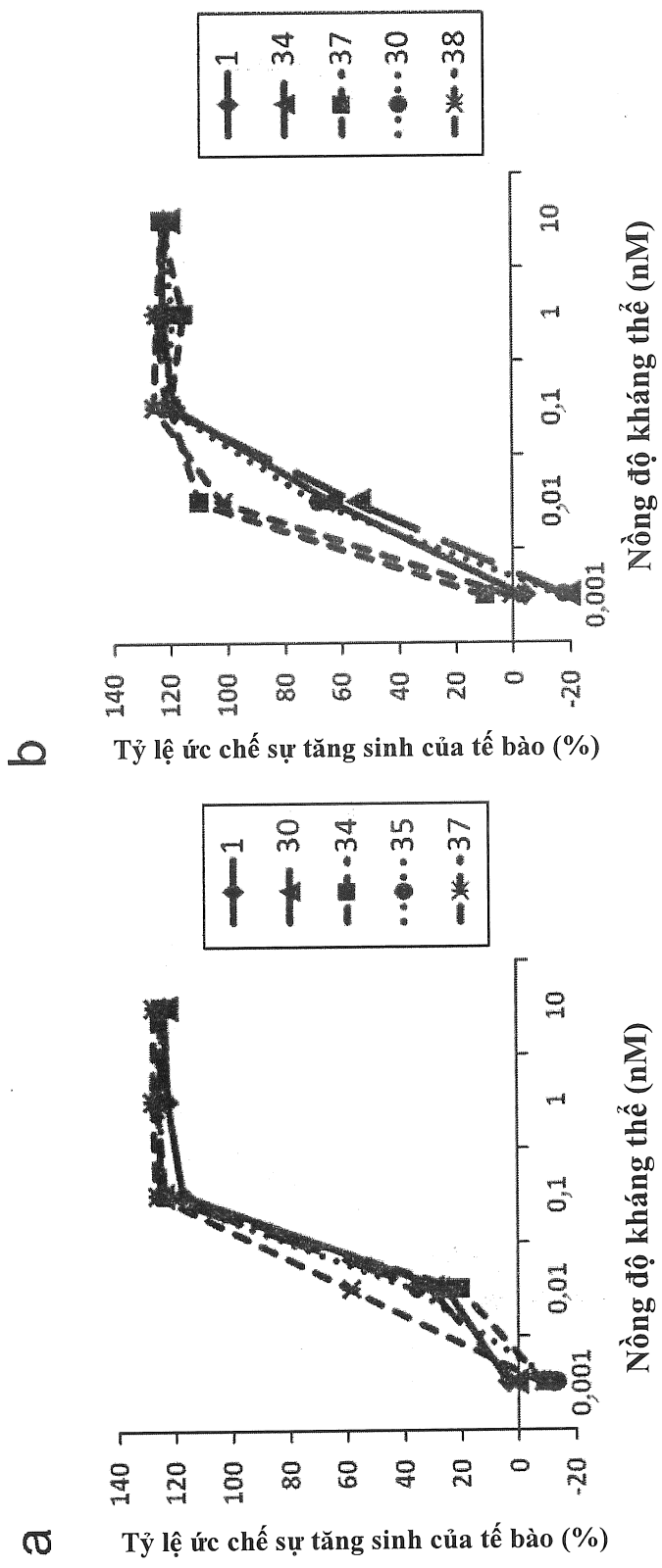

a
Tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
0,001
0,01
0,1
1
10
Nồng độ kháng thể (nM)
1
30
34
35
37
b
Tỷ lệ ức chế sự tăng sinh của tế bào (%)
140
120
100
80
60
40
20
0
-20
0,001
0,01
0,1
1
10
Nồng độ kháng thể (nM)
1
34
37
30
38

FIG. 20

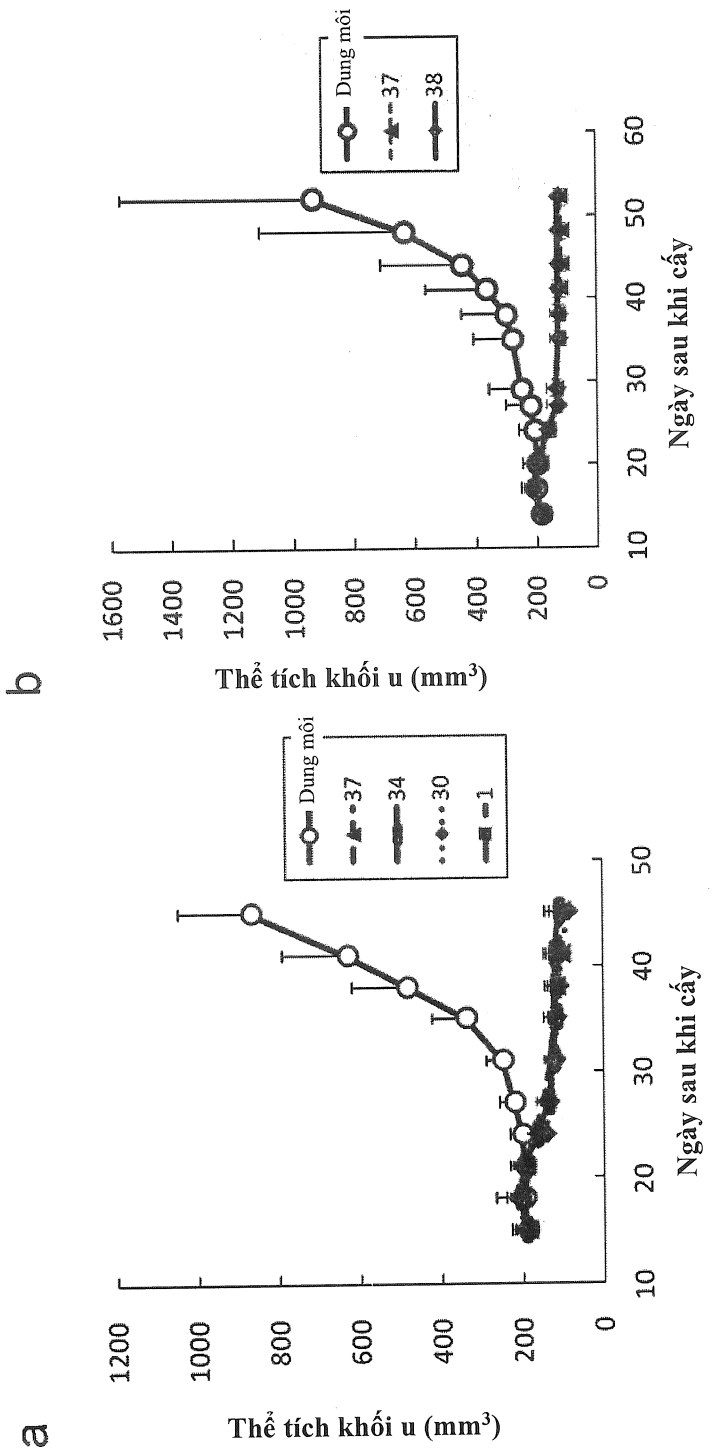

a
Thể tích khối u (mm3)
Ngày sau khi cấy
Dung môi
37
34
30
1
b
Thể tích khối u (mm3)
Ngày sau khi cấy
Dung môi
37
38

FIG. 21

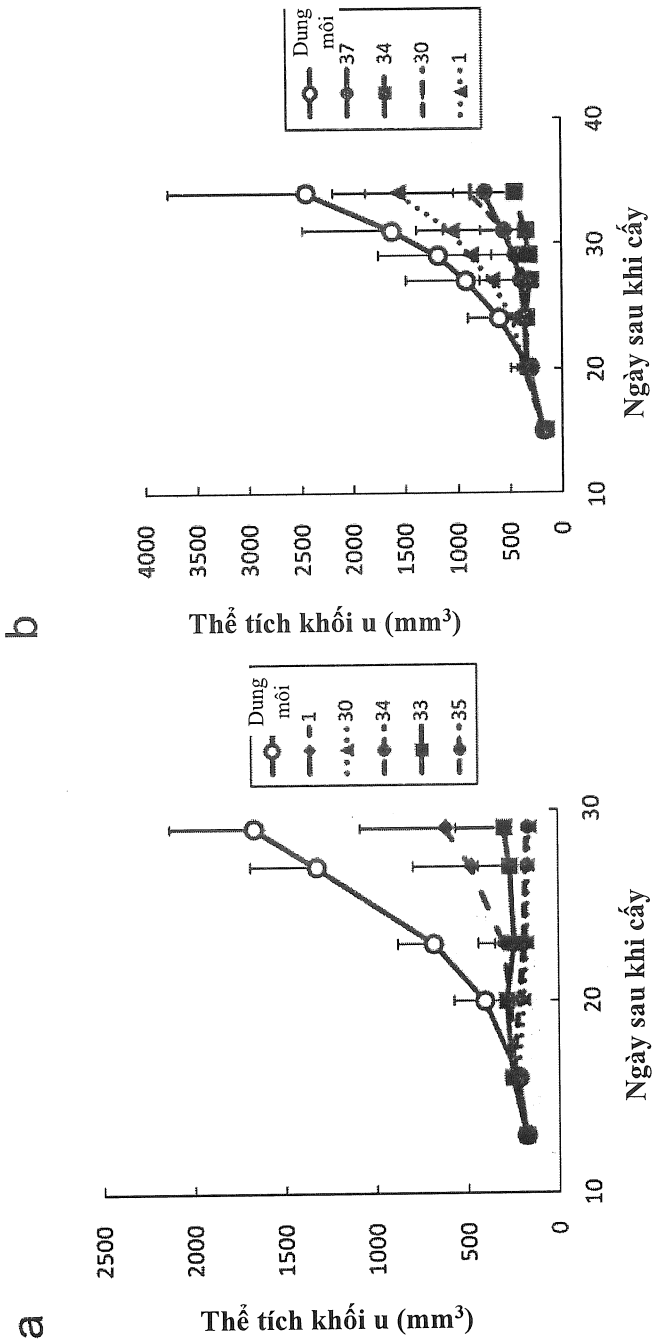

a
Thể tích khối u (mm3)
2500
2000
1500
1000
500
0
10
20
30
Ngày sau khi cấy
Dung môi
1
30
34
33
35
b
Thể tích khối u (mm3)
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
10
20
30
40
Ngày sau khi cấy
Dung môi
37
34
30
1

FIG. 22

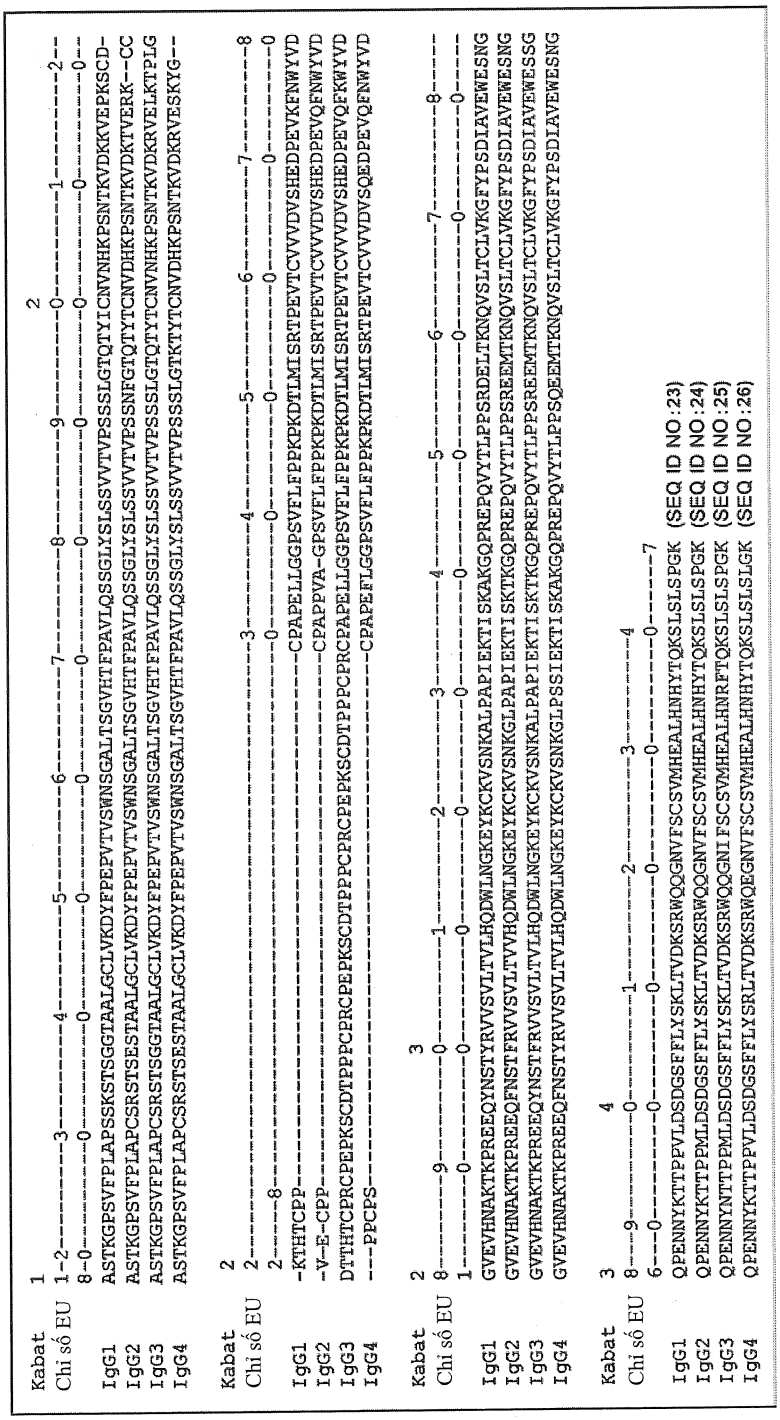

Kabat 1 2
Chỉ số EU 1-2---------3---------4---------5---------6---------7---------8---------9---------0---------1---------2--
8-0---------0---------0---------0---------0---------0---------0---------0---------0--
IgG1 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD-
IgG2 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERK--CC
IgG3 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRVELKTPLG
IgG4 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG--
Kabat 2
Chỉ số EU 2----------3---------4---------5---------6---------7---------8
2-----8---------0---------0---------0---------0---------0---------0
IgG1 -KTHTCPP----------CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
IgG2 -V-E-CPP----------CPAPPVA-GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD
IgG3 DTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVD
IgG4 ---PPCPS----------CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD
Kabat 2 3
Chỉ số EU 8---------9---------0---------1---------2---------3---------4---------5---------6---------7---------8---------
1---------0---------0---------0---------0---------0---------0---------0---------0---------0---------
IgG1 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
IgG2 GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
IgG3 GVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSG
IgG4 GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
Kabat 3 4
Chỉ số EU 8----9---------0---------1---------2---------3---------4
6---0---------0---------0---------0---------0---------7
IgG1 QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:23)
IgG2 QPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:24)
IgG3 QPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:25)
IgG4 QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO:26)

FIG. 23

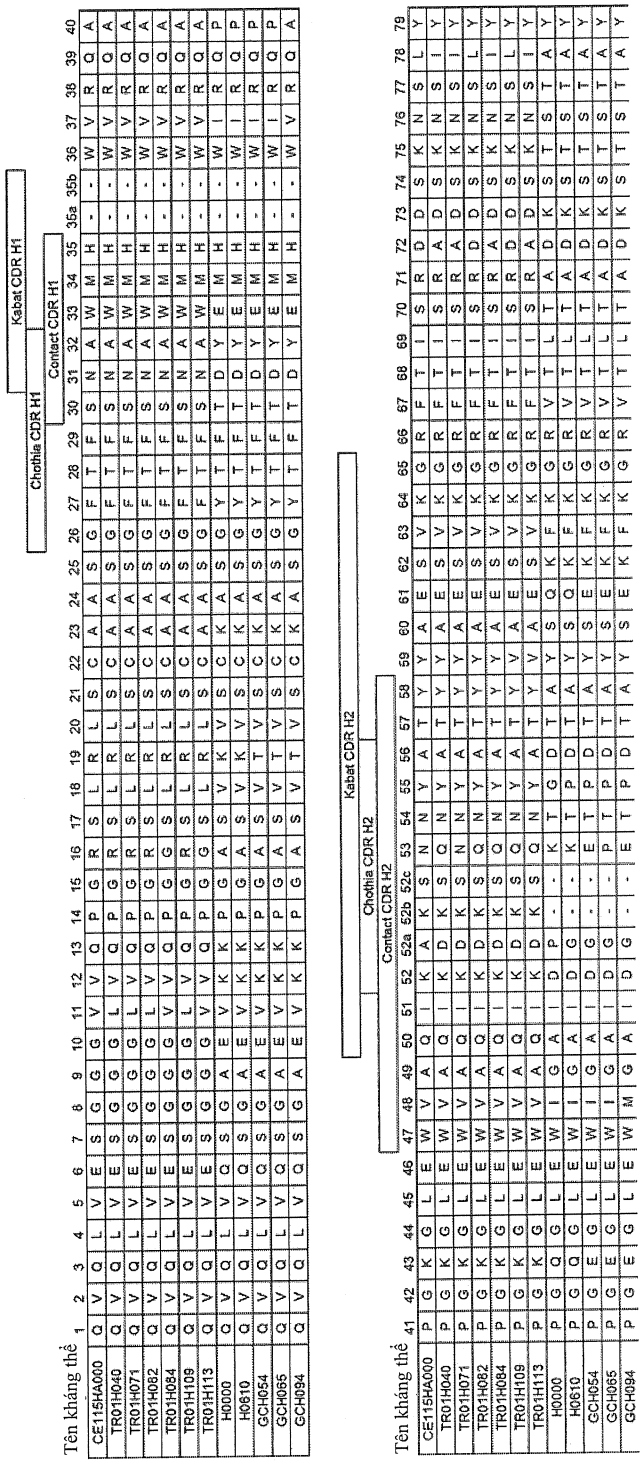

Kabat CDR H1
Chothia CDR H1
Contact CDR H1
Kabat CDR H2
Chothia CDR H2
Contact CDR H2
Tên kháng thể
CE115HA000
TR01H040
TR01H071
TR01H082
TR01H084
TR01H109
TR01H113
H0000
H0610
GCH054
GCH065
GCH094

FIG. 24-1

Tên kháng thể	80	81	82	82a	82b	82c	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	89	100	100a	100b	100c	100d	100a	100f	100g	100h	100i	100j	100k	101	102	103	104	105	106	107
CE115HA000	L	Q	M	N	S	L	K	T	E	D	T	A	V	Y	Y	C	R	Y	V	H	Y	G	A	Y	Y	G	V	-	-	-	-	-	-	-	-	D	A	W	G	Q	G	T
TR01H040	L	Q	M	N	S	L	K	T	E	D	T	A	V	Y	Y	C	R	Y	V	H	Y	S	A	S	Y	G	V	-	-	-	-	-	-	-	-	D	A	W	G	Q	G	T
TR01H071	L	Q	M	N	S	L	K	T	E	D	T	A	V	Y	Y	C	R	Y	V	H	Y	A	A	S	Y	G	V	-	-	-	-	-	-	-	-	D	I	W	G	Q	G	T
TR01H082	L	Q	M	N	S	L	K	T	E	D	T	A	V	Y	Y	C	R	Y	V	H	Y	A	A	G	Y	G	V	-	-	-	-	-	-	-	-	D	A	W	G	Q	G	T
TR01H084	L	Q	M	N	S	L	K	T	E	D	T	A	V	Y	Y	C	R	Y	V	H	Y	A	A	G	Y	G	V	-	-	-	-	-	-	-	-	D	I	W	G	Q	G	T
TR01H109	L	Q	M	N	S	L	K	T	E	D	T	A	V	Y	Y	C	R	Y	V	H	Y	A	A	G	Y	G	V	-	-	-	-	-	-	-	-	D	A	W	G	Q	G	T
TR01H113	L	Q	M	N	S	L	K	T	E	D	T	A	V	Y	Y	C	R	Y	V	H	Y	A	A	G	Y	G	V	-	-	-	-	-	-	-	-	D	I	W	G	Q	G	T
H0000	M	E	L	S	S	L	T	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	F	Y	S	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	Y	W	G	Q	G	T
H0610	M	E	L	S	S	L	T	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	F	Y	S	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	Y	W	G	Q	G	T
GCH054	M	E	L	S	S	L	T	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	F	Y	S	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	Y	W	G	Q	G	T
GCH065	M	E	L	S	S	L	T	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	F	Y	S	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	Y	W	G	Q	G	T
GCH094	M	E	L	S	S	L	T	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	T	R	F	Y	S	Y	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	Y	W	G	Q	G	T

Tên kháng thể	108	109	110	111	112	113
CE115HA000	T	V	T	V	S	S
TR01H040	T	V	T	V	S	S
TR01H071	T	V	T	V	S	S
TR01H082	T	V	T	V	S	S
TR01H084	T	V	T	V	S	S
TR01H109	T	V	T	V	S	S
TR01H113	T	V	T	V	S	S
H0000	L	V	T	V	S	S
H0610	L	V	T	V	S	S
GCH054	L	V	T	V	S	S
GCH065	L	V	T	V	S	S
GCH094	L	V	T	V	S	S

FIG. 24-2

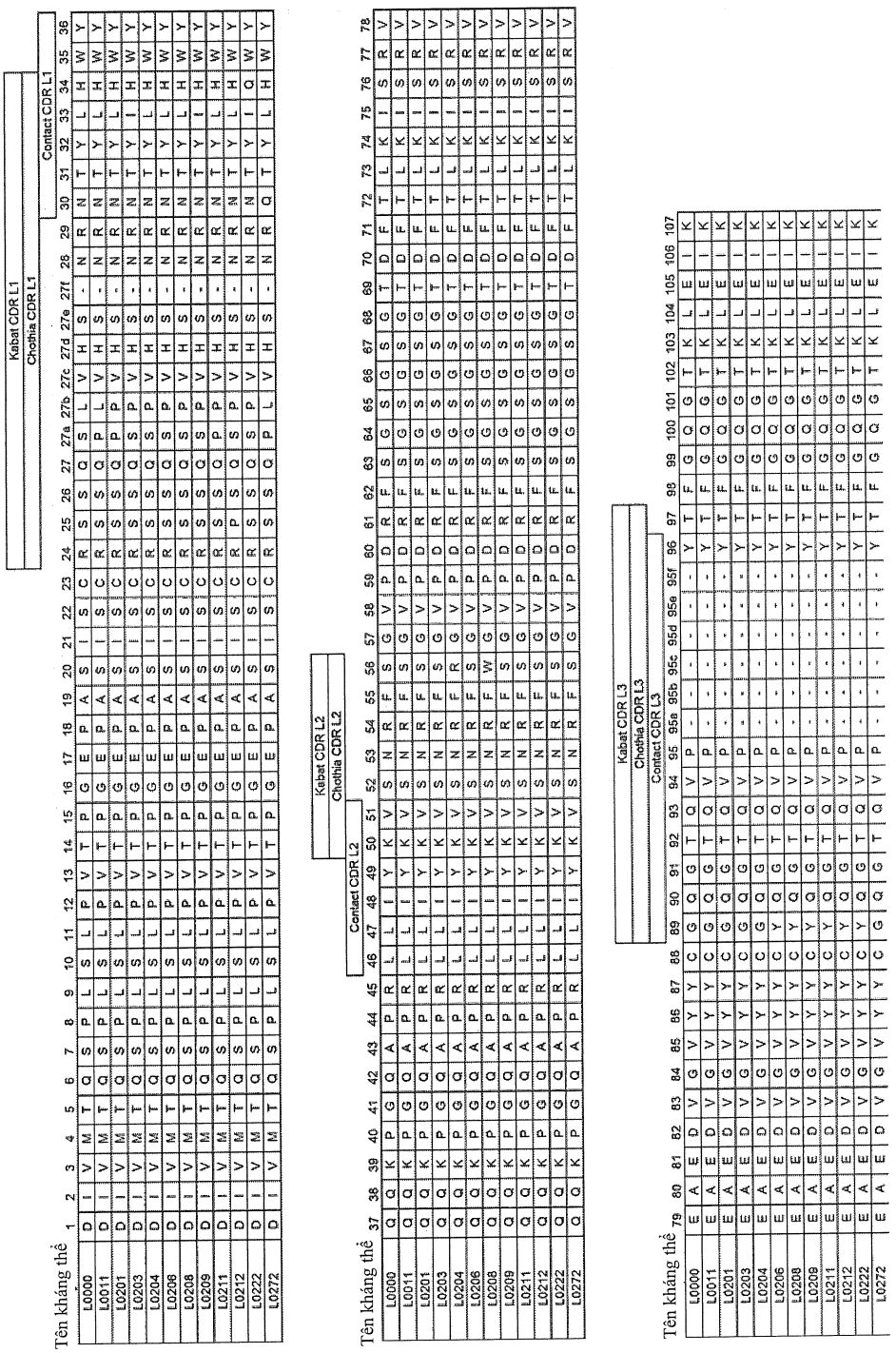

Kabat CDR L1
Chothia CDR L1
Contact CDR L1
Kabat CDR L2
Chothia CDR L2
Contact CDR L2
Kabat CDR L3
Chothia CDR L3
Contact CDR L3
Tên kháng thể

FIG. 25

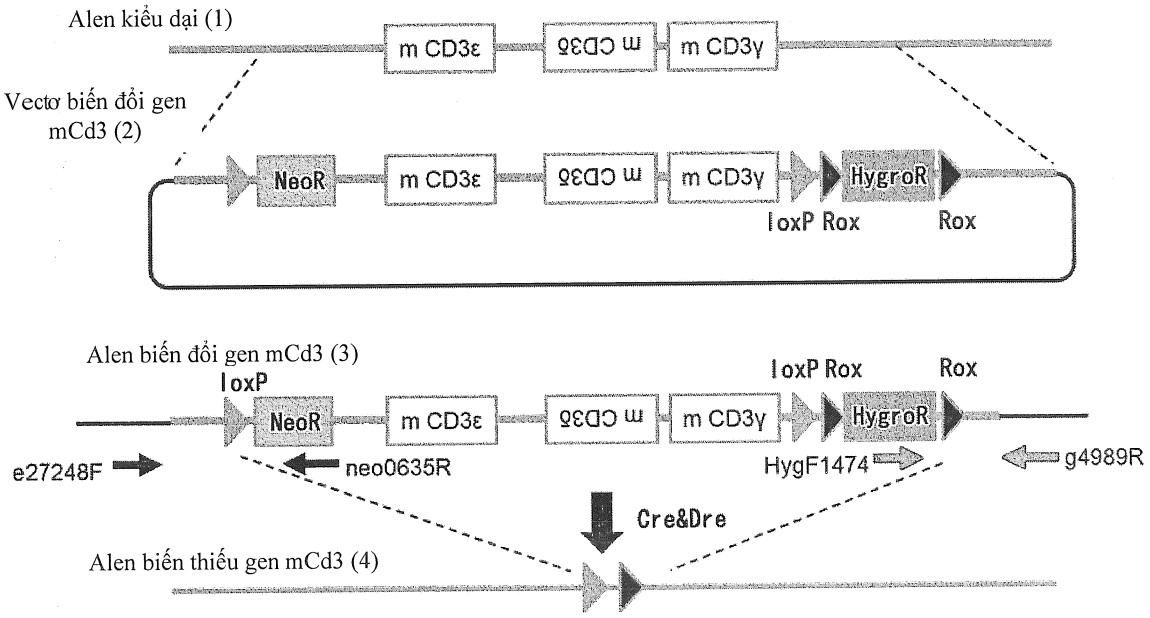

Alen kiểu dại (1)
m CD3ε
m CD3δ
m CD3γ
Vectơ biến đổi gen mCd3 (2)
NeoR
m CD3ε
m CD3δ
m CD3γ
HygroR
loxP Rox
Rox
Alen biến đổi gen mCd3 (3)
loxP
loxP Rox
Rox
NeoR
m CD3ε
m CD3δ
m CD3γ
HygroR
e27248F
neo0635R
HygF1474
g4989R
Cre&Dre
Alen biến thiếu gen mCd3 (4)

FIG. 26A

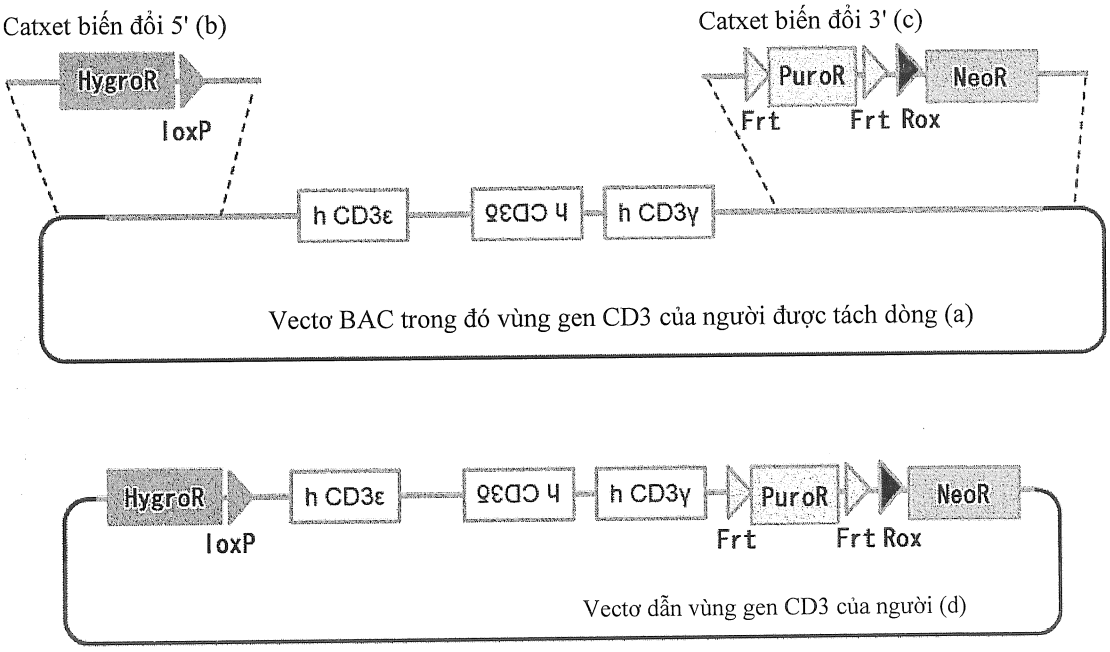

Catxet biến đổi 5' (b)
HygroR
loxP
Catxet biến đổi 3' (c)
PuroR
NeoR
Frt
Frt Rox
h CD3ε
h CD3δ
h CD3γ
Vectơ BAC trong đó vùng gen CD3 của người được tách dòng (a)
HygroR
loxP
h CD3ε
h CD3δ
h CD3γ
PuroR
NeoR
Frt
Frt Rox
Vectơ dẫn vùng gen CD3 của người (d)

FIG. 26B

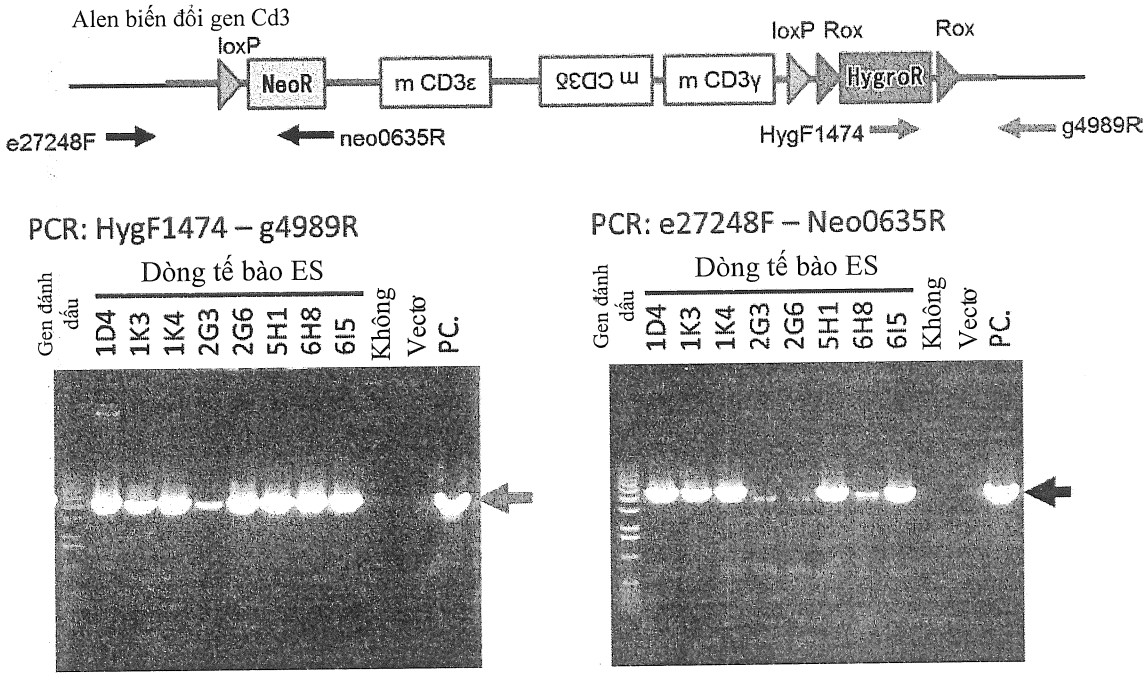

Alen biến đổi gen Cd3
loxP
NeoR
m CD3ε
m CD3δ
m CD3γ
loxP Rox
Rox
HygroR
e27248F
neo0635R
HygF1474
g4989R
PCR: HygF1474 – g4989R
Dòng tế bào ES
Gen đánh dấu
1D4
1K3
1K4
2G3
2G6
5H1
6H8
6I5
Không
Vecto
PC.
PCR: e27248F – Neo0635R
Dòng tế bào ES
Gen đánh dấu
1D4
1K3
1K4
2G3
2G6
5H1
6H8
6I5
Không
Vecto
PC.

FIG. 27

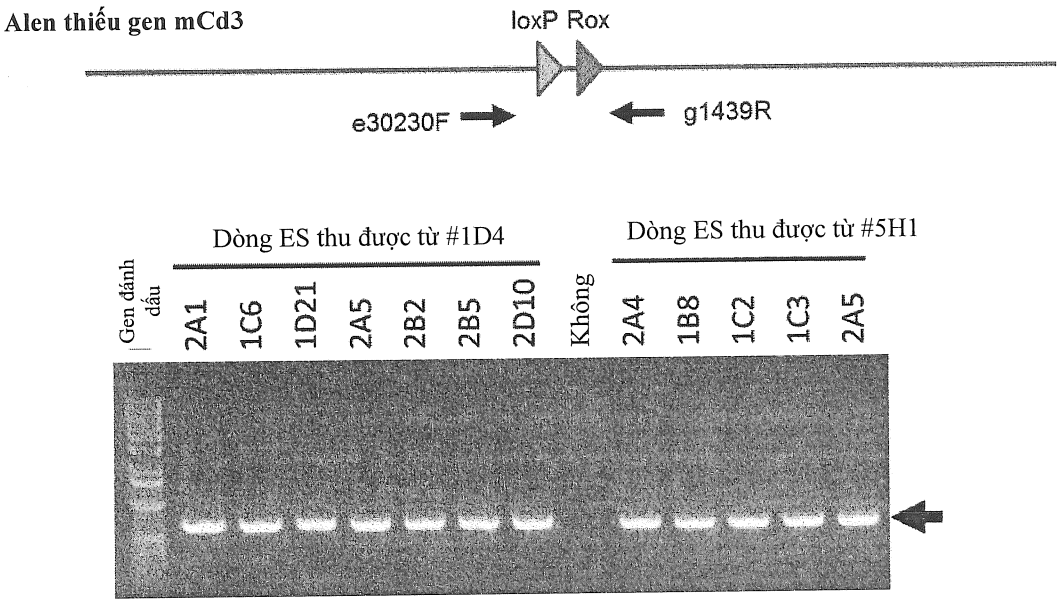

Alen thiếu gen mCd3
loxP Rox
e30230F
g1439R
Dòng ES thu được từ #1D4
Dòng ES thu được từ #5H1
Gen đánh dấu
2A1
1C6
1D21
2A5
2B2
2B5
2D10
Không
2A4
1B8
1C2
1C3
2A5

FIG. 28A

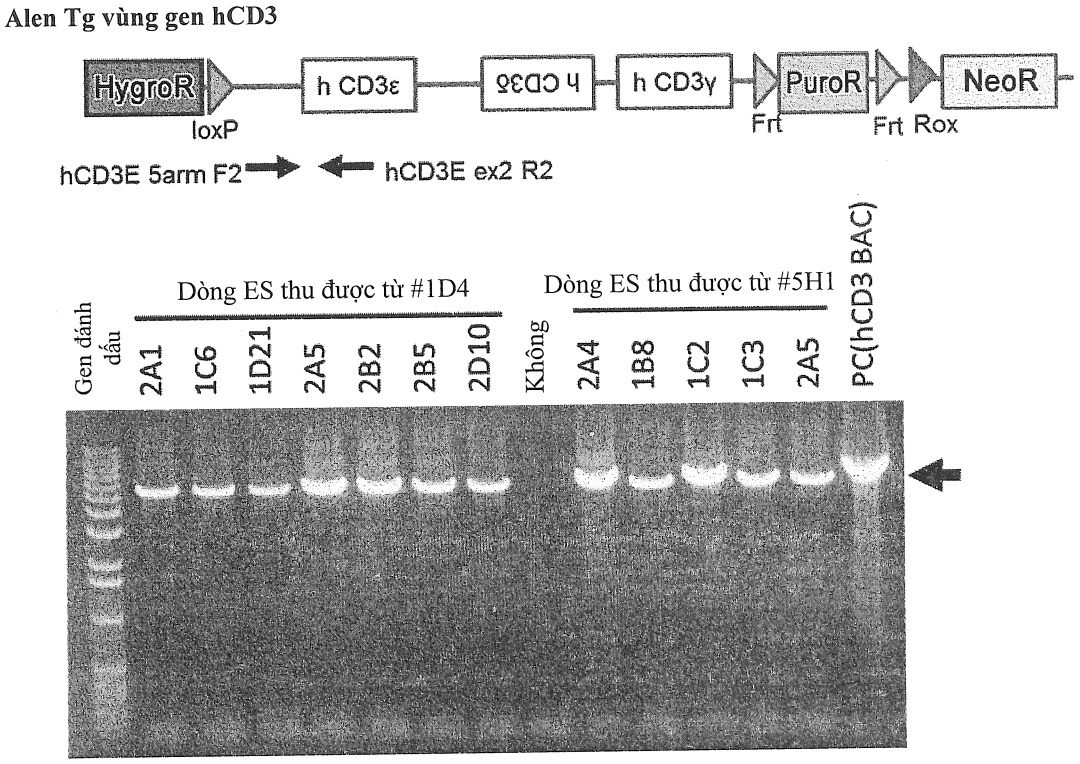

Alen Tg vùng gen hCD3
HygroR
loxP
h CD3ε
h CD3γ
PuroR
Frt
Frt
Rox
NeoR
hCD3E 5arm F2
hCD3E ex2 R2
Dòng ES thu được từ #1D4
Dòng ES thu được từ #5H1
Gen đánh dấu
2A1
1C6
1D21
2A5
2B2
2B5
2D10
Không
2A4
1B8
1C2
1C3
2A5
PC(hCD3 BAC)

FIG. 28B

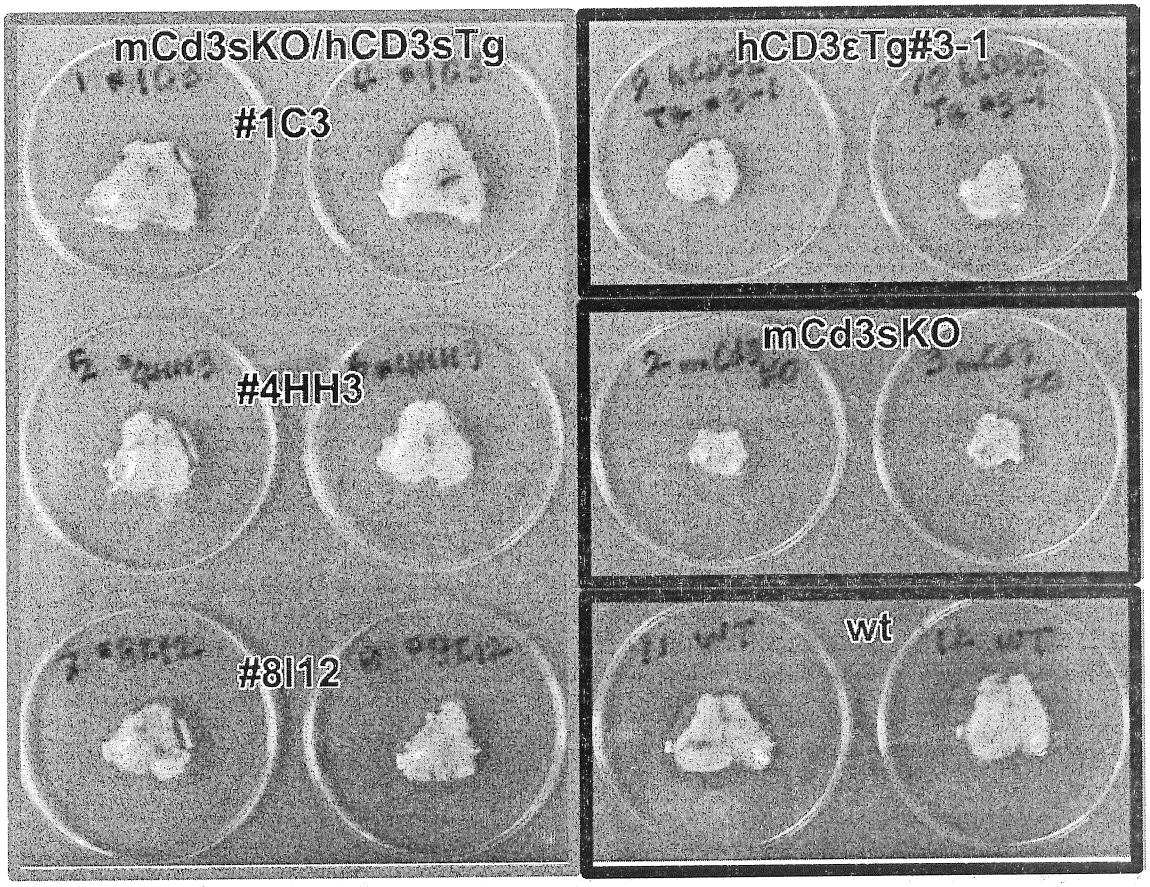


FIG. 29

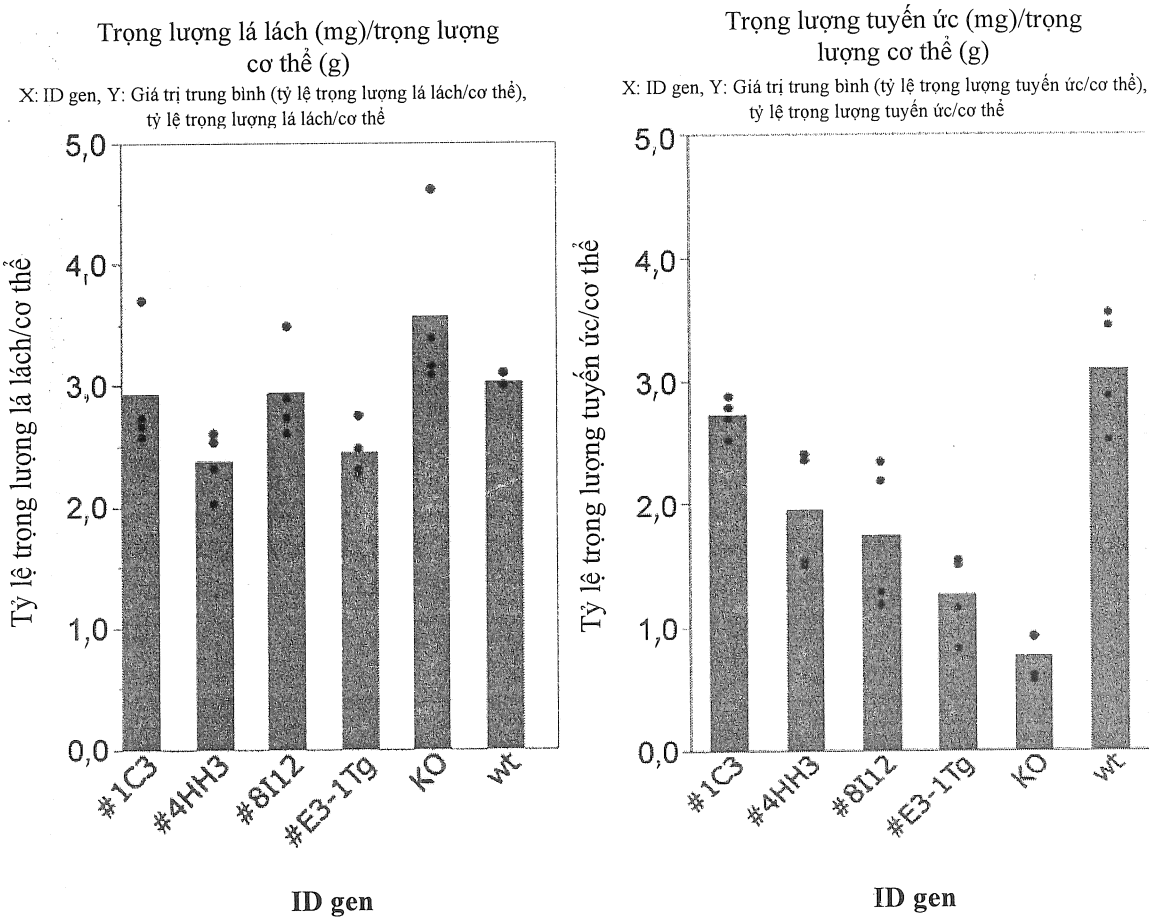

Trọng lượng lá lách (mg)/trọng lượng cơ thể (g)
X: ID gen, Y: Giá trị trung bình (tỷ lệ trọng lượng lá lách/cơ thể), tỷ lệ trọng lượng lá lách/cơ thể
Tỷ lệ trọng lượng lá lách/cơ thể
5,0
4,0
3,0
2,0
1,0
0,0
#1C3
#4HH3
#8I12
#E3-1Tg
KO
wt
ID gen
Trọng lượng tuyến ức (mg)/trọng lượng cơ thể (g)
X: ID gen, Y: Giá trị trung bình (tỷ lệ trọng lượng tuyến ức/cơ thể), tỷ lệ trọng lượng tuyến ức/cơ thể
Tỷ lệ trọng lượng tuyến ức/cơ thể
5,0
4,0
3,0
2,0
1,0
0,0
#1C3
#4HH3
#8I12
#E3-1Tg
KO
wt
ID gen

FIG. 30

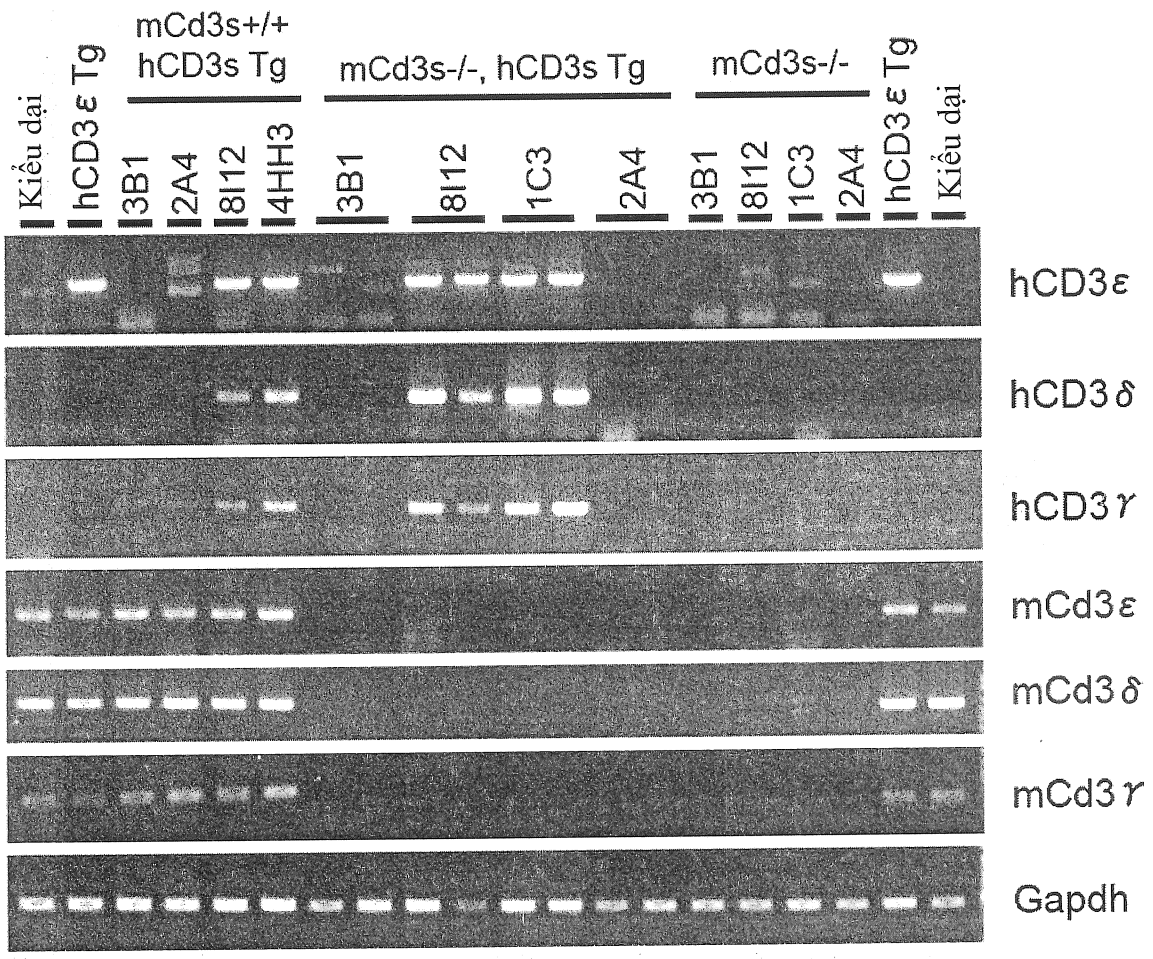

Kiểu dại
hCD3ε Tg
mCd3s+/+ hCD3s Tg
3B1
2A4
8I12
4HH3
mCd3s-/-, hCD3s Tg
3B1
8I12
1C3
2A4
mCd3s-/-
3B1
8I12
1C3
2A4
hCD3ε Tg
Kiểu dại
hCD3ε
hCD3δ
hCD3γ
mCd3ε
mCd3δ
mCd3γ
Gapdh

FIG. 31

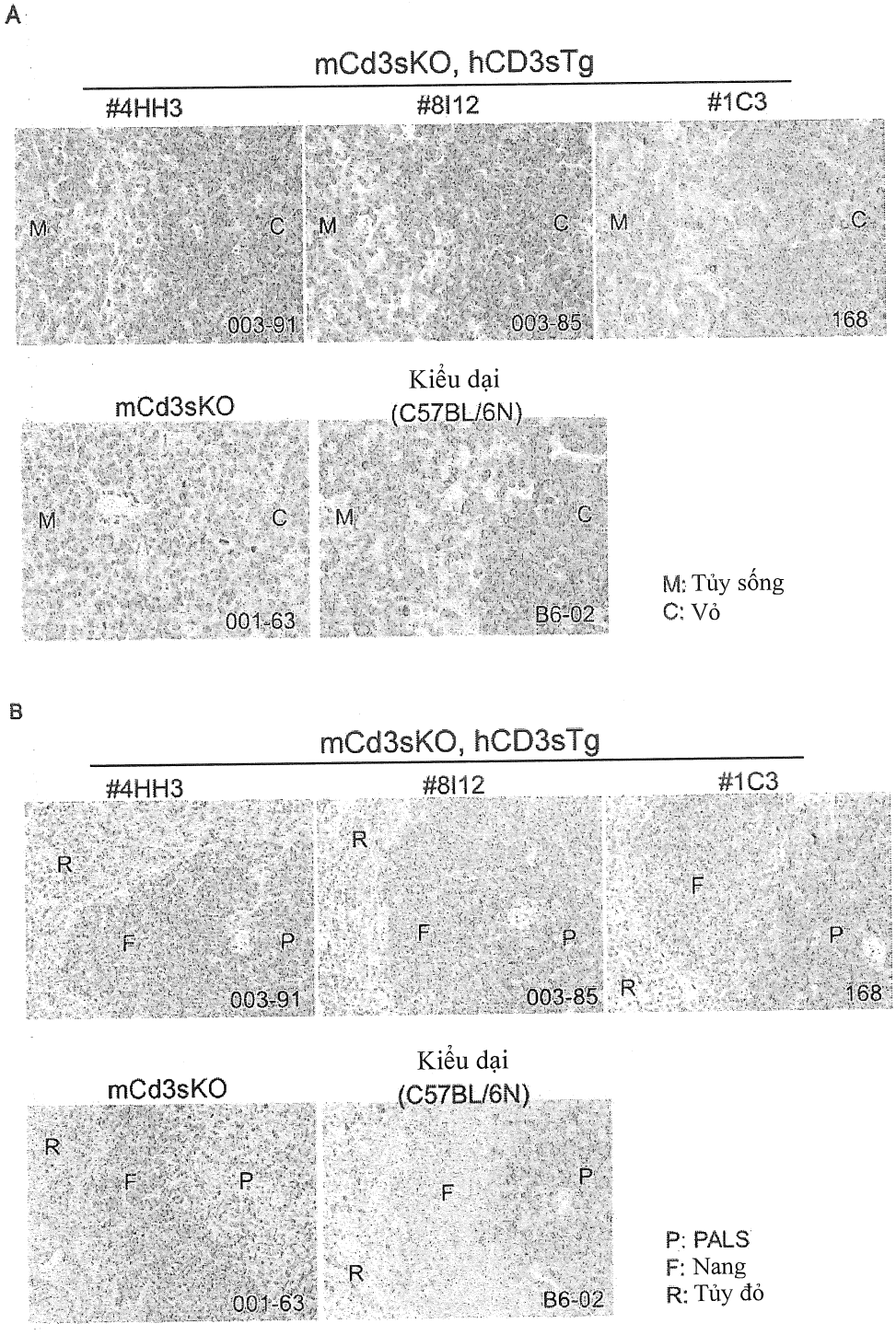

A
mCd3sKO, hCD3sTg
#4HH3
#8I12
#1C3
M
C
003-91
003-85
168
mCd3sKO
Kiểu dại
(C57BL/6N)
001-63
B6-02
M: Tủy sống
C: Vỏ
B
mCd3sKO, hCD3sTg
#4HH3
#8I12
#1C3
R
F
P
003-91
003-85
168
mCd3sKO
Kiểu dại
(C57BL/6N)
001-63
B6-02
P: PALS
F: Nang
R: Tủy đỏ

FIG. 32

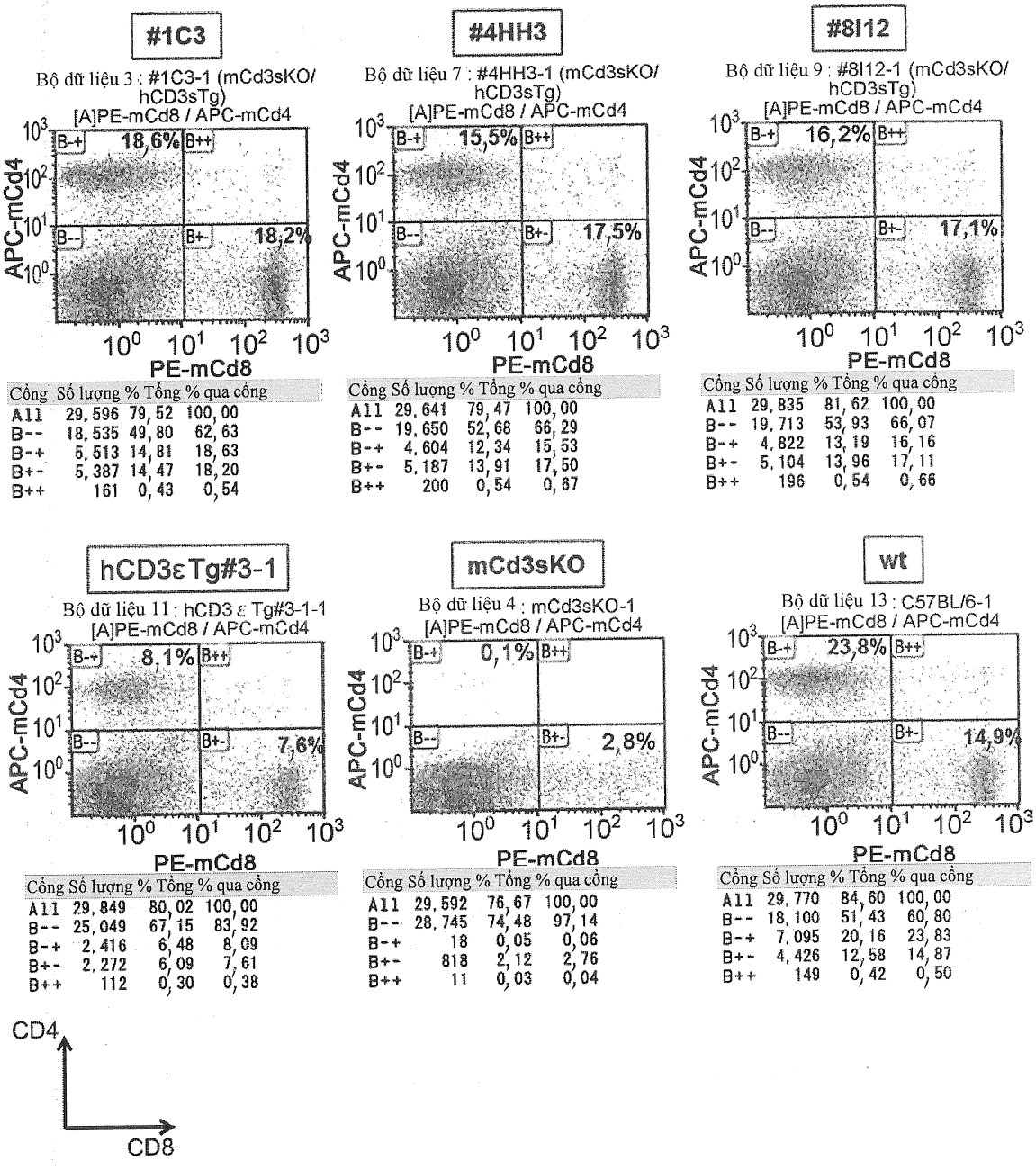

#1C3
Bộ dữ liệu 3 : #1C3-1 (mCd3sKO/ hCD3sTg)
[A]PE-mCd8 / APC-mCd4
B-+ 18,6%
B++
B-- B+- 18,2%
APC-mCd4
PE-mCd8
Cổng Số lượng % Tổng % qua cổng
All 29,596 79,52 100,00
B-- 18,535 49,80 62,63
B-+ 5,513 14,81 18,63
B+- 5,387 14,47 18,20
B++ 161 0,43 0,54
#4HH3
Bộ dữ liệu 7 : #4HH3-1 (mCd3sKO/ hCD3sTg)
[A]PE-mCd8 / APC-mCd4
B-+ 15,5%
B++
B-- B+- 17,5%
APC-mCd4
PE-mCd8
Cổng Số lượng % Tổng % qua cổng
All 29,641 79,47 100,00
B-- 19,650 52,68 66,29
B-+ 4,604 12,34 15,53
B+- 5,187 13,91 17,50
B++ 200 0,54 0,67
#8I12
Bộ dữ liệu 9 : #8I12-1 (mCd3sKO/ hCD3sTg)
[A]PE-mCd8 / APC-mCd4
B-+ 16,2%
B++
B-- B+- 17,1%
APC-mCd4
PE-mCd8
Cổng Số lượng % Tổng % qua cổng
All 29,835 81,62 100,00
B-- 19,713 53,93 66,07
B-+ 4,822 13,19 16,16
B+- 5,104 13,96 17,11
B++ 196 0,54 0,66
hCD3εTg#3-1
Bộ dữ liệu 11 : hCD3 ε Tg#3-1-1
[A]PE-mCd8 / APC-mCd4
B-+ 8,1%
B++
B-- B+- 7,6%
APC-mCd4
PE-mCd8
Cổng Số lượng % Tổng % qua cổng
All 29,849 80,02 100,00
B-- 25,049 67,15 83,92
B-+ 2,416 6,48 8,09
B+- 2,272 6,09 7,61
B++ 112 0,30 0,38
mCd3sKO
Bộ dữ liệu 4 : mCd3sKO-1
[A]PE-mCd8 / APC-mCd4
B-+ 0,1%
B++
B-- B+- 2,8%
APC-mCd4
PE-mCd8
Cổng Số lượng % Tổng % qua cổng
All 29,592 76,67 100,00
B-- 28,745 74,48 97,14
B-+ 18 0,05 0,06
B+- 818 2,12 2,76
B++ 11 0,03 0,04
wt
Bộ dữ liệu 13 : C57BL/6-1
[A]PE-mCd8 / APC-mCd4
B-+ 23,8%
B++
B-- B+- 14,9%
APC-mCd4
PE-mCd8
Cổng Số lượng % Tổng % qua cổng
All 29,770 84,60 100,00
B-- 18,100 51,43 60,80
B-+ 7,095 20,16 23,83
B+- 4,426 12,58 14,87
B++ 149 0,42 0,50
CD4
CD8

FIG. 33

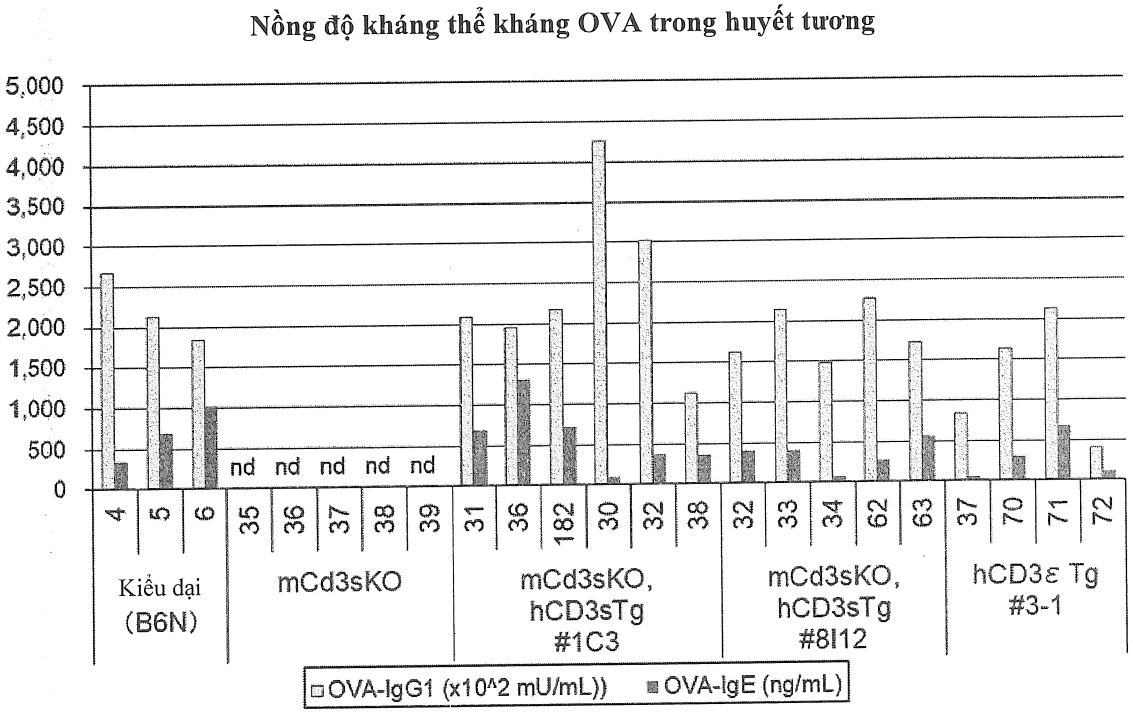

Nồng độ kháng thể kháng OVA trong huyết tương
5,000
4,500
4,000
3,500
3,000
2,500
2,000
1,500
1,000
500
0
nd nd nd nd nd
4 5 6 35 36 37 38 39 31 36 182 30 32 38 32 33 34 62 63 37 70 71 72
Kiểu dại (B6N)
mCd3sKO
mCd3sKO, hCD3sTg #1C3
mCd3sKO, hCD3sTg #8I12
hCD3ε Tg #3-1
OVA-IgG1 (x10^2 mU/mL))
OVA-IgE (ng/mL)

FIG. 34

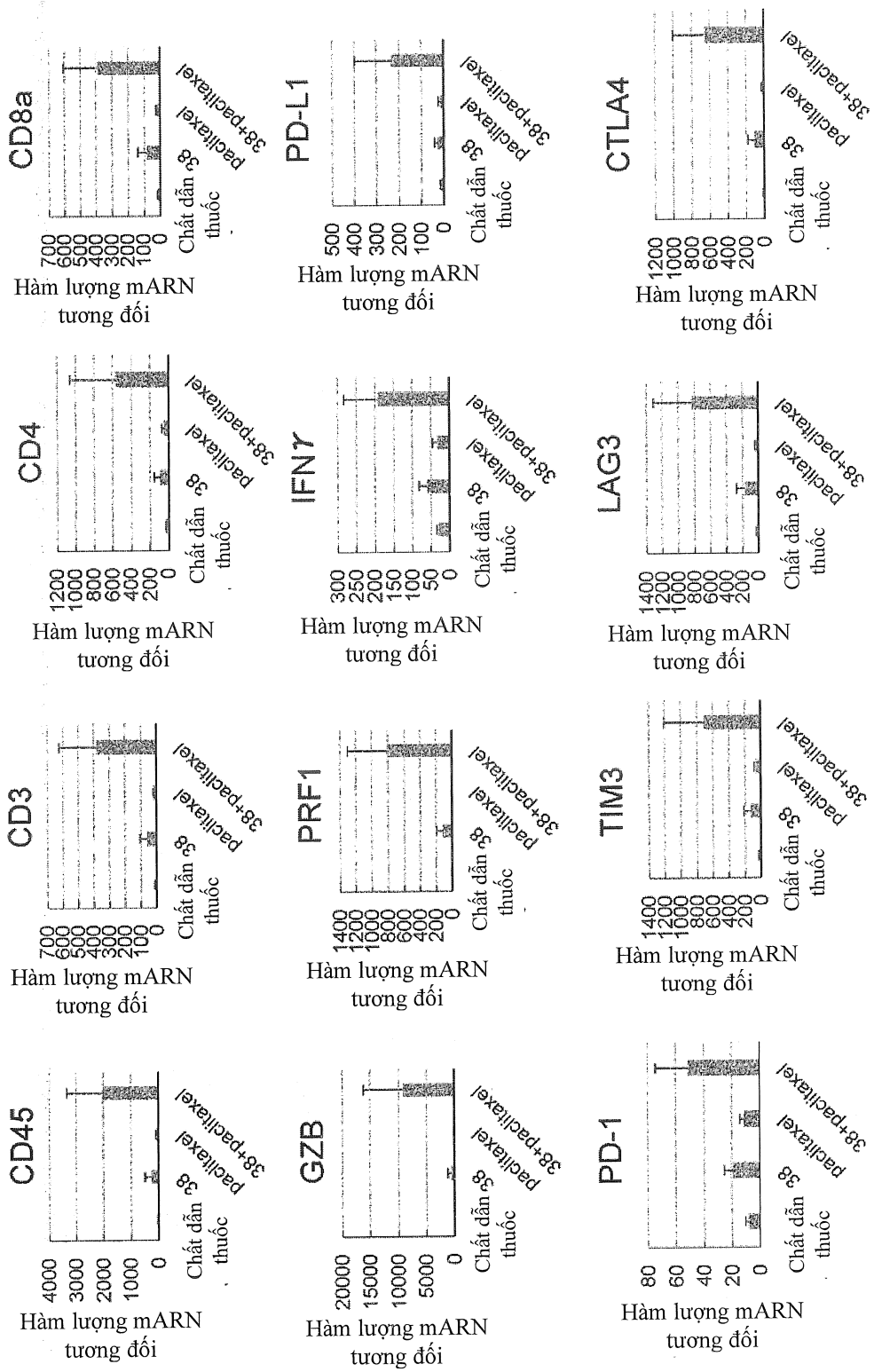

CD8a
PD-L1
CTLA4
CD4
IFNγ
LAG3
CD3
PRF1
TIM3
CD45
GZB
PD-1
Hàm lượng mARN tương đối
Chất dẫn thuốc
38
Paclitaxel
38+Paclitaxel

FIG. 35-1

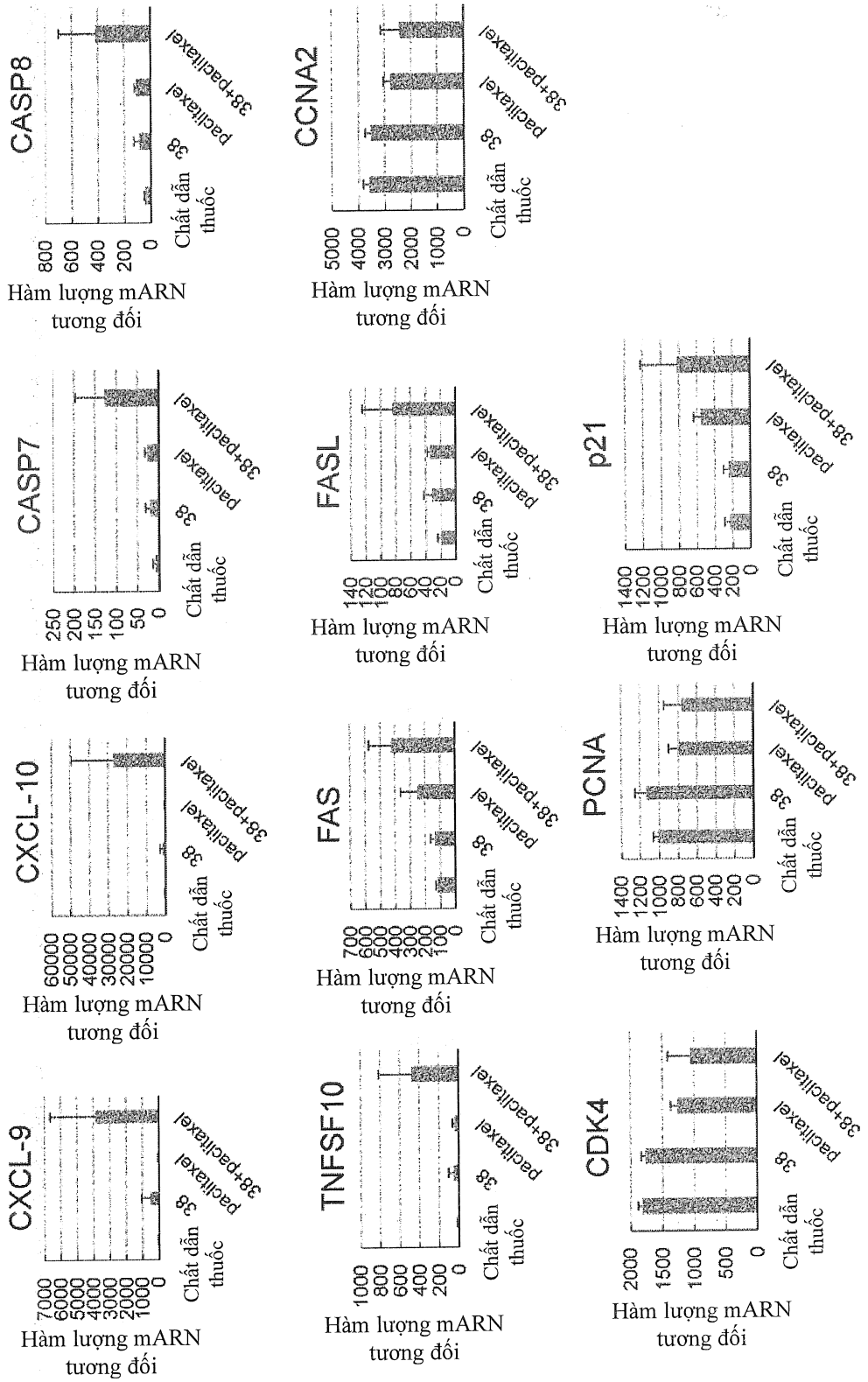

CASP8
CCNA2
CASP7
FASL
p21
CXCL-10
FAS
PCNA
CXCL-9
TNFSF10
CDK4
Hàm lượng mARN tương đối
Chất dẫn thuốc
38
paclitaxel
38+paclitaxel

FIG. 35-2

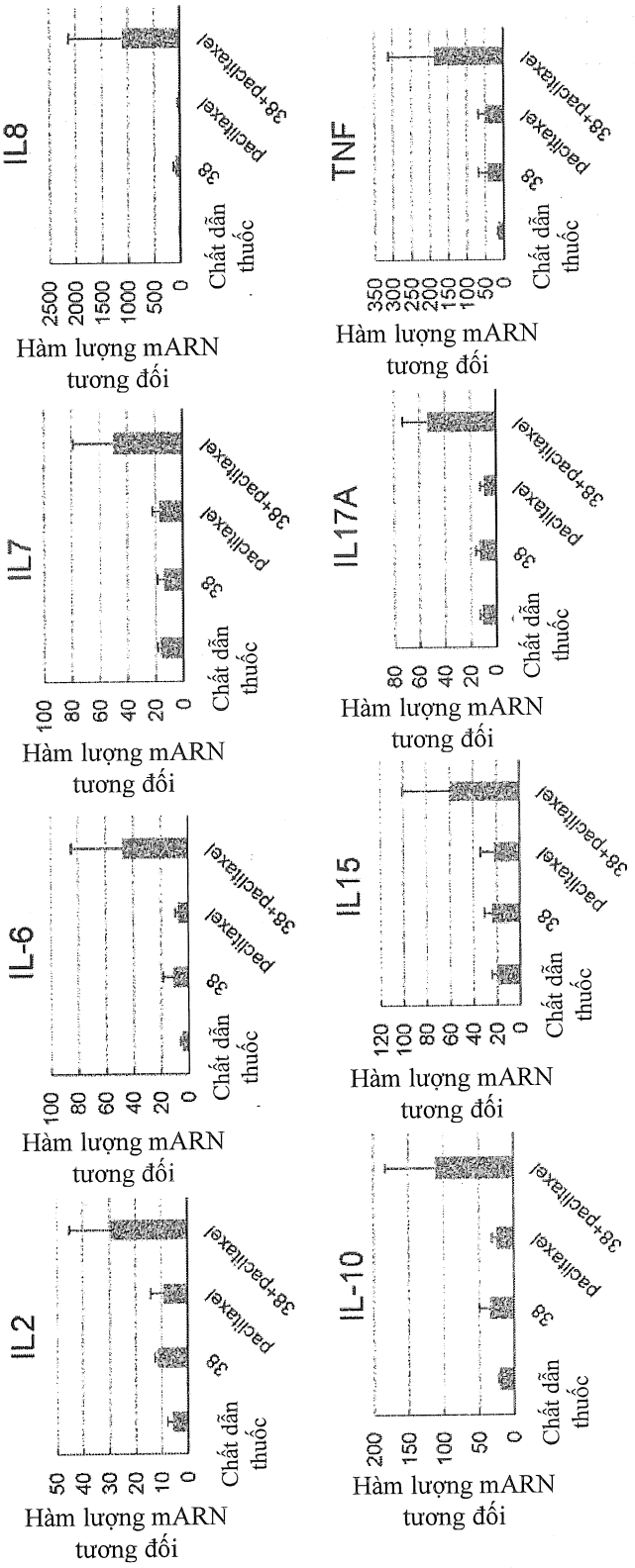

IL8
2500
2000
1500
1000
500
0
Hàm lượng mARN tương đối
38
Paclitaxel
38+Paclitaxel
Chất dẫn thuốc
TNF
350
300
250
200
150
100
50
0
IL7
100
80
60
40
20
IL17A
IL-6
IL15
120
IL2
50
40
30
10
IL-10
200
150

FIG. 35-3

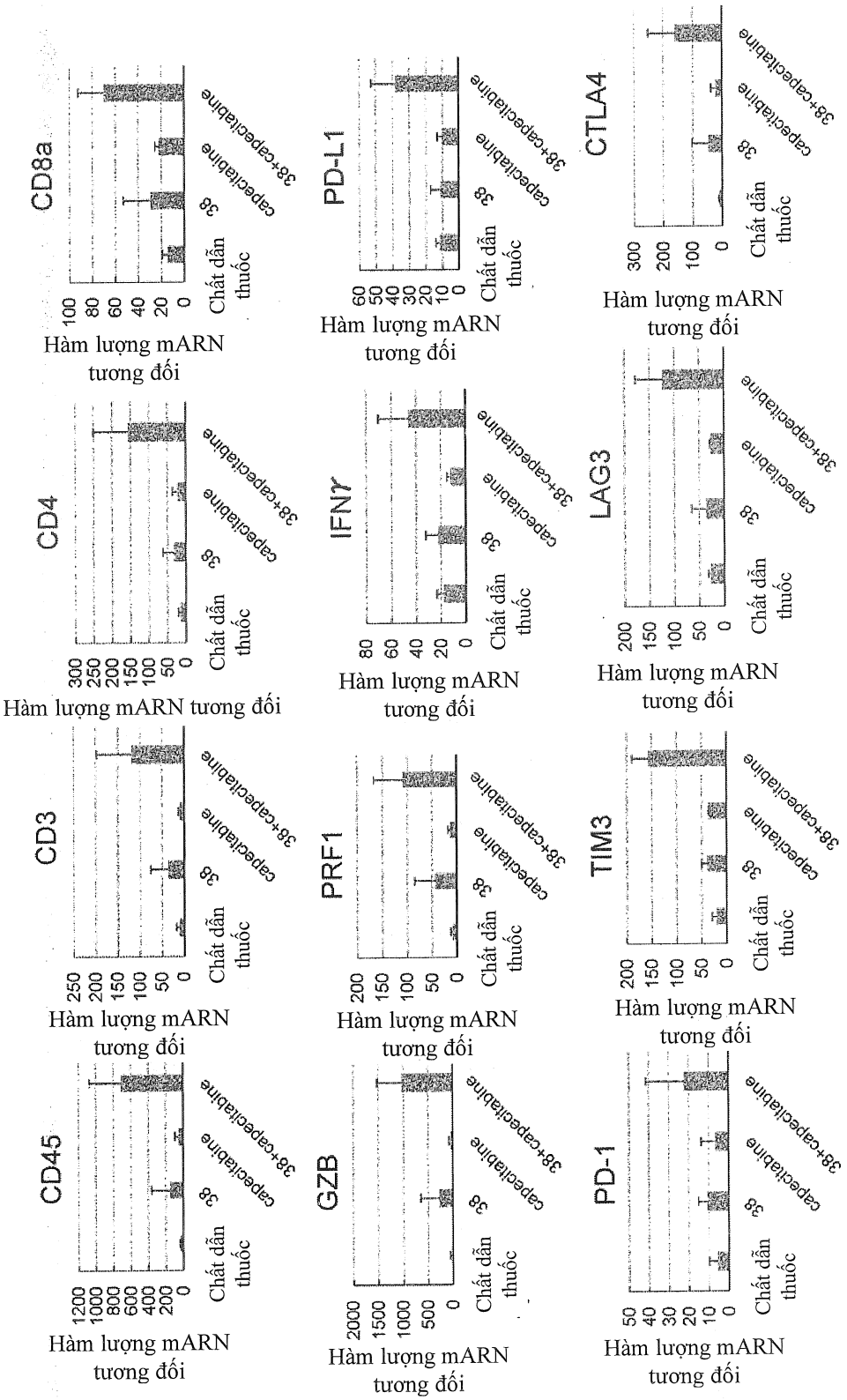

CD8a
PD-L1
CTLA4
CD4
IFNγ
LAG3
CD3
PRF1
TIM3
CD45
GZB
PD-1
Hàm lượng mARN tương đối
Chất dẫn thuốc
3β
capecitabine
3β+capecitabine

FIG. 35-4

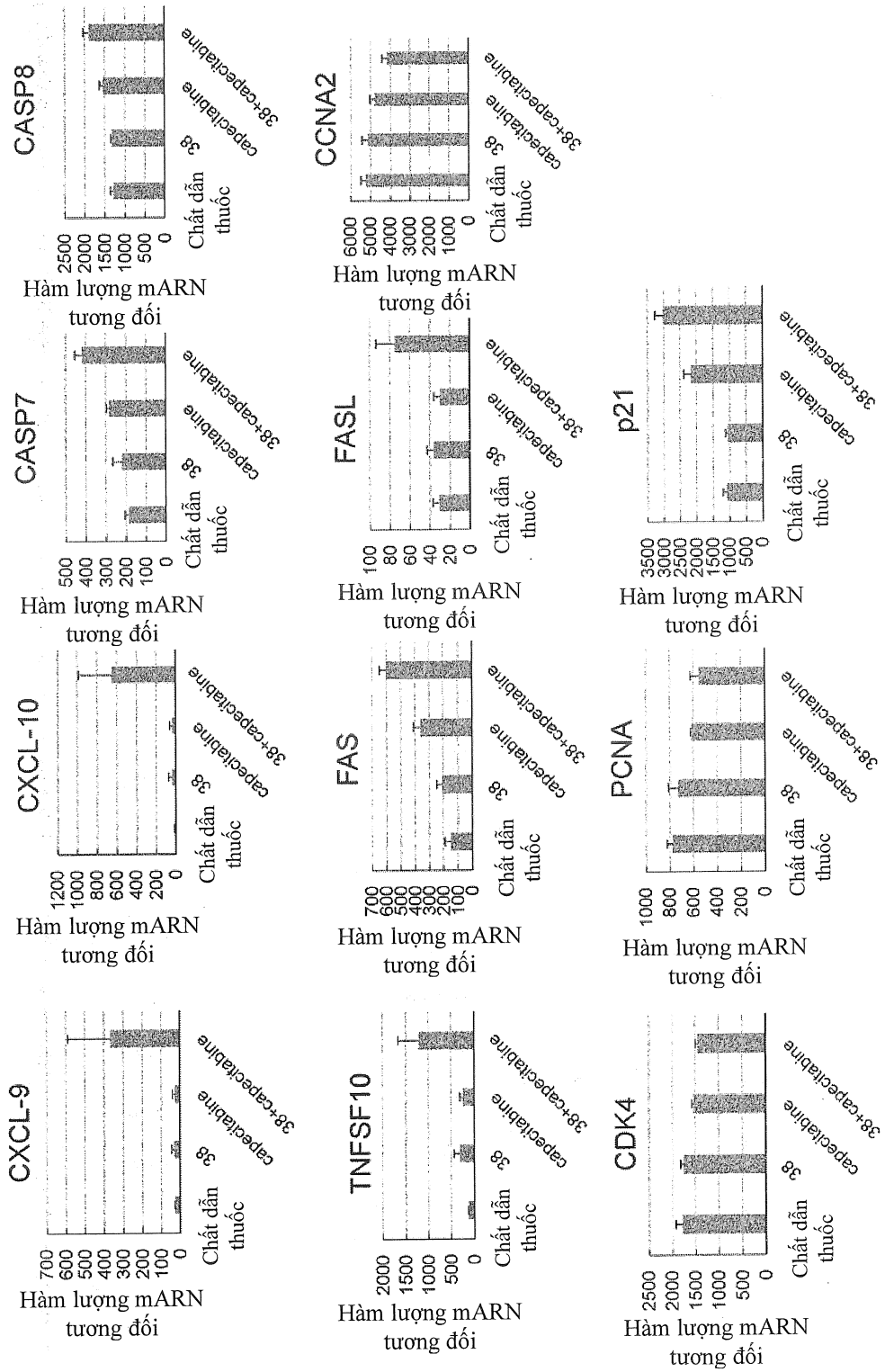

CASP8
CCNA2
CASP7
FASL
p21
CXCL-10
FAS
PCNA
CXCL-9
TNFSF10
CDK4
Hàm lượng mARN tương đối
Chất dẫn thuốc
38
capecitabine
38+capecitabine

FIG. 35-5

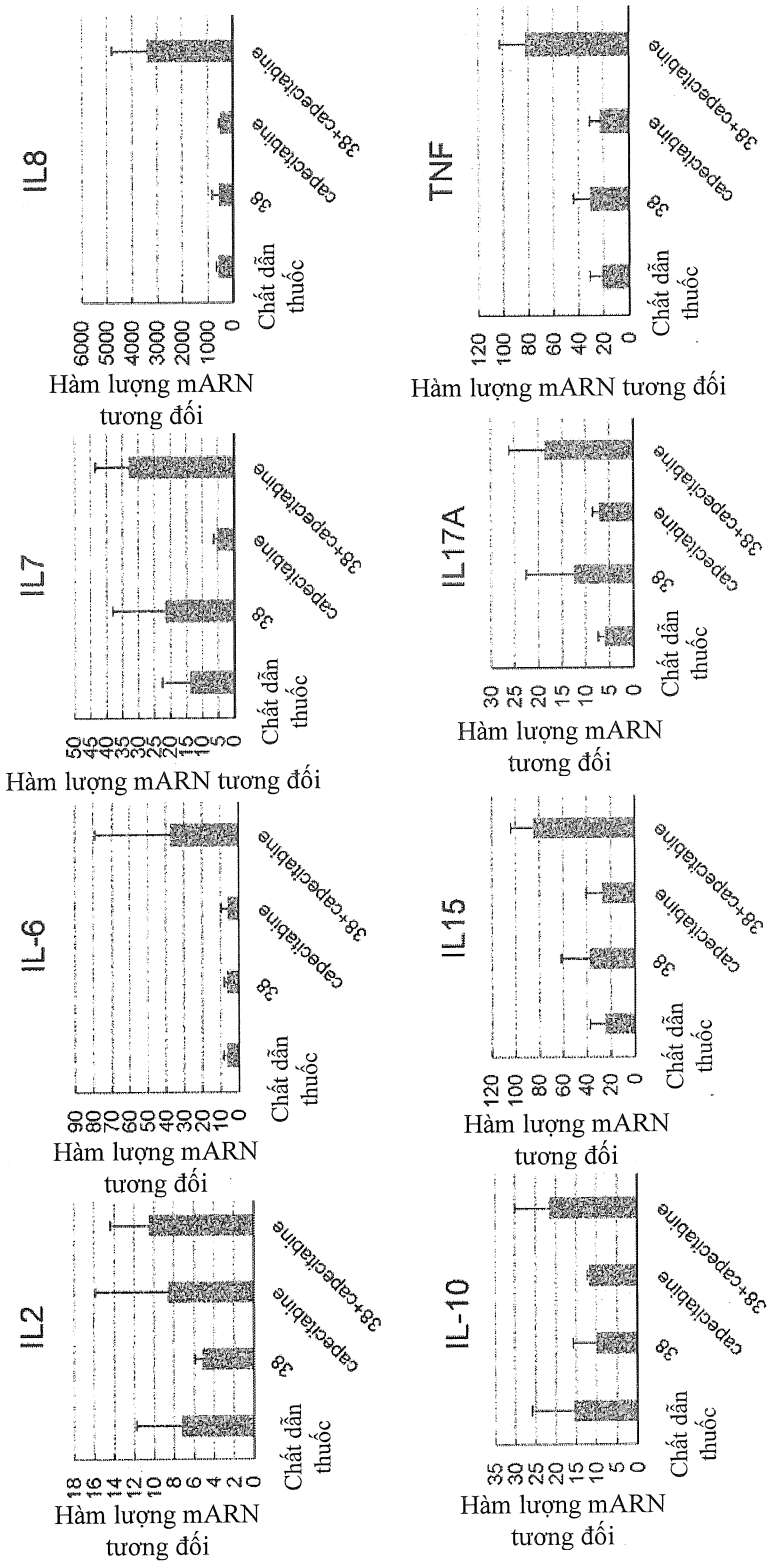

IL8
Hàm lượng mARN tương đối
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
Chất dẫn thuốc
38
capecitabine
38+capecitabine
TNF
Hàm lượng mARN tương đối
120
100
80
60
40
20
0
IL7
Hàm lượng mARN tương đối
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
IL17A
Hàm lượng mARN tương đối
30
25
20
15
10
5
0
IL-6
Hàm lượng mARN tương đối
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
IL15
Hàm lượng mARN tương đối
120
100
80
60
40
20
0
IL2
Hàm lượng mARN tương đối
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
IL-10
Hàm lượng mARN tương đối
35
30
25
20
15
10
5
0

FIG. 35-6

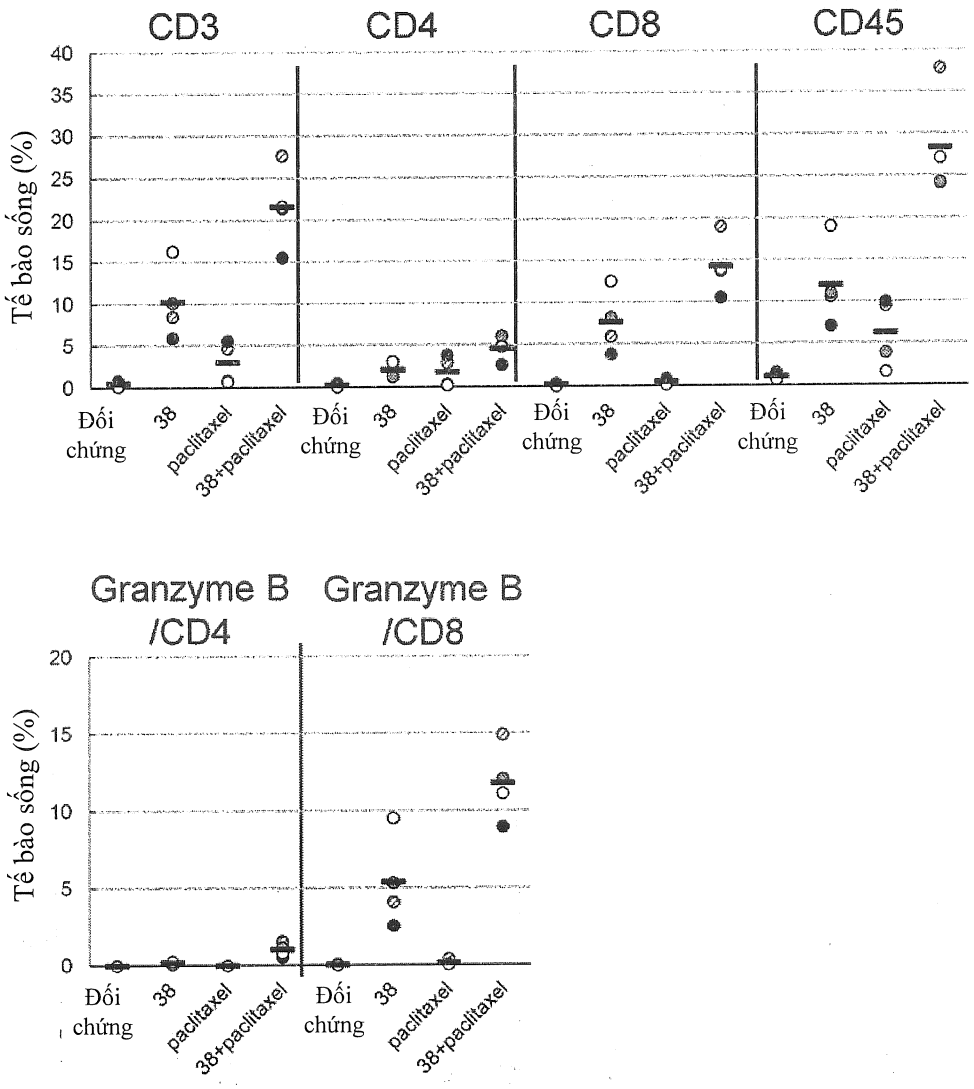

CD3
CD4
CD8
CD45
Tế bào sống (%)
40
35
30
25
20
15
10
5
0
Đối chứng
38
paclitaxel
38+paclitaxel
Granzyme B /CD4
Granzyme B /CD8

FIG. 36-1

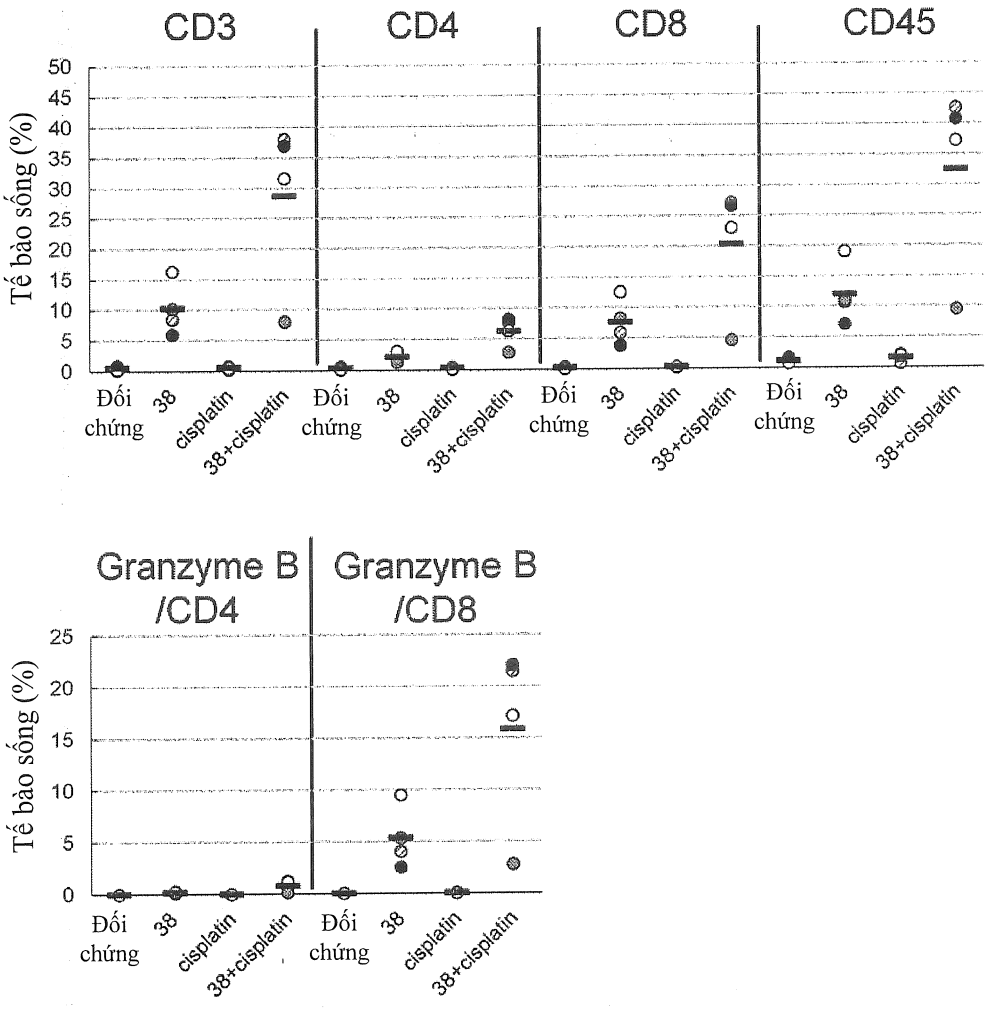

CD3
CD4
CD8
CD45
Granzyme B /CD4
Granzyme B /CD8
Tế bào sống (%)
Đối chứng
38
cisplatin
38+cisplatin

FIG. 36-2

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA

<120> BỘ KIT BAO GỒM DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ ĐẶC HIỆU KÉP LÀM THÀNH PHẦN HOẠT TÍNH

<130> C1-A1603P

<150> JP 2016-050095
<151> 2016-03-14

<160> 479

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 2398
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 1
agccccgccc tgccccgcgc cgccaagcgg ttcccgccct cgcccagcgc ccaggtagct 60

gcgaggaaac ttttgcagcg gctgggtagc agcacgtctc ttgctcctca gggccactgc 120

caggcttgcc gagtcctggg actgctctcg ctccggctgc cactctcccg cgctctccta 180

gctccctgcg aagcaggatg gccgggaccg tgcgcaccgc gtgcttggtg gtggcgatgc 240

tgctcagctt ggacttcccg ggacaggcgc agcccccgcc gccgccgccg gacgccacct 300

gtcaccaagt ccgctccttc ttccagagac tgcagcccgg actcaagtgg gtgccagaaa 360

ctcccgtgcc aggatcagat ttgcaagtat gtctccctaa gggcccaaca tgctgctcaa 420

gaaagatgga agaaaaatac caactaacag cacgattgaa catggaacag ctgcttcagt 480

ctgcaagtat ggagctcaag ttcttaatta ttcagaatgc tgcggttttc caagaggcct 540

ttgaaattgt tgttcgccat gccaagaact acaccaatgc catgttcaag aacaactacc 600

caagcctgac tccacaagct tttgagtttg tgggtgaatt tttcacagat gtgtctctct 660

acatcttggg ttctgacatc aatgtagatg acatggtcaa tgaattgttt gacagcctgt 720

ttccagtcat ctatacccag ctaatgaacc caggcctgcc tgattcagcc ttggacatca 780

atgagtgcct ccgaggagca agacgtgacc tgaaagtatt tgggaatttc cccaagctta 840

ttatgaccca ggtttccaag tcactgcaag tcactaggat cttccttcag gctctgaatc 900

ttggaattga agtgatcaac acaactgatc acctgaagtt cagtaaggac tgtggccgaa 960

tgctcaccag aatgtggtac tgctcttact gccagggact gatgatggtt aaaccctgtg 1020

gcggttactg caatgtggtc atgcaaggct gtatggcagg tgtggtggag attgacaagt 1080

actggagaga atacattctg tcccttgaag aacttgtgaa tggcatgtac agaatctatg 1140

acatggagaa cgtactgctt ggtctctttt caacaatcca tgattctatc cagtatgtcc 1200

agaagaatgc aggaaagctg accaccactg aaactgagaa gaaaatatgg cacttcaaat 1260

atcctatctt cttcctgtgt atagggctag acttacagat tggcaagtta tgtgcccatt 1320

ctcaacaacg ccaatataga tctgcttatt atcctgaaga tctctttatt gacaagaaag 1380

tattaaaagt tgctcatgta gaacatgaag aaaccttatc cagccgaaga agggaactaa 1440

ttcagaagtt gaagtctttc atcagcttct atagtgcttt gcctggctac atctgcagcc 1500

atagccctgt ggcggaaaac gacacccttt gctggaatgg acaagaactc gtggagagat 1560

acagccaaaa ggcagcaagg aatggaatga aaaaccagtt caatctccat gagctgaaaa 1620

tgaagggccc tgagccagtg gtcagtcaaa ttattgacaa actgaagcac attaaccagc 1680

tcctgagaac catgtctatg cccaaaggta gagttctgga taaaaacctg gatgaggaag 1740

ggtttgaaag tggagactgc ggtgatgatg aagatgagtg cattggaggc tctggtgatg 1800

gaatgataaa agtgaagaat cagctccgct tccttgcaga actggcctat gatctggatg 1860

tggatgatgc gcctggaaac agtcagcagg caactccgaa ggacaacgag ataagcacct 1920

ttcacaacct cgggaacgtt cattccccgc tgaagcttct caccagcatg gccatctcgg 1980

tggtgtgctt cttcttcctg gtgcactgac tgcctggtgc ccagcacatg tgctgcccta 2040

cagcaccctg tggtcttcct cgataaaggg aaccactttc ttatttttt ctatttttt 2100

ttttttgtta tcctgtatac ctcctccagc catgaagtag aggactaacc atgtgttatg 2160

ttttcgaaaa tcaaatggta tcttttggag gaagatacat tttagtggta gcatatagat 2220

tgtccttttg caaagaaaga aaaaaaacca tcaagttgtg ccaaattatt ctcctatgtt 2280

tggctgctag aacatggtta ccatgtcttt ctctctcact ccctcccttt ctatcgttct 2340

ctctttgcat ggatttcttt gaaaaaaaat aaattgctca aataaaaaaa aaaaaaaa 2398

<210> 2
<211> 603
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Ala Gly Thr Val Arg Thr Ala Cys Leu Val Val Ala Met Leu Leu
1 5 10 15

Ser Leu Asp Phe Pro Gly Gln Ala Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Asp
20 25 30

Ala Thr Cys His Gln Val Arg Ser Phe Phe Gln Arg Leu Gln Pro Gly
35 40 45

Leu Lys Trp Val Pro Glu Thr Pro Val Pro Gly Ser Asp Leu Gln Val
50 55 60

Cys Leu Pro Lys Gly Pro Thr Cys Cys Ser Arg Lys Met Glu Glu Lys
65 70 75 80

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

Ser Met Glu Leu Lys Phe Leu Ile Ile Gln Asn Ala Ala Val Phe Gln
100 105 110

Glu Ala Phe Glu Ile Val Val Arg His Ala Lys Asn Tyr Thr Asn Ala
115 120 125

Met Phe Lys Asn Asn Tyr Pro Ser Leu Thr Pro Gln Ala Phe Glu Phe
130 135 140

Val Gly Glu Phe Phe Thr Asp Val Ser Leu Tyr Ile Leu Gly Ser Asp
145 150 155 160

Ile Asn Val Asp Asp Met Val Asn Glu Leu Phe Asp Ser Leu Phe Pro
165 170 175

Val Ile Tyr Thr Gln Leu Met Asn Pro Gly Leu Pro Asp Ser Ala Leu
180 185 190

Asp Ile Asn Glu Cys Leu Arg Gly Ala Arg Arg Asp Leu Lys Val Phe
195 200 205

Gly Asn Phe Pro Lys Leu Ile Met Thr Gln Val Ser Lys Ser Leu Gln
210 215 220

Val Thr Arg Ile Phe Leu Gln Ala Leu Asn Leu Gly Ile Glu Val Ile
225 230 235 240

Asn Thr Thr Asp His Leu Lys Phe Ser Lys Asp Cys Gly Arg Met Leu
245 250 255

Thr Arg Met Trp Tyr Cys Ser Tyr Cys Gln Gly Leu Met Met Val Lys
260 265 270

Pro Cys Gly Gly Tyr Cys Asn Val Val Met Gln Gly Cys Met Ala Gly
275 280 285

Val Val Glu Ile Asp Lys Tyr Trp Arg Glu Tyr Ile Leu Ser Leu Glu
290 295 300

Glu Leu Val Asn Gly Met Tyr Arg Ile Tyr Asp Met Glu Asn Val Leu
305 310 315 320

Leu Gly Leu Phe Ser Thr Ile His Asp Ser Ile Gln Tyr Val Gln Lys
325 330 335

Asn Ala Gly Lys Leu Thr Thr Thr Glu Thr Glu Lys Lys Ile Trp His
340 345 350

Phe Lys Tyr Pro Ile Phe Phe Leu Cys Ile Gly Leu Asp Leu Gln Ile
355 360 365

Gly Lys Leu Cys Ala His Ser Gln Gln Arg Gln Tyr Arg Ser Ala Tyr
370 375 380

Tyr Pro Glu Asp Leu Phe Ile Asp Lys Lys Val Leu Lys Val Ala His
385 390 395 400

Val Glu His Glu Glu Thr Leu Ser Ser Arg Arg Arg Glu Leu Ile Gln
405 410 415

Lys Leu Lys Ser Phe Ile Ser Phe Tyr Ser Ala Leu Pro Gly Tyr Ile
420 425 430

Cys Ser His Ser Pro Val Ala Glu Asn Asp Thr Leu Cys Trp Asn Gly
435 440 445

Gln Glu Leu Val Glu Arg Tyr Ser Gln Lys Ala Ala Arg Asn Gly Met
450 455 460

Lys Asn Gln Phe Asn Leu His Glu Leu Lys Met Lys Gly Pro Glu Pro
465 470 475 480

Val Val Ser Gln Ile Ile Asp Lys Leu Lys His Ile Asn Gln Leu Leu
485 490 495

Arg Thr Met Ser Met Pro Lys Gly Arg Val Leu Asp Lys Asn Leu Asp
500 505 510

Glu Glu Gly Phe Glu Ser Gly Asp Cys Gly Asp Asp Glu Asp Glu Cys
515 520 525

Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly Met Ile Lys Val Lys Asn Gln Leu Arg
530 535 540

Phe Leu Ala Glu Leu Ala Tyr Asp Leu Asp Val Asp Asp Ala Pro Gly
545 550 555 560

Asn Ser Gln Gln Ala Thr Pro Lys Asp Asn Glu Ile Ser Thr Phe His
565 570 575

Asn Leu Gly Asn Val His Ser Pro Leu Lys Leu Leu Thr Ser Met Ala
580 585 590

Ile Ser Val Val Cys Phe Phe Phe Leu Val His
595 600

<210> 3
<211> 19
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 3

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser

<210> 4
<211> 141
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4

Asp Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser Lys
1 5 10 15

Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln Thr
20 25 30

Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys Thr
35 40 45

Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val Ala
50 55 60

Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn Ser
65 70 75 80

Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp
85 90 95

Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe
100 105 110

Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala
115 120 125

Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser

130 135 140

<210> 5
<211> 179
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 5

Glu Asp Leu Lys Asn Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro
1 5 10 15

Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu
20 25 30

Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn
35 40 45

Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys
50 55 60

Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
65 70 75 80

Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys
85 90 95

Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp
100 105 110

Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg
115 120 125

Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Glu Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser
130 135 140

Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala
145 150 155 160

Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp
165 170 175

Ser Arg Gly

<210> 6
<211> 173
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6

Asp Lys Gln Leu Asp Ala Asp Val Ser Pro Lys Pro Thr Ile Phe Leu
1 5 10 15

Pro Ser Ile Ala Glu Thr Lys Leu Gln Lys Ala Gly Thr Tyr Leu Cys
20 25 30

Leu Leu Glu Lys Phe Phe Pro Asp Val Ile Lys Ile His Trp Gln Glu
35 40 45

Lys Lys Ser Asn Thr Ile Leu Gly Ser Gln Glu Gly Asn Thr Met Lys
50 55 60

Thr Asn Asp Thr Tyr Met Lys Phe Ser Trp Leu Thr Val Pro Glu Lys
65 70 75 80

Ser Leu Asp Lys Glu His Arg Cys Ile Val Arg His Glu Asn Asn Lys
85 90 95

Asn Gly Val Asp Gln Glu Ile Ile Phe Pro Pro Ile Lys Thr Asp Val
100 105 110

Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr
115 120 125

Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu
130 135 140

Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu
145 150 155 160

Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
165 170

<210> 7
<211> 204
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 7

Lys Gln Leu Asp Ala Asp Val Ser Pro Lys Pro Thr Ile Phe Leu Pro
1 5 10 15

Ser Ile Ala Glu Thr Lys Leu Gln Lys Ala Gly Thr Tyr Leu Cys Leu
20 25 30

Leu Glu Lys Phe Phe Pro Asp Ile Ile Lys Ile His Trp Gln Glu Lys
35 40 45

Lys Ser Asn Thr Ile Leu Gly Ser Gln Glu Gly Asn Thr Met Lys Thr
50 55 60

Asn Asp Thr Tyr Met Lys Phe Ser Trp Leu Thr Val Pro Glu Glu Ser
65 70 75 80

Leu Asp Lys Glu His Arg Cys Ile Val Arg His Glu Asn Asn Lys Asn
85 90 95

Gly Ile Asp Gln Glu Ile Ile Phe Pro Pro Ile Lys Thr Asp Val Thr
100 105 110

Thr Val Asp Pro Lys Asp Ser Tyr Ser Lys Asp Ala Asn Asp Val Thr
115 120 125

Thr Val Asp Pro Lys Tyr Asn Tyr Ser Lys Asp Ala Asn Asp Val Ile
130 135 140

Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Trp Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu
145 150 155 160

Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu
165 170 175

Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu
180 185 190

Gly Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
195 200

<210> 8
<211> 177
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8

Pro Ser Tyr Thr Gly Gly Tyr Ala Asp Lys Leu Ile Phe Gly Lys Gly
1 5 10 15

Thr Arg Val Thr Val Glu Pro Arg Ser Gln Pro His Thr Lys Pro Ser
20 25 30

Val Phe Val Met Lys Asn Gly Thr Asn Val Ala Cys Leu Val Lys Glu
35 40 45

Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Arg Ile Asn Leu Val Ser Ser Lys Lys Ile
50 55 60

Thr Glu Phe Asp Pro Ala Ile Val Ile Ser Pro Ser Gly Lys Tyr Asn

65 70 75 80

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

Val Gln His Asp Asn Lys Thr Val His Ser Thr Asp Phe Glu Val Lys
100 105 110

Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys
115 120 125

Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu
130 135 140

Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe
145 150 155 160

Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe
165 170 175

Leu

<210> 9
<211> 1311
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 9
agtctagctg ctgcacaggc tggctggctg gctggctgct aagggctgct ccacgctttt 60

gccggaggac agagactgac atggaacagg ggaagggcct ggctgtcctc atcctggcta 120

tcattcttct tcaaggtact ttggcccagt caatcaaagg aaaccacttg gttaaggtgt 180

atgactatca agaagatggt tcggtacttc tgacttgtga tgcagaagcc aaaaatatca 240

catggtttaa agatgggaag atgatcggct tcctaactga agataaaaaa aaatggaatc 300

tgggaagtaa tgccaaggac cctcgaggga tgtatcagtg taaaggatca cagaacaagt 360

caaaaccact ccaagtgtat tacagaatgt gtcagaactg cattgaacta aatgcagcca 420

ccatatctgg ctttctcttt gctgaaatcg tcagcatttt cgtccttgct gttggggtct 480

acttcattgc tggacaggat ggagttcgcc agtcgagagc ttcagacaag cagactctgt 540

tgcccaatga ccagctctac cagcccctca aggatcgaga agatgaccag tacagccacc 600

ttcaaggaaa ccagttgagg aggaattgaa ctcaggactc agagtagtcc aggtgttctc 660

ctcctattca gttcccagaa tcaaagcaat gcattttgga aagctcctag cagagagact 720

ttcagcccta aatctagact caaggttccc agagatgaca aatggagaag aaaggccatc 780

agagcaaatt tgggggtttc tcaaataaaa taaaaataaa aacaaatact gtgtttcaga 840

agcgccacct attggggaaa attgtaaaag aaaaatgaaa agatcaaata acccccctgga 900

tttgaatata attttttgtg ttgtaatttt tatttcgttt ttgtataggt tataattcac 960

atggctcaaa tattcagtga aagctctccc tccaccgcca tcccctgcta cccagtgacc 1020

ctgttgccct cttcagagac aaattagttt ctctttttt ttttttttt ttttttttg 1080

agacagtctg gctctgtcac ccaggctgaa atgcagtggc accatctcgg ctcactgcaa 1140

cctctgcctc ctgggttcaa gcgattctcc tgcctcagcc tcccgggcag ctgggattac 1200

aggcacacac taccacacct ggctaatttt tgtattttta gtagagacag ggttttgctc 1260

tgttggccaa gctggtctcg aactcctgac ctcaagtgat ccgcccgcct c 1311

<210> 10
<211> 771
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 10
agagaagcag acatcttcta gttcctcccc cactctcctc tttccggtac ctgtgagtca 60

gctaggggag ggcagctctc acccaggctg atagttcggt gacctggctt tatctactgg 120

atgagttccg ctgggagatg gaacatagca cgtttctctc tggcctggta ctggctaccc 180

ttctctcgca agtgagcccc ttcaagatac ctatagagga acttgaggac agagtgtttg 240

tgaattgcaa taccagcatc acatgggtag agggaacggt gggaacactg ctctcagaca 300

ttacaagact ggacctggga aaacgcatcc tggacccacg aggaatatat aggtgtaatg 360

ggacagatat atacaaggac aaagaatcta ccgtgcaagt tcattatcga atgtgccaga 420

gctgtgtgga gctggatcca gccaccgtgg ctggcatcat tgtcactgat gtcattgcca 480

ctctgctcct tgctttggga gtcttctgct ttgctggaca tgagactgga aggctgtctg 540

gggctgccga cacacaagct ctgttgagga atgaccaggt ctatcagccc ctccgagatc 600

gagatgatgc tcagtacagc caccttggag gaaactgggc tcggaacaag tgaacctgag 660

actggtggct tctagaagca gccattacca actgtacctt cccttcttgc tcagccaata 720

aatatatcct ctttcactca gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 771

<210> 11
<211> 1534
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 11
tattgtcaga gtcctcttgt ttggccttct aggaaggctg tgggacccag ctttcttcaa 60

ccagtccagg tggaggcctc tgccttgaac gtttccaagt gaggtaaaac ccgcaggccc 120

agaggcctct ctacttcctg tgtggggttc agaaaccctc ctcccctccc agcctcaggt 180

gcctgcttca gaaaatgaag tagtaagtct gctggcctcc gccatcttag taaagtaaca 240

gtcccatgaa acaaagatgc agtcgggcac tcactggaga gttctgggcc tctgcctctt 300

atcagttggc gtttgggggc aagatggtaa tgaagaaatg ggtggtatta cacagacacc 360

atataaagtc tccatctctg gaaccacagt aatattgaca tgccctcagt atcctggatc 420

tgaaatacta tggcaacaca atgataaaaa cataggcggt gatgaggatg ataaaaacat 480

aggcagtgat gaggatcacc tgtcactgaa ggaattttca gaattggagc aaagtggtta 540

ttatgtctgc taccccagag gaagcaaacc agaagatgcg aacttttatc tctacctgag 600

ggcaagagtg tgtgagaact gcatggagat ggatgtgatg tcggtggcca caattgtcat 660

agtggacatc tgcatcactg ggggcttgct gctgctggtt tactactgga gcaagaatag 720

aaaggccaag gccaagcctg tgacacgagg agcgggtgct ggcggcaggc aaaggggaca 780

aaacaaggag aggccaccac ctgttcccaa cccagactat gagcccatcc ggaaaggcca 840

gcgggacctg tattctggcc tgaatcagag acgcatctga ccctctggag aacactgcct 900

cccgctggcc caggtctcct ctccagtccc cctgcgactc cctgtttcct gggctagtct 960

tggaccccac gagagagaat cgttcctcag cctcatggtg aactcgcgcc ctccagcctg 1020

atcccccgct ccctcctccc tgccttctct gctggtaccc agtcctaaaa tattgctgct 1080

tcctcttcct ttgaagcatc atcagtagtc acaccctcac agctggcctg ccctcttgcc 1140

aggatattta tttgtgctat tcactccctt ccctttggat gtaacttctc cgttcagttc 1200

cctccttttc ttgcatgtaa gttgtccccc atcccaaagt attccatcta cttttctatc 1260

gccgtcccct tttgcagccc tctctgggga tggactgggt aaatgttgac agaggccctg 1320

ccccgttcac agatcctggc cctgagccag ccctgtgctc ctccctcccc caacactccc 1380

taccaacccc ctaatcccct actccctcca ccccccctcc actgtaggcc actggatggt 1440

catttgcatc tccgtaaatg tgctctgctc ctcagctgag agagaaaaaa ataaactgta 1500

tttggctgca agaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa 1534

<210> 12
<211> 182
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 12

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

Leu Gln Gly Thr Leu Ala Gln Ser Ile Lys Gly Asn His Leu Val Lys
20 25 30

Val Tyr Asp Tyr Gln Glu Asp Gly Ser Val Leu Leu Thr Cys Asp Ala
35 40 45

Glu Ala Lys Asn Ile Thr Trp Phe Lys Asp Gly Lys Met Ile Gly Phe
50 55 60

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

Pro Arg Gly Met Tyr Gln Cys Lys Gly Ser Gln Asn Lys Ser Lys Pro
85 90 95

Leu Gln Val Tyr Tyr Arg Met Cys Gln Asn Cys Ile Glu Leu Asn Ala
100 105 110

Ala Thr Ile Ser Gly Phe Leu Phe Ala Glu Ile Val Ser Ile Phe Val
115 120 125

Leu Ala Val Gly Val Tyr Phe Ile Ala Gly Gln Asp Gly Val Arg Gln
130 135 140

Ser Arg Ala Ser Asp Lys Gln Thr Leu Leu Pro Asn Asp Gln Leu Tyr
145 150 155 160

Gln Pro Leu Lys Asp Arg Glu Asp Asp Gln Tyr Ser His Leu Gln Gly
165 170 175

Asn Gln Leu Arg Arg Asn
180

<210> 13
<211> 171
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 13

Met Glu His Ser Thr Phe Leu Ser Gly Leu Val Leu Ala Thr Leu Leu
1 5 10 15

Ser Gln Val Ser Pro Phe Lys Ile Pro Ile Glu Glu Leu Glu Asp Arg
20 25 30

Val Phe Val Asn Cys Asn Thr Ser Ile Thr Trp Val Glu Gly Thr Val
35 40 45

Gly Thr Leu Leu Ser Asp Ile Thr Arg Leu Asp Leu Gly Lys Arg Ile
50 55 60

Leu Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Arg Cys Asn Gly Thr Asp Ile Tyr Lys
65 70 75 80

Asp Lys Glu Ser Thr Val Gln Val His Tyr Arg Met Cys Gln Ser Cys
85 90 95

Val Glu Leu Asp Pro Ala Thr Val Ala Gly Ile Ile Val Thr Asp Val
100 105 110

Ile Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Gly Val Phe Cys Phe Ala Gly His
115 120 125

Glu Thr Gly Arg Leu Ser Gly Ala Ala Asp Thr Gln Ala Leu Leu Arg
130 135 140

Asn Asp Gln Val Tyr Gln Pro Leu Arg Asp Arg Asp Asp Ala Gln Tyr
145 150 155 160

Ser His Leu Gly Gly Asn Trp Ala Arg Asn Lys
165 170

<210> 14
<211> 207
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14

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

Val Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr
20 25 30

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

Cys Pro Gln Tyr Pro Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys
50 55 60

Asn Ile Gly Gly Asp Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp
65 70 75 80

His Leu Ser Leu Lys Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr
85 90 95

Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu
100 105 110

Tyr Leu Arg Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Val Met
115 120 125

Ser Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp Ile Cys Ile Thr Gly Gly Leu

130 135 140

Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys
145 150 155 160

Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn
165 170 175

Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg
180 185 190

Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile
195 200 205

<210> 15
<211> 4
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 15

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 16
<211> 4
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 16

Ser Gly Gly Gly
1

<210> 17
<211> 5
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 17

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 18
<211> 5
<212> PRT

<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 18

Ser Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 19
<211> 6
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 19

Gly Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 20
<211> 6
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 20

Ser Gly Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 21
<211> 7
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 21

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 22
<211> 7
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 22

Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 23
<211> 330
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 23

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 24
<211> 326
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 24

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

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

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 25
<211> 377
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 25

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1               5                  10                  15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro
            100                 105                 110

Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg
        115                 120                 125

Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys
    130                 135                 140

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
145                 150                 155                 160

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
                165                 170                 175

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
            180                 185                 190

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr
        195                 200                 205

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

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
225                 230                 235                 240

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                245                 250                 255
```

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
260 265 270

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
275 280 285

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
290 295 300

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
305 310 315 320

Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
325 330 335

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
340 345 350

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
355 360 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370 375

<210> 26
<211> 327
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 26

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 27
<211> 2268
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 27
aatatcttgc atgttacaga tttcactgct cccaccagct tggagacaac atgtggttct 60

tgacaactct gctcctttgg gttccagttg atgggcaagt ggacaccaca aaggcagtga 120

tcactttgca gcctccatgg gtcagcgtgt tccaagagga aaccgtaacc ttgcactgtg 180

aggtgctcca tctgcctggg agcagctcta cacagtggtt tctcaatggc acagccactc 240

agacctcgac ccccagctac agaatcacct ctgccagtgt caatgacagt ggtgaataca 300

ggtgccagag aggtctctca gggcgaagtg accccataca gctggaaatc cacagaggct 360

ggctactact gcaggtctcc agcagagtct tcacggaagg agaacctctg gccttgaggt 420

gtcatgcgtg gaaggataag ctggtgtaca atgtgcttta ctatcgaaat ggcaaagcct 480

ttaagttttt ccactggaat tctaacctca ccattctgaa aaccaacata agtcacaatg 540

gcacctacca ttgctcaggc atgggaaagc atcgctacac atcagcagga atatctgtca 600

ctgtgaaaga gctatttcca gctccagtgc tgaatgcatc tgtgacatcc ccactcctgg 660

aggggaatct ggtcaccctg agctgtgaaa caaagttgct cttgcagagg cctggtttgc 720

agctttactt ctccttctac atgggcagca agaccctgcg aggcaggaac acatcctctg 780

aataccaaat actaactgct agaagagaag actctgggtt atactggtgc gaggctgcca 840

cagaggatgg aaatgtcctt aagcgcagcc ctgagttgga gcttcaagtg cttggcctcc 900

agttaccaac tcctgtctgg tttcatgtcc ttttctatct ggcagtggga ataatgtttt 960

tagtgaacac tgttctctgg gtgacaatac gtaaagaact gaaaagaaag aaaaagtggg 1020

atttagaaat ctctttggat tctggtcatg agaagaaggt aatttccagc cttcaagaag 1080

acagacattt agaagaagag ctgaaatgtc aggaacaaaa agaagaacag ctgcaggaag 1140

gggtgcaccg gaaggagccc caggggggca cgtagcagcg gctcagtggg tggccatcga 1200

tctggaccgt cccctgccca cttgctcccc gtgagcactg cgtacaaaca tccaaaagtt 1260

caacaacacc agaactgtgt gtctcatggt atgtaactct taaagcaaat aaatgaactg 1320

acttcaactg ggatacattt ggaaatgtgg tcatcaaaga tgacttgaaa tgaggcctac 1380

tctaaagaat tcttgaaaaa cttacaagtc aagcctagcc tgataatcct attacatagt 1440

ttgaaaaata gtattttatt tctcagaaca aggtaaaaag gtgagtgggt gcatatgtac 1500

agaagattaa gacagagaaa cagacagaaa gagacacaca cacagccagg agtgggtaga 1560

tttcagggag acaagaggga atagtataga caataaggaa ggaaatagta cttacaaatg 1620

actcctaagg gactgtgaga ctgagagggc tcacgcctct gtgttcagga tacttagttc 1680

atggcttttc tctttgactt tactaaaaga gaatgtctcc atacgcgttc taggcataca 1740

aggggtaac tcatgatgag aaatggatgt gttattcttg ccctctcttt tgaggctctc 1800

tcataacccc tctatttcta gagacaacaa aaatgctgcc agtcctaggc ccctgccctg 1860

taggaaggca gaatgtaact gttctgtttg tttaacgatt aagtccaaat ctccaagtgc 1920

ggcactgcaa agagacgctt caagtgggga gaagcggcga taccatagag tccagatctt 1980

gcctccagag atttgcttta ccttcctgat tttctggtta ctaattagct tcaggatacg 2040

ctgctctcat acttgggctg tagtttggag acaaaatatt ttcctgccac tgtgtaacat 2100

agctgaggta aaaactgaac tatgtaaatg actctactaa aagtttaggg aaaaaaaaca 2160

ggaggagtat gacacaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2220

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaa 2268

<210> 28
<211> 374
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 28

Met Trp Phe Leu Thr Thr Leu Leu Leu Trp Val Pro Val Asp Gly Gln
1 5 10 15

Val Asp Thr Thr Lys Ala Val Ile Thr Leu Gln Pro Pro Trp Val Ser
20 25 30

Val Phe Gln Glu Glu Thr Val Thr Leu His Cys Glu Val Leu His Leu
35 40 45

Pro Gly Ser Ser Ser Thr Gln Trp Phe Leu Asn Gly Thr Ala Thr Gln
50 55 60

Thr Ser Thr Pro Ser Tyr Arg Ile Thr Ser Ala Ser Val Asn Asp Ser
65 70 75 80

Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Arg Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asp Pro Ile
85 90 95

Gln Leu Glu Ile His Arg Gly Trp Leu Leu Leu Gln Val Ser Ser Arg
100 105 110

Val Phe Thr Glu Gly Glu Pro Leu Ala Leu Arg Cys His Ala Trp Lys
115 120 125

Asp Lys Leu Val Tyr Asn Val Leu Tyr Tyr Arg Asn Gly Lys Ala Phe
130 135 140

Lys Phe Phe His Trp Asn Ser Asn Leu Thr Ile Leu Lys Thr Asn Ile
145 150 155 160

Ser His Asn Gly Thr Tyr His Cys Ser Gly Met Gly Lys His Arg Tyr
165 170 175

Thr Ser Ala Gly Ile Ser Val Thr Val Lys Glu Leu Phe Pro Ala Pro
180 185 190

Val Leu Asn Ala Ser Val Thr Ser Pro Leu Leu Glu Gly Asn Leu Val
195 200 205

Thr Leu Ser Cys Glu Thr Lys Leu Leu Leu Gln Arg Pro Gly Leu Gln
210 215 220

Leu Tyr Phe Ser Phe Tyr Met Gly Ser Lys Thr Leu Arg Gly Arg Asn
225 230 235 240

Thr Ser Ser Glu Tyr Gln Ile Leu Thr Ala Arg Arg Glu Asp Ser Gly
245 250 255

Leu Tyr Trp Cys Glu Ala Ala Thr Glu Asp Gly Asn Val Leu Lys Arg
260 265 270

Ser Pro Glu Leu Glu Leu Gln Val Leu Gly Leu Gln Leu Pro Thr Pro
275 280 285

Val Trp Phe His Val Leu Phe Tyr Leu Ala Val Gly Ile Met Phe Leu
290 295 300

Val Asn Thr Val Leu Trp Val Thr Ile Arg Lys Glu Leu Lys Arg Lys
305 310 315 320

Lys Lys Trp Asp Leu Glu Ile Ser Leu Asp Ser Gly His Glu Lys Lys
325 330 335

Val Ile Ser Ser Leu Gln Glu Asp Arg His Leu Glu Glu Glu Leu Lys
340 345 350

Cys Gln Glu Gln Lys Glu Glu Gln Leu Gln Glu Gly Val His Arg Lys
355 360 365

Glu Pro Gln Gly Ala Thr
370

<210> 29
<211> 1396
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 29
gggatgacta tggagaccca aatgtctcag aatgtatgtc ccagaaacct gtggctgctt 60

caaccattga cagttttgct gctgctggct tctgcagaca gtcaagctgc tcccccaaag 120

gctgtgctga aacttgagcc cccgtggatc aacgtgctcc aggaggactc tgtgactctg 180

acatgccagg gggctcgcag ccctgagagc gactccattc agtggttcca caatgggaat 240

ctcattccca cccacacgca gcccagctac aggttcaagg ccaacaacaa tgacagcggg 300

gagtacacgt gccagactgg ccagaccagc ctcagcgacc ctgtgcatct gactgtgctt 360

tccgaatggc tggtgctcca gacccctcac ctggagttcc aggagggaga aaccatcatg 420

ctgaggtgcc acagctggaa ggacaagcct ctggtcaagg tcacattctt ccagaatgga 480

aaatcccaga aattctccca tttggatccc accttctcca tcccacaagc aaaccacagt 540

cacagtggtg attaccactg cacaggaaac ataggctaca cgctgttctc atccaagcct 600

gtgaccatca ctgtccaagt gcccagcatg ggcagctctt caccaatggg ggtcattgtg 660

gctgtggtca ttgcgactgc tgtagcagcc attgttgctg ctgtagtggc cttgatctac 720

tgcaggaaaa agcggatttc agccaattcc actgatcctg tgaaggctgc ccaatttgag 780

ccacctggac gtcaaatgat tgccatcaga aagagacaac ttgaagaaac caacaatgac 840

tatgaaacag ctgacggcgg ctacatgact ctgaacccca gggcacctac tgacgatgat 900

aaaaacatct acctgactct tcctcccaac gaccatgtca acagtaataa ctaaagagta 960

acgttatgcc atgtggtcat actctcagct tgctgagtgg atgacaaaaa gaggggaatt 1020

gttaaaggaa aatttaaatg gagactggaa aaatcctgag caaacaaaac cacctggccc 1080

ttagaaatag ctttaacttt gcttaaacta caaacacaag caaaacttca cggggtcata 1140

ctacatacaa gcataagcaa aacttaactt ggatcatttc tggtaaatgc ttatgttaga 1200

aataagacaa ccccagccaa tcacaagcag cctactaaca tataattagg tgactaggga 1260

ctttctaaga agatacctac ccccaaaaaa caattatgta attgaaaacc aaccgattgc 1320

ctttattttg cttccacatt ttcccaataa atacttgcct gtgactaaaa aaaaaaaaaa 1380

aaaaaaaaaa aaaaaa 1396

<210> 30
<211> 316
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 30

Met Thr Met Glu Thr Gln Met Ser Gln Asn Val Cys Pro Arg Asn Leu
1 5 10 15

Trp Leu Leu Gln Pro Leu Thr Val Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala Asp
20 25 30

Ser Gln Ala Ala Pro Pro Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Pro Trp
35 40 45

Ile Asn Val Leu Gln Glu Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Ala

50 55 60

Arg Ser Pro Glu Ser Asp Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu
65 70 75 80

Ile Pro Thr His Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn
85 90 95

Asp Ser Gly Glu Tyr Thr Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser Asp
100 105 110

Pro Val His Leu Thr Val Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr Pro
115 120 125

His Leu Glu Phe Gln Glu Gly Glu Thr Ile Met Leu Arg Cys His Ser
130 135 140

Trp Lys Asp Lys Pro Leu Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Lys
145 150 155 160

Ser Gln Lys Phe Ser His Leu Asp Pro Thr Phe Ser Ile Pro Gln Ala
165 170 175

Asn His Ser His Ser Gly Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly Tyr
180 185 190

Thr Leu Phe Ser Ser Lys Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Val Pro Ser
195 200 205

Met Gly Ser Ser Ser Pro Met Gly Val Ile Val Ala Val Val Ile Ala
210 215 220

Thr Ala Val Ala Ala Ile Val Ala Ala Val Val Ala Leu Ile Tyr Cys
225 230 235 240

Arg Lys Lys Arg Ile Ser Ala Asn Ser Thr Asp Pro Val Lys Ala Ala
245 250 255

Gln Phe Glu Pro Pro Gly Arg Gln Met Ile Ala Ile Arg Lys Arg Gln
260 265 270

Leu Glu Glu Thr Asn Asn Asp Tyr Glu Thr Ala Asp Gly Gly Tyr Met
275 280 285

Thr Leu Asn Pro Arg Ala Pro Thr Asp Asp Asp Lys Asn Ile Tyr Leu
290 295 300

Thr Leu Pro Pro Asn Asp His Val Asn Ser Asn Asn

305 310 315

<210> 31
<211> 1497
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 31
tgtgactgct gtgctctggg cgccagctcg ctccagggag tgatgggaat cctgtcattc 60

ttacctgtcc ttgccactga gagtgactgg gctgactgca agtcccccca gccttggggt 120

catatgcttc tgtggacagc tgtgctattc ctggctcctg ttgctgggac acctgcagct 180

cccccaaagg ctgtgctgaa actcgagccc cagtggatca acgtgctcca ggaggactct 240

gtgactctga catgccgggg gactcacagc cctgagagcg actccattca gtggttccac 300

aatgggaatc tcattcccac ccacacgcag cccagctaca ggttcaaggc caacaacaat 360

gacagcgggg agtacacgtg ccagactggc cagaccagcc tcagcgaccc tgtgcatctg 420

actgtgcttt ctgagtggct ggtgctccag acccctcacc tggagttcca ggagggagaa 480

accatcgtgc tgaggtgcca cagctggaag gacaagcctc tggtcaaggt cacattcttc 540

cagaatggaa aatccaagaa attttcccgt tcggatccca acttctccat cccacaagca 600

aaccacagtc acagtggtga ttaccactgc acaggaaaca taggctacac gctgtactca 660

tccaagcctg tgaccatcac tgtccaagct cccagctctt caccgatggg gatcattgtg 720

gctgtggtca ctgggattgc tgtagcggcc attgttgctg ctgtagtggc cttgatctac 780

tgcaggaaaa agcggatttc agccaatccc actaatcctg atgaggctga caaagttggg 840

gctgagaaca caatcaccta ttcacttctc atgcacccgg atgctctgga agagcctgat 900

gaccagaacc gtatttagtc tccattgtct tgcattggga tttgagaaga aaatcagaga 960

gggaagatct ggtatttcct ggcctaaatt ccccttgggg aggacaggga gatgctgcag 1020

ttccaaaaga gaaggtttct tccagagtca tctacctgag tcctgaagct ccctgtcctg 1080

aaagccacag acaatatggt cccaaataac cgactgcacc ttctgtgctt cagctcttct 1140

tgacatcaag gctcttccgt tccacatcca cacagccaat ccaattaatc aaaccactgt 1200

tattaacaga taatagcaac ttgggaaatg cttatgttac aggttacgtg agaacaatca 1260

tgtaaatcta tatgatttca gaaatgttaa aatagactaa cctctaccag cacattaaaa 1320

gtgattgttt ctgggtgata aaattattga tgatttttat tttctttatt tttctataaa 1380

gatcatatat tacttttata ataaaacatt ataaaaacaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1440

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa 1497

<210> 32
<211> 291
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 32

Met Gly Ile Leu Ser Phe Leu Pro Val Leu Ala Thr Glu Ser Asp Trp
1 5 10 15

Ala Asp Cys Lys Ser Pro Gln Pro Trp Gly His Met Leu Leu Trp Thr
20 25 30

Ala Val Leu Phe Leu Ala Pro Val Ala Gly Thr Pro Ala Ala Pro Pro
35 40 45

Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Gln Trp Ile Asn Val Leu Gln Glu
50 55 60

Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Arg Gly Thr His Ser Pro Glu Ser Asp
65 70 75 80

Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu Ile Pro Thr His Thr Gln
85 90 95

Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr
100 105 110

Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser Asp Pro Val His Leu Thr Val
115 120 125

Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr Pro His Leu Glu Phe Gln Glu
130 135 140

Gly Glu Thr Ile Val Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu
145 150 155 160

Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Lys Ser Lys Lys Phe Ser Arg
165 170 175

Ser Asp Pro Asn Phe Ser Ile Pro Gln Ala Asn His Ser His Ser Gly
180 185 190

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

Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Ala Pro Ser Ser Ser Pro Met Gly Ile
210 215 220

Ile Val Ala Val Val Thr Gly Ile Ala Val Ala Ala Ile Val Ala Ala
225 230 235 240

Val Val Ala Leu Ile Tyr Cys Arg Lys Lys Arg Ile Ser Ala Asn Pro

245 250 255

Thr Asn Pro Asp Glu Ala Asp Lys Val Gly Ala Glu Asn Thr Ile Thr
260 265 270

Tyr Ser Leu Leu Met His Pro Asp Ala Leu Glu Glu Pro Asp Asp Gln
275 280 285

Asn Arg Ile
290

<210> 33
<211> 2137
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 33
cttgtccact ccagtgtggc atcatgtggc agctgctcct cccaactgct ctgctacttc 60

tagtttcagc tggcatgcgg actgaagatc tcccaaaggc tgtggtgttc ctggagcctc 120

aatggtacag ggtgctcgag aaggacagtg tgactctgaa gtgccaggga gcctactccc 180

ctgaggacaa ttccacacag tggtttcaca atgagagcct catctcaagc caggcctcga 240

gctacttcat tgacgctgcc acagttgacg acagtggaga gtacaggtgc cagacaaacc 300

tctccaccct cagtgacccg gtgcagctag aagtccatat cggctggctg ttgctccagg 360

cccctcggtg ggtgttcaag gaggaagacc ctattcacct gaggtgtcac agctggaaga 420

acactgctct gcataaggtc acatatttac agaatggcaa aggcaggaag tattttcatc 480

ataattctga cttctacatt ccaaaagcca cactcaaaga cagcggctcc tacttctgca 540

gggggcttgt tgggagtaaa aatgtgtctt cagagactgt gaacatcacc atcactcaag 600

gtttgtcagt gtcaaccatc tcatcattct ttccacctgg gtaccaagtc tctttctgct 660

tggtgatggt actccttttt gcagtggaca caggactata tttctctgtg aagacaaaca 720

ttcgaagctc aacaagagac tggaaggacc ataaatttaa atggagaaag gaccctcaag 780

acaaatgacc cccatcccat gggggtaata agagcagtag cagcagcatc tctgaacatt 840

tctctggatt tgcaacccca tcatcctcag gcctctctac aagcagcagg aaacatagaa 900

ctcagagcca gatcccttat ccaactctcg acttttcctt ggtctccagt ggaagggaaa 960

agcccatgat cttcaagcag ggaagcccca gtgagtagct gcattcctag aaattgaagt 1020

ttcagagcta cacaaacact ttttctgtcc caaccgttcc ctcacagcaa agcaacaata 1080

caggctaggg atggtaatcc tttaaacata caaaaattgc tcgtgttata aattacccag 1140

tttagagggg aaaaaaaaac aattattcct aaataaatgg ataagtagaa ttaatggttg 1200

aggcaggacc atacagagtg tgggaactgc tggggatcta gggaattcag tgggaccaat 1260

gaaagcatgg ctgagaaata gcaggtagtc caggatagtc taagggaggt gttcccatct 1320

gagcccagag ataagggtgt cttcctagaa cattagccgt agtggaatta acaggaaatc 1380

atgagggtga cgtagaattg agtcttccag gggactctat cagaactgga ccatctccaa 1440

gtatataacg atgagtcctc ttaatgctag gagtagaaaa tggtcctagg aaggggactg 1500

aggattgcgg tgggggtgg ggtggaaaag aaagtacaga acaaaccctg tgtcactgtc 1560

ccaagttgct aagtgaacag aactatctca gcatcagaat gagaaagcct gagaagaaag 1620

aaccaaccac aagcacacag gaaggaaagc gcaggaggtg aaaatgcttt cttggccagg 1680

gtagtaagaa ttagaggtta atgcagggac tgtaaaacca ccttttctgc ttcaatatct 1740

aattcctgtg tagctttgtt cattgcattt attaaacaaa tgttgtataa ccaatactaa 1800

atgtactact gagcttcgct gagttaagtt atgaaacttt caaatccttc atcatgtcag 1860

ttccaatgag gtggggatgg agaagacaat tgttgcttat gaaagaaagc tttagctgtc 1920

tctgttttgt aagctttaag cgcaacattt cttggttcca ataaagcatt ttacaagatc 1980

ttgcatgcta ctcttagata gaagatggga aaaccatggt aataaaatat gaatgataaa 2040

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2100

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa 2137

<210> 34
<211> 254
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 34

Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Leu Val Ser Ala
1 5 10 15

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
20 25 30

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
35 40 45

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

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
65 70 75 80

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

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
130 135 140

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
145 150 155 160

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Val
165 170 175

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
180 185 190

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

Val Ser Phe Cys Leu Val Met Val Leu Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly
210 215 220

Leu Tyr Phe Ser Val Lys Thr Asn Ile Arg Ser Ser Thr Arg Asp Trp
225 230 235 240

Lys Asp His Lys Phe Lys Trp Arg Lys Asp Pro Gln Asp Lys
245 250

<210> 35
<211> 820
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 35
cactccagtg tggcatcatg tggcagctgc tcctcccaac tgctctgcta cttctagttt 60

cagctggcat gcggactgaa gatctcccaa aggctgtggt gttcctggag cctcaatggt 120

acagcgtgct tgagaaggac agtgtgactc tgaagtgcca gggagcctac tcccctgagg 180

acaattccac acagtggttt cacaatgaga gcctcatctc aagccaggcc tcgagctact 240

tcattgacgc tgccacagtc aacgacagtg gagagtacag gtgccagaca aacctctcca 300

ccctcagtga cccggtgcag ctagaagtcc atatcggctg gctgttgctc caggcccctc 360

ggtgggtgtt caaggaggaa gaccctattc acctgaggtg tcacagctgg aagaacactg 420

ctctgcataa ggtcacatat ttacagaatg gcaaagacag gaagtatttt catcataatt 480

ctgacttcca cattccaaaa gccacactca aagatagcgg ctcctacttc tgcaggggggc 540

ttgttgggag taaaaatgtg tcttcagaga ctgtgaacat caccatcact caaggtttgg 600

cagtgtcaac catctcatca ttctctccac ctgggtacca agtctctttc tgcttggtga 660

tggtactcct ttttgcagtg gacacaggac tatatttctc tgtgaagaca aacatttgaa 720

gctcaacaag agactggaag gaccataaac ttaaatggag aaaggaccct caagacaaat 780

gacccccatc ccatgggagt aataagagca gtggcagcag 820

<210> 36
<211> 233
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36

Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Leu Val Ser Ala
1 5 10 15

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
20 25 30

Gln Trp Tyr Ser Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
35 40 45

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

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
65 70 75 80

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

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
130 135 140

Gly Lys Asp Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe His Ile Pro
145 150 155 160

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Val
165 170 175

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
180 185 190

Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Ser Pro Pro Gly Tyr Gln

195 200 205

Val Ser Phe Cys Leu Val Met Val Leu Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly
210 215 220

Leu Tyr Phe Ser Val Lys Thr Asn Ile
225 230

<210> 37
<211> 330
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 37

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 38
<211> 326
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

```
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110

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

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                 135                 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145                 150                 155                 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
                165                 170                 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
            180                 185                 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
        195                 200                 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
    210                 215                 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225                 230                 235                 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
                245                 250                 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
            260                 265                 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
        275                 280                 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
    290                 295                 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305                 310                 315                 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                325
```

<210> 39
<211> 327
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 39

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 40
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 40

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 41
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 41

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

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

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

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

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

<210> 42
<211> 122
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 42

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu

50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 43
<211> 112
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 43

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

Gly Gln Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Asn
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Val Ser Trp Tyr Ile Gln Lys Pro Ser Gln Ser
35 40 45

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

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

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

Thr Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 44
<211> 328
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 44

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 45
<211> 338
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 45

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
1 5 10 15

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

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
35 40 45

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
65 70 75 80

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
85 90 95

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
100 105 110

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
115 120 125

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
130 135 140

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
145 150 155 160

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
165 170 175

Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
180 185 190

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
195 200 205

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
210 215 220

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg
225 230 235 240

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly
245 250 255

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
260 265 270

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
275 280 285

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
290 295 300

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
305 310 315 320

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro His His His His His His
325 330 335

His His

<210> 46
<211> 336
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 46

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu
225                 230                 235                 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255
```

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
325 330 335

<210> 47
<211> 450
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 47

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
            260                 265                 270

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

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

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

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

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg
            340                 345                 350

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly
        355                 360                 365

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

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

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

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

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro His His His His His His
435 440 445

His His
450

<210> 48
<211> 222
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 48

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
115 120 125

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

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
145 150 155 160

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
165 170 175

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

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

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 49
<211> 458
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 49

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

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

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

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

His Glu Asp Pro Glu Val 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 Ala 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 Ala Pro
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 Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
450 455

<210> 50
<211> 219
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 50

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

Gly Gln Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Asn
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Val Ser Trp Tyr Ile Gln Lys Pro Ser Gln Ser
35 40 45

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

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

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

Thr Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

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

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 51
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 51

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Ala Arg Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 52
<211> 122

<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 52

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 53
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 53

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

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

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

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

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

<210> 54
<211> 448
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 54

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

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

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

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

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

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

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

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

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

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

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

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

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

Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro Lys 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 Gln 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 Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
290 295 300

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu His His His His His His His His
435 440 445

<210> 55
<211> 455
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 55

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro
225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

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

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
450 455

<210> 56
<211> 219
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 56

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

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

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

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

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

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

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 57
<211> 336
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 57

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
325 330 335

<210> 58
<211> 338
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 58

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
1 5 10 15

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

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
35 40 45

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
65 70 75 80

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
85 90 95

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
100 105 110

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
115 120 125

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
130 135 140

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
145 150 155 160

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
165 170 175

Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
180 185 190

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
195 200 205

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
210 215 220

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg
225 230 235 240

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly
245 250 255

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
260 265 270

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
275 280 285

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
290 295 300

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
305 310 315 320

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro His His His His His His
325 330 335

His His

<210> 59
<211> 230
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 59

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro
225 230

<210> 60
<211> 325
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 60

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Arg Gly Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 61
<211> 325
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 61

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Arg Gly Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 62
<211> 325
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 62

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Arg Gly Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 63
<211> 107
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 63

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

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

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

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

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

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 64
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 64

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 65
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 65

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Gln Ala Trp
100 105 110

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

<210> 66
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 66

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Gln Ala Trp
100 105 110

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

<210> 67
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 67

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Gln Ala Trp
100 105 110

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

<210> 68
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 68

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 69
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 69

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 70
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 70

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 71
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 71

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Gly Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 72
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 72

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 73
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 73

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 74
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 74

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 75
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 75

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Tyr Tyr Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 76
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 76

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Gly Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 77
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 77

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

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

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 78
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 78

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Gly Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 79
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 79

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Gly Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Tyr Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 80
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 80

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 81
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 81

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Gly Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 82
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 82

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Gly Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 83
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 83

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

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

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 84
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 84

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Gly Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 85
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 85

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

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

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 86
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 86

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Gly Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 87
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 87

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Gly Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 88
<211> 122

<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 88

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ser Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 89
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 89

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ser Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 90
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 90

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ser Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 91
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 91

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ser Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 92
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 92

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Gly Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 93
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 93

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Gly Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 94
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nhân tạo

<400> 94

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Gly Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 95
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 95

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ser Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 96
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 96

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Ser Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 97
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 97

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Gly Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 98
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 98

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Gly Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 99
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 99

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Gly Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 100
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 100

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Gly Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 101
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 101

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 102
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 102

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 103
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 103

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 104
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 104

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 105
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 105

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 106
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 106

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 107
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 107

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 108
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 108

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 109
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 109

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 110
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 110

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 111
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 111

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 112
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 112

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 113
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 113

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 114
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 114

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 115
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 115

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 116
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 116

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 117
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 117

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 118
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 118

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 119
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 119

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 120
<211> 122

<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 120

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 121
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 121

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 122
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 122

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 123
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 123

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 124
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 124

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 125
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 125

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 126
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nhân tạo

<400> 126

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 127
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 127

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 128
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 128

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 129
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 129

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 130
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 130

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 131
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 131

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 132
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 132

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 133
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 133

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 134
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 134

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 135
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 135

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 136
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 136

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 137
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 137

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 138
<211> 124
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 138

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ala Glu Met Val Arg Asp Asp
100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 139
<211> 128
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 139

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ala Glu Met Val Arg Asp Ser
100 105 110

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

<210> 140
<211> 128
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 140

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Val Arg Arg Arg Leu Ser Ser
100 105 110

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

<210> 141
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 141

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 142
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 142

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 143
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 143

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 144
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 144

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 145
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 145

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 146
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 146

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 147
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 147

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 148
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 148

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 149
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 149

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 150
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 150

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Phe Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 151
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 151

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Gly Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 152
<211> 122

<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 152

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Leu Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 153
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 153

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Pro Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 154
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 154

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Gln Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 155
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 155

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Ser Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 156
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 156

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Val Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 157
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 157

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

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

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 158
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nhân tạo

<400> 158

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

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

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 159
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 159

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Ile Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 160
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 160

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Leu Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 161
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 161

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

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

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 162
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 162

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Gln Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 163
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 163

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Thr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 164
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 164

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Val Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 165
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 165

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

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

<210> 166
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 166

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 167
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 167

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Gln Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 168
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 168

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Val Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 169
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 169

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Ser Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

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

<210> 170
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 170

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 171
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 171

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 172
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 172

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 173
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 173

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 174
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 174

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 175
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 175

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 176
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 176

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

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

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

Gly Ala Ile Asp Gly Lys Thr Pro Asp Thr Ala Glu Glu Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 177
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 177

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 178
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 178

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 179
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 179

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 180
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 180

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 181
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 181

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 182
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 182

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 183
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 183

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 184
<211> 115

<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 184

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 185
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 185

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

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

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

Gly Ala Ile Asp Gly Glu Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Ser Phe
50 55 60

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 186
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 186

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 187
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 187

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 188
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 188

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 189
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 189

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 190
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nhân tạo

<400> 190

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 191
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 191

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 192
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 192

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 193
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 193

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

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

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

Gly Ala Ile Asp Gly Lys Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Glu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 194
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 194

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Lys Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Glu Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 195
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 195

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Lys Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Glu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 196
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 196

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Glu Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Glu Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 197
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 197

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Glu Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 198
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 198

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Glu Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Asp Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 199
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 199

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Glu Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 200
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 200

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Glu Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 201
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 201

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Glu Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Glu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 202
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 202

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Glu Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Glu Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Glu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 203
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 203

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Lys Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 204
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 204

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Lys Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 205
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 205

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Lys Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 206
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 206

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Pro Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 207
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 207

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Trp Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 208
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 208

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Tyr Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 209
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 209

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Lys Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 210
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 210

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Pro Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 211
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 211

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Glu Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 212
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 212

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Pro Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 213
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 213

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Trp Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 214
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 214

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Tyr Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 215
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 215

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Lys Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 216
<211> 112

<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 216

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile
65 70 75 80

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 217
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 217

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 218
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 218

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ile Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 219
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 219

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Pro Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 220
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 220

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Thr Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 221
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 221

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Val Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 222
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 222

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Pro Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 223
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 223

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Pro Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 224
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 224

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Phe Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 225
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 225

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 226
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nhân tạo

<400> 226

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Met Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 227
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 227

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 228
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 228

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Val Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 229
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 229

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Arg Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 230
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 230

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Phe
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 231
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 231

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His His
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 232
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 232

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Leu
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 233
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 233

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Met
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 234
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 234

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Asn
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 235
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 235

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Pro
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 236
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 236

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Gln
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 237
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 237

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Val
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 238
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 238

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Trp
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 239
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 239

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asp Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 240
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 240

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Glu Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 241
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 241

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Phe Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 242
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 242

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Gly Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 243
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 243

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg His Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 244
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 244

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Met Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 245
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 245

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Trp Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 246
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 246

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 247
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 247

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 248
<211> 112

<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 248

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 249
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 249

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu Leu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 250
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 250

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu Met Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 251
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 251

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 252
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 252

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 253
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 253

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Phe Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 254
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 254

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser His Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 255
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 255

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Ile Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 256
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 256

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Met Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 257
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 257

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Thr Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 258
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nhân tạo

<400> 258

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Trp Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 259
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 259

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 260
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 260

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Gly Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 261
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 261

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Ile Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 262
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 262

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Lys Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 263
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 263

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Leu Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 264
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 264

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Met Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 265
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 265

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Asn Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 266
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 266

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 267
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 267

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Arg Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 268
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 268

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Val Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 269
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 269

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Tyr Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 270
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 270

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Phe Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 271
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 271

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Gly Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 272
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 272

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe His Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 273
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 273

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ile Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 274
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 274

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Leu Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 275
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 275

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Met Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 276
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 276

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 277
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 277

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Gln Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 278
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 278

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 279
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 279

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Val Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 280
<211> 112

<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 280

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Trp Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 281
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 281

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 282
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 282

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Glu Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 283
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 283

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 284
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 284

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ile Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 285
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 285

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 286
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 286

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Asn Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 287
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 287

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Thr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 288
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 288

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 289
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 289

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 290
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nhân tạo

<400> 290

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 291
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 291

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Thr
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 292
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 292

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 293
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 293

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln His Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 294
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 294

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Asn Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 295
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 295

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 296
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 296

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Trp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 297
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 297

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 298
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 298

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Pro Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 299
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 299

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Pro Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 300
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 300

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Trp Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 301
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 301

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 302
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 302

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 303
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 303

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Trp Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 304
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 304

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 305
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 305

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 306
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 306

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Trp Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 307
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 307

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 308
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 308

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Trp Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 309
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 309

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Pro Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 310
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 310

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Pro Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 311
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 311

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 312
<211> 112

<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 312

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Pro Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 313
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 313

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Pro Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 314
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 314

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Pro Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 315
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 315

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Pro Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 316
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 316

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 317
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 317

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 318
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 318

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Pro Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 319
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 319

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 320
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 320

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Leu Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 321
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 321

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 322
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nhân tạo

<400> 322

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ile Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 323
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 323

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 324
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 324

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 325
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 325

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Ser
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 326
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 326

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Thr
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 327
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 327

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Trp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 328
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 328

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Glu Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 329
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 329

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Glu Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 330
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 330

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Glu Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 331
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 331

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Glu Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 332
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 332

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Glu Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Trp Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 333
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 333

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Glu Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 334
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 334

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Glu Pro Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 335
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 335

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Glu Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 336
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 336

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Glu Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 337
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 337

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Glu Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Trp Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 338
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 338

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Glu Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 339
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 339

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Glu Pro Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 340
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 340

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 341
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 341

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ile Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 342
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 342

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Pro Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 343
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 343

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Pro Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 344
<211> 112

<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 344

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Pro Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ile Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 345
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 345

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Pro Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Thr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 346
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 346

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Thr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 347
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 347

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Pro Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Thr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 348
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 348

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Thr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 349
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 349

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Pro Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 350
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 350

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 351
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 351

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Pro Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 352
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 352

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 353
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 353

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Pro Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 354
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nhân tạo

<400> 354

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Pro Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 355
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 355

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 356
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 356

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 357
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 357

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Gln Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 358
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 358

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Pro Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Gln Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 359
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 359

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Pro Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Gln Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 360
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 360

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ala Ser Glu Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 361
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 361

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 362
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 362

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu
100 105 110

<210> 363
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 363

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ala Ser Glu Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu
100 105 110

<210> 364
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 364

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu
100 105 110

<210> 365
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 365

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ala Ser Glu Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu
100 105 110

<210> 366
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 366

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ala Ser Glu Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 367
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 367

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ala Ser Glu Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 368
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 368

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 369
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 369

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu
100 105 110

<210> 370
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 370

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ala Ser Glu Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu
100 105 110

<210> 371
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 371

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu
100 105 110

<210> 372
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 372

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ala Ser Glu Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu
100 105 110

<210> 373
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 373

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 374
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 374

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 375
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 375

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile Gln Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 376
<211> 112

<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 376

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ala Ser Glu Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 377
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 377

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ala Ser Glu Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 378
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 378

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ala Ser Glu Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile Gln Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 379
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 379

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Thr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 380
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 380

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ala Ser Glu Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Thr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 381
<211> 458
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 381

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Asn Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val 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 Ala 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 Ala Pro
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 Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
450 455

<210> 382
<211> 458
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nhân tạo

<400> 382

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Tyr Ala Tyr Tyr Gly Val Gln Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val 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 Ala 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 Ala Pro
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 Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
450 455

<210> 383
<211> 458
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 383

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val 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 Ala 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 Ala Pro
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 Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
450 455

<210> 384
<211> 440
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 384

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Glu Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys
210 215 220

Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro Lys 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 Gln 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 Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
290 295 300

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
305 310 315 320

Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu
340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu 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 Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 385
<211> 440
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 385

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Pro Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys
210 215 220

Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro Lys 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 Gln 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 Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
290 295 300

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
305 310 315 320

Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu
340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu 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 Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 386
<211> 440
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 386

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Glu Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys
210 215 220

Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro Lys 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 Gln 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 Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
290 295 300

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
305 310 315 320

Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu
340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu 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 Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 387
<211> 440
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 387

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Lys Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys
210 215 220

Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro Lys 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 Gln 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 Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
290 295 300

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
305 310 315 320

Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
325 330 335

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu
340 345 350

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
355 360 365

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
370 375 380

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu 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 Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 388
<211> 458
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 388

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val 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 Ala 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 Ala Pro
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 Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
450 455

<210> 389
<211> 458
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 389

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Ser Leu Val Gln Pro Gly Lys
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Thr Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gln Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Asn
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val 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 Ala 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 Ala Pro
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 Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
450 455

<210> 390
<211> 447
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 390

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Ser Leu Val Gln Pro Gly Lys
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Thr Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gln Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Asn
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro
225 230 235 240

Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 391
<211> 458
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 391

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Lys Lys Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Val Gln Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val 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 Ala 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 Ala Pro
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 Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
450 455

<210> 392
<211> 458
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 392

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Gly Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Ala Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr 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 Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val 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 Ala 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 Ala Pro
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 Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
450 455

<210> 393
<211> 447
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 393

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Ala Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ser Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro
225 230 235 240

Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 394
<211> 447
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 394

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Ala Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro
225 230 235 240

Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 395
<211> 447
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 395

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro
225 230 235 240

Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 396
<211> 447

<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 396

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro
225 230 235 240

Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 397
<211> 447
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 397

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Ala Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Ser Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro
225 230 235 240

Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 398
<211> 447
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 398

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro
225 230 235 240

Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 399
<211> 447
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 399

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Ala Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro
225 230 235 240

Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 400
<211> 447
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 400

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Val Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro
225 230 235 240

Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 401
<211> 447
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 401

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Val Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Ala Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro
225 230 235 240

Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 402
<211> 447
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 402

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Val Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Ala Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ile Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Gly Gly Pro
225 230 235 240

Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 403
<211> 450
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 403

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Asn
85 90 95

Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
115 120 125

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
145 150 155 160

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
180 185 190

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
195 200 205

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305 310 315 320

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg
340 345 350

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro His His His His His His
435 440 445

His His
450

<210> 404
<211> 450
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 404

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
115 120 125

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
145 150 155 160

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
180 185 190

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
195 200 205

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305 310 315 320

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg
340 345 350

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro His His His His His His
435 440 445

His His
450

<210> 405
<211> 222
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 405

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
115 120 125

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
130 135 140

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
145 150 155 160

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
165 170 175

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
180 185 190

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
195 200 205

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 406
<211> 222
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 406

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Gly Lys Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
115 120 125

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
130 135 140

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
145 150 155 160

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
165 170 175

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
180 185 190

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
195 200 205

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 407
<211> 219
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 407

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Val Ser Met Ser Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gly Gln Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Asn
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Val Ser Trp Tyr Ile Gln Lys Pro Ser Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ile Ser
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Pro Asp Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 408
<211> 219
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 408

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 409
<211> 219
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 409

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 410
<211> 219
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 410

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Pro Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 411
<211> 219
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 411

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Pro Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 412
<211> 219
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 412

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 413
<211> 219
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 413

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Arg Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 414
<211> 219
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 414

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 415
<211> 219
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 415

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Trp Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 416
<211> 219
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 416

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 417
<211> 219
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 417

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Pro Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 418
<211> 219
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 418

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Pro Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 419
<211> 219
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 419

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Pro Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Ile Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Tyr Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 420
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 420

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Val Gln Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 421
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 421

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Lys Lys Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Val Gln Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 422
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 422

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Arg Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 423
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 423

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Arg Val His Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 424
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 424

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Ser Leu Val Gln Pro Gly Lys
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Thr Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gln Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Asn
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 425
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 425

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Leu Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 426
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 426

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Asn Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 427
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 427

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Leu Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 428
<211> 122

<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 428

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Tyr Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 429
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 429

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Tyr Ala Tyr Tyr Gly Val Gln Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 430
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 430

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 431
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 431

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Lys Lys Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 432
<211> 107
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 432

Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 433
<211> 115
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 433

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Glu Met His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 434
<211> 122
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 434

Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Ser Leu Val Gln Pro Gly Lys
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Thr Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gln Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Gln Ile Lys Ala Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Asn
65 70 75 80

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Glu Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Gly Ala Tyr Tyr Gly Val Asp Ala Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 435
<211> 112
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 435

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly
85 90 95

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 436
<211> 20
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 436
tatcagagct tggttgacgg 20

<210> 437
<211> 32
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 437
actcgttgtg gcttagaagc agtaacaata cc 32

<210> 438
<211> 30
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 438
actgtaatcc tagtacttag gaggctgagg 30

<210> 4439
<211> 26
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 439
aatccatctt gttcaatggc cgatcc 26

<210> 440
<211> 30
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 440
tagcagcctt cagatgaaga ggtaggactc 30

<210> 441
<211> 28
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 441
ttgatgtgcc acctcactgc tgcactgg 28

<210> 442
<211> 24
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 442
aactgacaat gggacatcag ctga 24

<210> 443
<211> 24
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> trình tự nhân tạo

<400> 443
atgggactgt tactttacta agat 24

<210> 444
<211> 28
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> trình tự nhân tạo

<400> 444
aagaaatggg tggtattaca cagacacc 28

<210> 445
<211> 31
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> trình tự nhân tạo

<400> 445
tgggccagcg ggaggcagtg ttctccagag g 31

<210> 446
<211> 29

<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> trình tự nhân tạo

<400> 446
tagttcggtg acctggcttt atctactgg 29

<210> 447
<211> 31
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 447
atggctgctt ctagaagcca ccagtctcag g 31

<210> 448
<211> 26
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 448
tgctccacgc ttttgccgga ggacag 26

<210> 449
<211> 25
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 449
taggaggaga acacctggac tactc 25

<210> 450
<211> 28
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 450
agcattctga gaggatgcgg tggaacac 28

<210> 451
<211> 29
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nhân tạo

<400> 451
tgctcggagg gctggatctg ggtccacag 29

<210> 452
<211> 29
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 452
tcatcctgtg gcttgcctct atttgttgc 29

<210> 453
<211> 29
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 453
ttgctatggc actttgagaa acctccatc 29

<210> 454
<211> 26
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 454
aatacttcta ctggagaagc aaagag 26

<210> 455
<211> 27
<212> ADN
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 455
tagttgcatt tagaggactt attatgc 27

<210> 456
<211> 5
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 456

Asp Tyr Glu Met His
1 5

<210> 457
<211> 17
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 457

Ala Ile Asp Gly Pro Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 458
<211> 6
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 458

Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr
1 5

<210> 459
<211> 7
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 459

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
1 5

<210> 460
<211> 6
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 460

Asp Gly Pro Thr Pro Asp
1 5

<210> 461
<211> 8
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 461

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr
1 5

<210> 462
<211> 6
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 462

Thr Asp Tyr Glu Met His
1 5

<210> 463
<211> 13
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 463

Trp Ile Gly Ala Ile Asp Gly Pro Thr Pro Asp Thr Ala
1 5 10

<210> 464
<211> 7
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 464

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr
1 5

<210> 465
<211> 5
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 465

Asn Ala Trp Met His
1 5

<210> 466
<211> 19
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 466

Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Val Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 467
<211> 11
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 467

Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ile
1 5 10

<210> 468
<211> 7
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 468

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Ala
1 5

<210> 469
<211> 8
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 469

Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala
1 5

<210> 470
<211> 13
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 470

Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp Ile
1 5 10

<210> 471
<211> 6
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 471

Ser Asn Ala Trp Met His
1 5

<210> 472
<211> 15
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 472

Trp Val Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr
1 5 10 15

<210> 473
<211> 12
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 473

Arg Tyr Val His Tyr Ala Ala Gly Tyr Gly Val Asp
1 5 10

<210> 474
<211> 16
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>

<223> Trình tự nhân tạo

<400> 474

Arg Ser Ser Gln Pro Leu Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 475
<211> 7
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 475

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 476
<211> 9
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 476

Gly Gln Gly Thr Gln Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 477
<211> 7
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 477

Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr
1 5

<210> 478
<211> 6
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 478

Leu Leu Ile Tyr Lys Val
1 5

<210> 479
<211> 8
<212> PRT
<213> Nhân tạo

<220>
<223> Trình tự nhân tạo

<400> 479

Gly Gln Gly Thr Gln Val Pro Tyr
1 5