



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

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

(11)



1-0040982

(51)⁷ C07K 16/24

(13) B

(21) 1-2016-01215

(22) 05/09/2014

(86) PCT/EP2014/069013 05/09/2014

(87) WO/2015/032932 12/03/2015

(30) 13183193.5 05/09/2013 EP

(45) 26/08/2024 437

(43) 25/08/2016 341A

(73) AB2 BIO SA (CH)

EPFL Innovation Park Building B, 4th floor CH-1015 Lausanne (CH)

(72) PFEIFER, Andrea (CH); DEL VAL, Greg (CH).

(74) Công ty Cổ phần Hỗ trợ phát triển công nghệ Detech (DETECH)

(54) PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH LƯỢNG IL-18 TỰ DO TRONG MẪU VÀ KIT
CHẨN ĐOÁN ĐỂ PHÁT HIỆN IL-18 TỰ DO

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp định lượng IL-18 tự do, kit chẩn đoán để phát hiện IL-18 tự do cũng như các công cụ để điều trị các bệnh và rối loạn liên quan đến Interleukin 18 (IL-18). Cụ thể, sáng chế bộc lộ các kháng thể đặc hiệu cho protein liên kết IL-18 (IL-18BP) và IL-18 tự do dùng để điều trị và để chẩn đoán các chỉ định.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề xuất các công cụ và phương pháp để điều trị bệnh và rối loạn liên quan đến Interleukin 18 (IL-18). Cụ thể, sáng chế bộc lộ các kháng thể đặc hiệu cho protein liên kết IL-18 (IL-18BP) và IL-18 tự do để sử dụng trong phương pháp điều trị và để chẩn đoán cho các chỉ định.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Interleukin-18 (IL-18) còn được gọi là yếu tố cảm ứng interferon-gama là xytokin, được sản xuất bởi các đại thực bào kích hoạt, tế bào Kupffer và các tế bào khác. IL-18 liên kết với thụ thể IL-18 và gây ra miễn dịch qua trung gian tế bào. Khiếm khuyết (ví dụ, loại bỏ) thụ thể xytokin IL-18 hoặc xytokin IL-18 dẫn đến suy giảm hoạt tính của tế bào tiêu diệt tự nhiên (NK) và đáp ứng TH1. Ngoài vai trò sinh lý của nó, IL-18 cũng có thể gây ra các rối loạn viêm nghiêm trọng. Vì vậy, với mục đích chẩn đoán sớm các rối loạn như vậy, cần phải định lượng mức IL-18 tự do trong dịch cơ thể của đối tượng, dự kiến sẽ mắc rối loạn đó.

Tuy nhiên, hiện nay, việc định lượng mức IL-18 trong dịch cơ thể thường được thực hiện bằng cách sử dụng xét nghiệm ELISA, bao gồm các kháng thể không đặc hiệu để phát hiện IL-18 tự do. Kết quả đạt được bằng các xét nghiệm ELISA bị hạn chế bởi tính đặc hiệu của kháng thể chính được sử dụng, kháng thể này liên kết với kháng nguyên đích. Cho đến nay, người ta chỉ có thể phát hiện tổng mức IL-18 bằng cách sử dụng các kháng thể có sẵn trên thị trường, nhưng hiện chưa có kháng thể nào cho IL-18 tự do. Việc phát hiện IL-18 tổng số là không đủ để đánh giá các mức IL-18 tự do, vì IL-18 bị liên kết trong một phức hợp, ví dụ rằng liên kết với protein liên kết IL-18 (IL-18BP) đối mã tự nhiên của nó có ái lực giảm đối với thụ thể IL-18. Hơn nữa, người ta đã biết rằng, mức IL-18 tăng lên thường liên quan đến mức IL-18BP tăng.

Vì những lý do nêu trên, việc xác định IL-18 tổng số là không đủ để chẩn đoán đầy đủ các bệnh liên quan đến IL-18. Điều đó có nghĩa là, để có thể đánh giá mức IL-18 tự do trong dịch cơ thể của đối tượng và chẩn đoán đầy đủ bệnh liên quan đến IL-18, cần phải có công cụ phát hiện liên kết đặc hiệu với IL-18 tự do, nhưng không phát hiện IL-18 được liên kết trong phức hợp. Do đó, hiện tại không có phương pháp điều trị hiệu quả đối với bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18.

Sáng chế đề xuất công cụ phát hiện như vậy ở dạng phân tử liên kết đặc hiệu IL-18, đặc biệt là protein liên kết IL-18 (IL-18BP) hoặc kháng thể, liên kết đặc hiệu với IL-18 tự do, nhưng không liên kết với IL-18 liên kết trong phức hợp. Do đó, sáng chế đáp ứng nhu cầu về công cụ thích hợp để phát hiện IL-18 tự do và chẩn đoán bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 tự do trong dịch cơ thể.

Điều này mở ra cánh cửa cho phương pháp tiếp cận y học được cá nhân hóa tác dụng. Đặc biệt, lần đầu tiên có thể nhận biết quần thể bệnh nhân đang mắc bệnh hoặc rối loạn, có liên quan đến IL-18 tự do trong các mô cơ thể, đặc biệt là trong dịch cơ thể và để điều trị có hiệu quả cho những bệnh nhân nói trên bằng cách cung cấp các phân tử liên kết liên kết đặc hiệu IL-18 tự do.

Do đó, sáng chế này cung cấp thêm các công cụ trị liệu hiệu quả để điều trị và phòng ngừa các bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 trong quần thể bệnh nhân đang mắc các bệnh hoặc rối loạn, có liên quan đến IL-18 tự do trong các mô cơ thể, nhưng đặc biệt trong dịch cơ thể. Sáng chế cũng đáp ứng nhu cầu điều trị có hiệu quả các bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 tự do trong các mô cơ thể, đặc biệt là trong dịch cơ thể bằng cách cung cấp các phân tử liên kết đặc hiệu IL-18, đặc biệt là (1) IL-18BP, và/hoặc (2) các kháng thể, đặc hiệu cho IL-18 tự do và không phản ứng chéo với IL-18 được liên kết trong phức hợp.

Các phân tử liên kết đặc hiệu IL-18, nhưng đặc biệt là IL-18BP và các kháng thể đặc hiệu IL-18 theo sáng chế có thể làm giảm và/hoặc hủy bỏ liên kết

IL-18 tự do với thụ thể của nó và cung cấp lợi ích điều trị cho bệnh nhân mắc các bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18.

Các nghiên cứu lâm sàng và phi lâm sàng gần đây đã xác định vai trò nổi bật của xytokin Interleukin 18 (IL-18) gây viêm trong cơ chế bệnh sinh của bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, và cho thấy IL-18 đóng vai trò là bộ điều hòa tổng thể của các quá trình hủy bỏ và tái định dạng.

Bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), còn được gọi là bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COLD), bệnh đường thở tắc nghẽn mãn tính (COAD), hạn chế luồng khí mãn tính (CAL) và bệnh hô hấp tắc nghẽn mãn tính (CORD), là sự xuất hiện của viêm phế quản mãn tính hoặc khí phế thũng, một cặp bệnh đồng thời phổ biến về phổi, trong đó đường thở bị thu hẹp theo thời gian. Điều này dẫn đến hạn chế luồng không khí đến và đi từ phổi, được coi là không thể hồi phục hoàn toàn, mà trở nên tồi tệ hơn theo thời gian. Hút thuốc là nguyên nhân của 90% COPD ở châu Âu và Hoa Kỳ. Mặc dù không phải tất cả những người hút thuốc sẽ phát triển COPD, nhưng ước tính có 20% sẽ mắc bệnh. Những người hút thuốc bị COPD có tỷ lệ tử vong cao hơn những người không hút thuốc bị COPD. Họ cũng có các triệu chứng về hô hấp thường xuyên hơn (ho, khó thở, v.v..) và suy giảm chức năng phổi hơn những người không hút thuốc. Các yếu tố nguy cơ khác, ví dụ, tính nhạy cảm di truyền (ví dụ, bệnh thiếu hụt $\alpha 1$ -kháng-trypsin cũng như các vùng trên nhiễm sắc thể 4 gần HHIP và trong FAM13A và trên nhiễm sắc thể 15 trong CHRNA và IREB2), bệnh lao trước đó, ô nhiễm không khí, tiếp xúc nghề nghiệp với bụi và khói (các hạt trong không khí), tiếp xúc với khói thuốc, và hít phải khói sinh khói. COPD chủ yếu bao gồm hai bệnh liên quan: viêm phế quản mãn tính và khí phế thũng. Viêm phế quản mãn tính là tình trạng viêm và cuối cùng là sẹo của niêm mạc ống phế quản. Khi phế quản bị viêm và/hoặc bị nhiễm trùng, không khí có thể lưu thông đến và đi từ phổi ít hơn và chất nhầy nặng hoặc đờm sẽ bị ho ra. Khí phế thũng bắt đầu với sự hủy bỏ các phế nang (túi khí trong phổi, nơi trao đổi oxy từ không khí thành cacbon dioxit trong máu) một phần do phản ứng viêm bất thường của phổi với các hạt

hoặc khí độc hại, chủ yếu là khói thuốc lá. Thành của các túi khí mỏng và dễ vỡ. Thiệt hại cho các túi khí là không thể phục hồi và dẫn đến các “lỗ” vĩnh viễn trong các mô của phổi dưới. Khi các túi khí bị hủy bỏ, phổi có thể vận chuyển ngày càng ít oxy đến máu, gây ra tình trạng khó thở. Phổi cũng mất tính đàn hồi của nó, đó là điều quan trọng để giữ cho đường thở luôn thông thoáng. Kết quả là, bệnh nhân cảm thấy rất khó thở ra. Trong cả viêm phế quản mãn tính và khí phế thũng, tắc nghẽn và phá hủy mô nói chung là không phục hồi và tiến triển. Bệnh nhân COPD thường gặp các đợt kịch phát. Thuật ngữ "đợt kịch phát" đề cập đến sự trầm trọng thêm của các triệu chứng hoặc sự gia tăng mức độ nghiêm trọng của bệnh. Thời gian của đợt kịch phát có thể thay đổi rất nhiều - từ vài giờ đến vài ngày. Các đợt kịch phát có thể làm tăng các triệu chứng đặc trưng cho quá trình hô hấp. Bệnh nhân có thể cảm thấy khó thở ngày càng tăng, ho có đờm với lượng đờm thay đổi, và sốt. Đờm có thể tăng lên hoặc có nhiều mủ hơn và đổi màu. Người bệnh cũng có thể gặp các triệu chứng không đặc hiệu như khó chịu, mệt mỏi, mất ngủ, buồn ngủ, hoặc trầm cảm. Các đợt kịch phát của COPD thường do nhiễm trùng đường hô hấp dưới. Các nguyên nhân phổ biến nhất của nhiễm trùng là: vi khuẩn Gram dương và vi khuẩn Gram âm hiếu khí, vi khuẩn không điển hình, virus đường hô hấp, virus gây chứng cảm lạnh, virus cúm, RSV, hoặc sự kết hợp của các tác nhân gây bệnh. Các đợt kịch phát do virus thường nghiêm trọng hơn, kéo dài hơn, và có liên quan đến mức độ viêm và mất chức năng phổi nhiều hơn đợt kịch phát do các nguyên nhân khác (Wedzicha, 2004, PATS; Seemungal et al., 2001, AM. J. RCCM; Tan et al., 2003, Am. J. Med. Donaldson et al., 2000, Thorax). Mỗi bệnh nhân COPD có khả năng trải qua từ 1 đến 4 đợt kịch phát một năm. Trong khi nhiều bệnh nhân trải qua những đợt kịch phát này, người ta ước tính rằng họ chỉ báo cáo khoảng 50% tổng số đợt cho bác sĩ. Các đợt kịch phát thường xuyên liên quan đến chất lượng cuộc sống kém và gánh nặng kinh tế cao.

Các nghiên cứu trong các mô bệnh COPD đã đề cập đến tình trạng viêm phổi do IL-18 trong bệnh khí phế thũng phổi và viêm phổi do khói thuốc lá (CS)

và trong bệnh khí phế thũng phổi và viêm phổi do hút thuốc thụ động và mối liên quan của nó với COPD ở người hút thuốc, chứng minh rằng IL-18 và các đường dẫn tín hiệu IL-18 thông qua IL-18R được kích hoạt đáng kể khi tiếp xúc với khói thuốc là ở các mô hình động vật và trong tình trạng viêm phổi ở người và mở rộng khoảng không trong bệnh khí phế thũng phổi do khói thuốc lá. Kết quả chứng minh vai trò quan trọng của đại thực bào phế nang như là nguồn tế bào chính từ giải phóng IL-18.

IL-18 được chứng minh là gây ra sự tái định dạng đường thở và mạch máu ở chuột chuyển gen IL-18 cảm ứng, đặc hiệu cho phổi cũng như viêm mô, khí phế thũng, chuyển sản chất nhầy, và phì đại tâm thất phải ở tim.

IL-18 còn được chứng minh là gây ra bệnh khí phế thũng và phản ứng độc tế bào thông qua cơ chế phụ thuộc IFN γ , tái định dạng đường thở bằng sợi xơ, chuyển sản chất nhầy, và tái định dạng mạch máu thông qua đường phụ thuộc IL-17A- và IL-13. Có những tương tác quan trọng giữa các đường này với IL-18- gây ra IL-13 thông qua cơ chế phụ thuộc IL-17A và IFN γ và IL-17A/IL-13 đáp ứng điều chỉnh ngược lại lẫn nhau. Do đó, IL-18 là trung tâm của việc điều chế nhiều đợt viêm.

Mức IL-18 toàn thân ở bệnh nhân COPD cho thấy đại thực bào phế nang là nguồn tuần hoàn IL-18 trong COPD và cho thấy IL-18 tăng cao trong tuần hoàn và trong đờm gây ra của bệnh nhân COPD.

Mức IL-18 trong huyết thanh tăng cao trong các bệnh đi kèm với COPD được cho là có liên quan đến tình trạng viêm toàn thân.

Hơn nữa, ương quan chặt chẽ được tìm thấy giữa mức IL-18 trong huyết thanh và chức năng phổi.

Nhìn chung, các kết quả lâm sàng và phi lâm sàng rõ ràng ủng hộ việc ức chế/trung hòa IL-18 như một mục tiêu ngược dòng tiềm năng, do đó ngăn cản hoặc hạn chế cả quá trình hủy bỏ và tái định dạng thường dẫn đến biểu hiện và tiến triển của bệnh COPD.

Có thể kết luận từ các kết quả điều tra lâm sàng gần đây về mức IL-18 trong tuần hoàn và trong đờm của bệnh nhân COPD, rằng mức IL-18 trong phổi tăng cao đáng kể ở bệnh nhân COPD liên quan đến mức độ nghiêm trọng của bệnh.

Dữ liệu về IL-18 trong đờm của bệnh nhân COPD cho thấy rằng đại thực bào phế nang là nguồn chủ yếu của IL-18 trong COPD và IL-18 biểu hiện quá mức đáng kể trong phổi của bệnh nhân COPD so với các đối chứng.

Các nghiên cứu gần đây về vai trò của thể gây viêm NLRP3 trong việc kích thích hoạt hóa caspase-1 tiếp theo là giải phóng dạng trưởng thành của các xytokin gây viêm IL-1b và IL-18 đã góp phần làm sáng tỏ thêm ảnh hưởng của thuốc lá trong viêm đường thở (Rastrick et al., 2013).

Ở những con chuột tiếp xúc với khói thuốc lá hai lần mỗi ngày, sự hoạt hóa caspase-1 và giải phóng IL-18 đã được kiểm tra (Eltom et al., 2011).

Sự điều chỉnh tăng lên của IL-18 do khói thuốc thông qua sự hoạt hóa caspase-1 được chứng minh bằng cách so sánh ảnh hưởng của khói thuốc lá và tiếp xúc với không khí bình thường.

Nhìn chung, IL-18 thể hiện như một mục tiêu ngược dòng ưa thích cho các phương pháp điều trị COPD trong tương lai có khả năng can thiệp vào quá trình hủy bỏ và tái định dạng trong phổi COPD, do đó là một ứng cử viên đầy hứa hẹn cho phương thức điều trị sửa đổi bệnh trong COPD.

Do đó, nó được đề xuất trong WO2008/150431 A1 để điều trị COPD và các bệnh đi kèm liên quan, do tăng IL-18, IFN- γ , hoặc PKR ở các đối tượng bị COPD và các bệnh đi kèm liên quan bằng cách sử dụng cho các đối tượng này chất ức chế IL-18, chất ức chế IL-18R α , và chất ức chế IFN γ , chất ức chế PKR, và sự kết hợp bất kỳ của nó.

Ví dụ, sự ức chế IL-18 bởi các kháng thể đơn dòng, hướng đích báo hiệu IL-18 bằng cách phong tỏa thụ thể dẫn đến thời gian tác dụng kéo dài do thời gian bán hủy kéo dài của các tác nhân này, do đó không chỉ hành động trên các hoạt động IL-18 có hại mà còn cản trở các hoạt động có lợi cho sự bảo vệ của

vật chủ, do đó dẫn đến các tác dụng phụ không mong muốn về phản ứng đối với tác nhân gây bệnh (virut, vi khuẩn, nấm và ký sinh trùng khác) bằng cách ức chế IFN-gama và tế bào lympho T trợ giúp loại 1.

Điều đáng ngạc nhiên là trong bối cảnh của sáng chế hiện nay có thể tránh được những tác dụng phụ không mong muốn này bằng cách sử dụng các phương pháp tiếp cận thay thế, tức là protein liên kết IL-18 (IL-18BP) có trong tự nhiên, có ái lực liên kết cao đối với Interleukin 18 (IL-18) và phương thức hoạt động khác về cơ bản hướng đích IL-18 được so sánh, ví dụ, với các kháng thể đơn dòng đã biết.

Theo một phương án cụ thể của sáng chế, protein liên kết IL-18 (IL-18BP) có ái lực liên kết nằm trong khoảng từ 20 pM đến 30 pM, khi được xác định trong thiết lập BIAcore như được trình bày trong Ví dụ 4.4.2.

Do đó, theo một phương án của sáng chế đề cập đến phân tử liên kết đặc hiệu IL-18, liên kết đặc hiệu với IL-18 tự do mà không phản ứng chéo với IL-18 được liên kết trong phức hợp (sau đây được gọi là “phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do”), đặc biệt là phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do là chất ức chế IL-18, làm giảm và/hoặc hủy bỏ sự liên kết IL-18 tự do với các thụ thể của nó (sau đây được gọi là “chất ức chế IL-18”), đặc biệt là IL-18BP, để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 ở đối tượng được chẩn đoán là có mức IL-18 tự do bất thường và/hoặc tỷ lệ IL-18/IL-18BP tự do bất thường trong dịch cơ thể so với các mức trong dịch cơ thể của đối tượng khỏe mạnh.

Đặc biệt, mức IL-18 tự do bất thường trong dịch cơ thể vượt quá mức trong dịch cơ thể của đối tượng khỏe mạnh là 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, hoặc hơn 100%.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do, đặc biệt là chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, để sử dụng theo sáng chế và như được mô tả ở đây, trong đó mức IL-18 tự do bất thường nêu trên trong các mẫu cơ thể, đặc biệt là trong dịch cơ thể, đã được xác định bằng cách sử dụng phân tử liên kết đặc hiệu IL-18, đặc biệt là protein liên kết IL-18 (IL-

18BP) hoặc kháng thể, liên kết đặc hiệu với IL-18 tự do, nhưng không liên kết với IL-18 được liên kết trong phức hợp theo sáng chế và như được mô tả ở đây theo một số phương án nhất định.

Hơn nữa, theo một phương án, sáng chế đề xuất phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do, đặc biệt là chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó đối tượng được điều trị thuộc nhóm đối tượng đã được xác định là có mức IL-18 tự do tăng cao và/hoặc tỷ lệ IL-18/IL-18BP tự do bất thường trong mẫu cơ thể, đặc biệt là trong mẫu được chọn từ nhóm bao gồm các dịch tuần hoàn dịch rửa phế quản - phế nang (BALF), dịch tiết, mô sinh thiết và đồng nhất, đặc biệt là huyết thanh, nước tiểu, nước mắt, nước bọt, mật, mồ hôi, hơi thở, thở ra, đờm, dịch phế quản phế nang, bã nhờn, tế bào, tuyến hạch, niêm mạc, và mô tiết so với mức trong các mẫu được lấy từ các đối tượng khỏe mạnh.

Mức IL-18 tự do tăng cao nêu trên trong mẫu biểu mẫu bệnh nhân hoặc đối tượng mắc bệnh là ≥ 5 pg/mL và lên đến 10000 pg/mL hoặc cao hơn. Đặc biệt, mức IL-18 tự do tăng cao nêu trên trong mẫu biểu mẫu bệnh nhân hoặc đối tượng mắc bệnh nằm trong khoảng từ ≥ 5 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 100 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 200 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 300 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 400 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 500 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 600 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 700 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 800 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 900 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 1000 đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 1500 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 2000 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 3000 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 4000 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 5000 pg/mL đến 10000 pg/mL. Lượng IL-18 tự

do trong huyết thanh của đối tượng khỏe mạnh, đặc biệt là người khỏe mạnh là ≤ 5 pg/mL, đặc biệt là ≤ 4 pg/mL, đặc biệt là ≤ 1 pg/mL, đặc biệt là $\leq 0,5$ pg/mL, đặc biệt là dưới ngưỡng phát hiện.

Tuy nhiên, một mục tiêu khác của sáng chế là cung cấp phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do, đặc biệt là chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 nêu trên được chọn từ nhóm bao gồm bệnh Still ở người trưởng thành, bệnh Still ở trẻ vị thành niên, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), chấn thương phổi liên quan đến truyền máu, loạn sản phế quản phổi (BPD), hội chứng suy hô hấp cấp tiến triển (ARDS), bệnh phổi kẽ (ILD), xơ phổi vô căn, xơ nang, tăng áp động mạch phổi, hen suyễn, giãn phế quản, suy tim, xơ cứng cột bên teo cơ (ALS), bệnh khô mắt (DED), viêm giác mạc, loét và mài mòn giác mạc, tân mạch giác mạc, tân mạch nội nhãn bệnh lý, bệnh viêm móng mắt, bệnh tăng nhãn áp, thoái hóa điểm vàng, hội chứng Sjögren, viêm màng bồ đào tự miễn, bệnh Behçet, viêm kết mạc, viêm kết mạc dị ứng, viêm da mí mắt, bệnh tiểu đường typ 2, viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD), viêm gan nhiễm mỡ, cấy ghép nội tạng rắn và huyết học, chấn thương tái tưới máu do thiếu máu cục bộ, sốt Địa Trung Hải có tính gia đình, hội chứng chu kỳ liên quan đến thụ thể yếu tố hoại tử khối u 1, hội chứng sốt chu kỳ liên quan đến cryopyrin, hội chứng tăng IgD, bệnh gút, hội chứng Schnitzler, bệnh u hạt của Wegener còn gọi là bệnh u hạt với viêm đa mạch (GPA), viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh Crohn, viêm loét đại tràng, các liệu pháp tế bào gốc và bệnh liên quan đến globulin miễn dịch-4 (IgG4)

Theo một phương án cụ thể, sáng chế đề xuất phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do, đặc biệt là chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 nêu trên do hút thuốc hoặc tiếp xúc với khói thuốc thụ động, đặc biệt là tiếp xúc với khói thuốc lá.

Theo một phương án cụ thể khác, sáng chế đề xuất phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do, đặc biệt là chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 nêu trên do nhiễm virus.

Tuy nhiên, mục tiêu khác của sáng chế là cung cấp phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do, đặc biệt là chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 nêu trên là biểu hiện toàn thân do IL-18 của chúng viêm và các bệnh đi kèm được chọn từ nhóm bao gồm khí phế thũng, viêm mô, phá hủy mô, cắt bỏ phổi, biến mất mạch máu, chết tế bào nội mô, chuyển sản niêm mạc, phì đại tim, giảm VEGF trong mô phổi, mất mạch phổi, cơ mạch hóa, tái định dạng mạch, lắng đọng collagen, các lớp đàn hồi không ổn định trong phổi, tái định dạng đường thở bằng sợi xơ, mở rộng khoảng không, tái định dạng mãn tính đường thở và mạch phổi và giảm chức năng phổi.

Tuy nhiên, mục tiêu khác của sáng chế là cung cấp phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do, đặc biệt là chất ức chế IL-18 để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, là kháng thể, đặc biệt là kháng thể đặc hiệu cho IL-18 tự do, đặc biệt là kháng thể đối kháng, ngăn cản liên kết IL-18 tự do với thụ thể IL-18, đặc biệt là liên kết IL-18 tự do với IL-18R α .

Kháng thể đặc hiệu IL-18 theo sáng chế bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó, liên kết với IL-18 tại vị trí liên kết IL-18BP hoặc trong vùng lân cận vị trí liên kết IL-18BP, hoặc kháng thể thích hợp, liên kết với ít nhất hai epitop trên phân tử IL-18, bao gồm các axit amin không liên tục kết hợp với nhau trong cấu trúc ba chiều và tương tác với vị trí gắn kháng nguyên của thụ thể sao cho vị trí liên kết IL-18BP trên phân tử IL-18 bị chặn.

Theo một phương án, kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó theo sáng chế và như được

mô tả ở đây theo các phương án khác nhau liên kết protein IL-18 tự do, nhưng không liên kết với phức hợp IL-18/IL-18BP.

Cụ thể, kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó theo sáng chế cho thấy phản ứng chéo với phức hợp IL-18/IL-18BP giữa $\leq 0,01\%$ và $\leq 0,05\%$, đặc biệt là giữa $\leq 0,1\%$ và $\leq 0,2\%$, đặc biệt là giữa $\leq 0,2\%$ và $\leq 0,5\%$, đặc biệt là giữa $\leq 0,5\%$ và $\leq 1\%$, đặc biệt là giữa $\leq 1\%$ và $\leq 2\%$ như theo xác định của ELISA cạnh tranh.

Theo một phương án cụ thể, kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó theo sáng chế cho thấy phản ứng chéo với phức hợp IL-18/IL-18BP $\leq 0,1\%$ như theo xác định của ELISA cạnh tranh.

Theo một phương án, kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên cản trở không gian liên kết IL-18BP với IL-18.

Theo phương án khác nữa, kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên liên kết đặc hiệu với một epitop duy nhất, sự kết hợp của hai epitop hoặc sự kết hợp của ba epitop bao gồm trong trình tự được chọn từ nhóm trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 và SEQ ID NO: 3, tương ứng.

Theo một phương án cụ thể, kháng thể theo sáng chế liên kết đặc hiệu với một epitop duy nhất, được bao gồm trong trình tự được chọn từ nhóm trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 và SEQ ID NO: 3.

Theo một phương án cụ thể khác, kháng thể theo sáng chế liên kết đặc hiệu với hai epitop, được bao gồm trong trình tự được chọn từ nhóm trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 và SEQ ID NO: 3, tương ứng.

Đặc biệt, kháng thể liên kết với hai epitop được bao gồm trong trình tự (a) SEQ ID NO: 1 và SEQ ID NO: 2 (b) SEQ ID NO: 1 và SEQ ID NO: 3 (c) SEQ ID NO: 2 và SEQ ID NO: 3, tương ứng.

Theo một phương án cụ thể khác, kháng thể theo sáng chế liên kết đặc hiệu với ba epitop, được bao gồm trong trình tự SEQ ID NO:1, SEQ ID NO: 2 và SEQ ID NO: 3, tương ứng.

Theo một phương án, sáng chế cung cấp kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, kháng thể này liên kết đặc hiệu với một epitop duy nhất, sự kết hợp của hai epitop hoặc sự kết hợp của ba epitop được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 và SEQ ID NO: 6.

Đặc biệt, sáng chế còn đề cập đến kháng thể đặc hiệu IL-18 nêu trên, bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó, trong đó epitop nêu trên có trình tự có độ đồng nhất 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% trình tự so với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO:5 hoặc SEQ ID NO: 6.

Theo một phương án cụ thể, kháng thể theo sáng chế liên kết đặc hiệu với một epitop duy nhất, được bao gồm trong trình tự được chọn từ nhóm trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 và SEQ ID NO: 6.

Theo một phương án cụ thể khác, kháng thể theo sáng chế liên kết đặc hiệu với hai epitop, được bao gồm trong trình tự được chọn từ nhóm trình tự được nêu trong SEQ ID NO:4, SEQ ID NO: 5 và SEQ ID NO: 6.

Đặc biệt, kháng thể liên kết với hai epitop được bao gồm trong trình tự (a) SEQ ID NO: 4 và SEQ ID NO: 5 (b) SEQ ID NO: 4 và SEQ ID NO: 6, tương ứng (c) SEQ ID NO: 5 và SEQ ID NO: 6, tương ứng.

Theo một phương án cụ thể khác, kháng thể theo sáng chế liên kết đặc hiệu với ba epitop, được bao gồm trong trình tự SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 và SEQ ID NO: 6, tương ứng.

Theo một phương án cụ thể, kháng thể theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc phần liên kết với kháng nguyên của nó bao gồm ít nhất một, ít nhất hai hoặc cả ba vùng xác định tính bổ thể (các CDR) của vùng biến đổi chuỗi nhẹ như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 10, 12, 14, 16, 17, 19, 22, 24 và 26, tương ứng và/hoặc ít nhất một, ít nhất hai hoặc cả ba vùng xác định tính bổ thể (các CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 9, 11, 13, 15, 18, 20, 21, 23, và 25, tương ứng, trong đó kháng thể này, kháng thể tương đương hoặc phần liên kết với kháng nguyên của nó liên kết với protein IL-18 tự do, đặc biệt là tại vị trí liên kết IL-18BP hoặc trong vùng lân cận vị trí liên kết IL-18BP, nhưng không liên kết với phức hợp IL-18/IL-18BP.

Cụ thể, kháng thể theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc phần liên kết với kháng nguyên của nó bao gồm các vùng xác định bổ thể (các CDR) của vùng biến đổi chuỗi nhẹ như được nêu trong các SEQ ID NO: 10, 12, 14, 16, 17, 19, 22, 24 và 26 tương ứng và các vùng xác định bổ thể (các CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng như được nêu trong các SEQ ID NO: 9, 11, 13, 15, 18, 20, 21, 23, và 25 tương ứng, trong đó kháng thể này, kháng thể tương đương hoặc phần liên kết với kháng nguyên của nó liên kết với protein IL-18 tự do, đặc biệt là tại vị trí liên kết IL-18BP hoặc trong vùng lân cận vị trí liên kết IL-18BP, nhưng không liên kết với phức hợp IL-18/IL-18BP ở mức độ đáng kể bất kỳ.

Theo một phương án cụ thể, kháng thể theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc phần liên kết với kháng nguyên của nó bao gồm ít nhất một, ít nhất hai hoặc cả ba vùng xác định tính bổ thể (các CDR) của vùng biến đổi chuỗi nhẹ như được trình bày trong Fig. 11, và/hoặc ít nhất một, ít nhất hai hoặc cả ba vùng xác định tính bổ thể (các CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng như được trình bày trong Fig. 11, trong đó kháng thể này, kháng thể tương đương hoặc phần liên kết với kháng nguyên của nó liên kết với protein IL-18 tự do, đặc biệt

là tại vị trí liên kết IL-18BP hoặc trong vùng lân cận vị trí liên kết IL-18BP, nhưng không liên kết với phức hợp IL-18/IL-18BP.

Đặc biệt, kháng thể theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc phần liên kết với kháng nguyên của nó bao gồm các vùng xác định bổ thể (các CDR) của vùng biến đổi chuỗi nhẹ như được trình bày trong Fig. 11, và vùng xác định bổ thể (các CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng như được trình bày trong Fig. 11, trong đó kháng thể này, kháng thể tương đương hoặc phần liên kết với kháng nguyên của nó liên kết với protein IL-18 tự do, đặc biệt là tại vị trí liên kết IL-18BP hoặc trong vùng lân cận vị trí liên kết IL-18BP, nhưng không liên kết với phức hợp IL-18/IL-18BP ở mức độ đáng kể bất kỳ.

Theo một phương án cụ thể của sáng chế, vùng xác định bổ thể (các CDR) được xác định theo cách đánh số gốc miền biến đổi như trong Kabat.

Theo một phương án cụ thể khác theo sáng chế, vùng xác định bổ thể (các CDR) được xác định theo cách đánh số gốc miền biến đổi như trong Chothia.

Theo một phương án cụ thể khác theo sáng chế, vùng xác định bổ thể (các CDR) được xác định bởi hệ thống IMGT.

Kháng thể theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc phần liên kết với kháng nguyên của nó bao gồm vùng xác định bổ thể (các CDR) như sau:

a. CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự như được thể hiện trong SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, và SEQ ID NO: 29, tương ứng; và CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự như được thể hiện trong SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, và SEQ ID NO: 32, tương ứng; hoặc

b. CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự như được thể hiện trong SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, và SEQ ID NO: 35, tương ứng; và CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự như

được thể hiện trong SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, và SEQ ID NO: 38, tương ứng; hoặc

c. CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự như được thể hiện trong SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, và SEQ ID NO: 41, tương ứng; và CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự như được thể hiện trong SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, và SEQ ID NO: 44, tương ứng; hoặc

d. CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự như được thể hiện trong SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, và SEQ ID NO: 47, tương ứng; và CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự như được thể hiện trong SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, và SEQ ID NO: 50, tương ứng; hoặc

e. CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự như được thể hiện lần lượt trong SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, và SEQ ID NO: 47, tương ứng; và CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự như được thể hiện trong SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, và SEQ ID NO: 53, tương ứng; hoặc

f. CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự như được thể hiện trong SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, và SEQ ID NO: 56, tương ứng; và CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự như được thể hiện trong SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, và SEQ ID NO: 59, tương ứng; hoặc

g. CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự như được thể hiện trong SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61, và SEQ ID NO: 62, tương ứng; và CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự như được thể hiện trong SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, và SEQ ID NO: 68, tương ứng; hoặc

h. CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự như được thể hiện trong SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, và SEQ ID NO: 65, tương

ứng; và CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự như được thể hiện trong SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, và SEQ ID NO: 68, tương ứng; hoặc

i. CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự như được thể hiện trong SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, và SEQ ID NO: 71, tương ứng; và CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự như được thể hiện lần lượt trong SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 73, và SEQ ID NO: 74, tương ứng; hoặc

j. CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự như được thể hiện trong SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, và SEQ ID NO: 77, tương ứng; và CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự như được thể hiện trong SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, và SEQ ID NO: 80, tương ứng.

k. CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự như được trình bày trong Fig. 11; và CDR1, CDR2, và CDR 3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự như được trình bày trong Fig. 11.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể cho thấy sự biến đổi trong một hoặc nhiều trình tự CDR đến mức kháng thể kết hợp với các CDR biến thể này vẫn có hoạt tính liên kết đặc hiệu của kháng thể theo sáng chế bao gồm liên kết IL-18 tự do protein, đặc biệt là tại vị trí liên kết IL-18BP hoặc trong vùng lân cận vị trí liên kết IL-18BP, nhưng không liên kết với phức hợp IL-18/IL-18BP.

Theo một phương án cụ thể khác theo sáng chế, kháng thể này là kháng thể của người hoặc được làm tương thích với người, cụ thể là kháng thể của người hoặc được làm tương thích với người, trong đó các CDR đã được đưa vào trong “giàn” kháng thể của người được có nguồn gốc từ một (hoặc nhiều) (các) globulin miễn dịch của người.

Theo một phương án cụ thể khác nữa, sáng chế đề xuất kháng thể bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc phần liên kết với kháng nguyên của nó bao gồm ít nhất vùng biến đổi chuỗi nhẹ có độ đồng nhất 75%,

80%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% trình tự so với trình tự được thể hiện trong các SEQ ID NO: 10, 12, 14, 16, 17, 19, 22, 24, 26, và Fig. 11, tương ứng và/hoặc ít nhất vùng biến đổi chuỗi nặng có độ đồng nhất 75%, 80%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% trình tự so với trình tự được nêu trong các SEQ ID NO: 9, 11, 13, 15, 18, 20, 21, 23, 25 và Fig. 11, tương ứng, trong đó kháng thể này, kháng thể tương đương hoặc phần liên kết với kháng nguyên của nó liên kết với protein IL-18 tự do, đặc biệt là tại vị trí liên kết IL-18BP hoặc trong vùng lân cận vị trí liên kết IL-18BP, nhưng không liên kết với phức hợp IL-18/IL-18BP.

Theo một phương án cụ thể khác nữa, sáng chế đề xuất kháng thể bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc phần liên kết với kháng nguyên của nó bao gồm ít nhất vùng biến đổi chuỗi nhẹ có độ đồng nhất 75%, 80%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% trình tự so với trình tự được nêu trong các SEQ ID NO: 10, 12, 14, 16, 17, 19, 22, 24, 26, và Fig. 11 và/hoặc ít nhất vùng biến đổi chuỗi nặng có độ đồng nhất 75%, 80%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% trình tự so với trình tự được nêu trong các SEQ ID NO: 9, 11, 13, 15, 18, 20, 21, 23, 25 và Fig. 11 với điều kiện là trình tự của các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ và/hoặc của vùng biến đổi chuỗi nặng không thay đổi và trong đó kháng thể nói trên, kháng thể tương đương hoặc phần liên kết với kháng nguyên của nó liên kết với protein IL-18 tự do, đặc biệt là tại vị trí liên kết IL-18BP hoặc trong vùng lân cận vị trí liên kết IL-18BP, nhưng không liên kết với phức hợp IL-18/IL-18BP.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên,

trong đó kháng thể này hoặc một phần của nó là kháng thể đơn dòng hoặc kháng thể đa dòng.

Theo một phương án cụ thể, sáng chế đề xuất kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó kháng thể này hoặc một phần của nó là kháng thể dạng khảm, chuỗi đơn, đặc hiệu kép, mô phỏng hóa, của người và được làm tương thích với người.

Cụ thể, kháng thể này là kháng thể được làm tương thích với người, đặc biệt là kháng thể được làm tương thích với người, trong đó một số axit amin trong khung và miền không đổi của vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng và/hoặc vùng không đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng đã bị đột biến để tránh hoặc hủy bỏ phản ứng miễn dịch ở người.

Cụ thể, kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc phần liên kết với kháng nguyên của nó theo sáng chế cho thấy phản ứng chéo với phức hợp IL-18/IL-18BP giữa $\leq 0,01\%$ và $\leq 0,05\%$, đặc biệt là giữa $\leq 0,1\%$ và $\leq 0,2\%$, đặc biệt là giữa $\leq 0,2\%$ và $\leq 0,5\%$, đặc biệt là giữa $\leq 0,5\%$ và $\leq 1\%$, đặc biệt là giữa $\leq 1\%$ và $\leq 2\%$ theo xác định của ELISA cạnh tranh.

Theo một phương án cụ thể, kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc phần liên kết với kháng nguyên của nó theo sáng chế cho thấy phản ứng chéo với phức hợp IL-18/IL-18BP $\leq 0,1\%$ theo xác định của ELISA cạnh tranh.

Theo một phương án cụ thể khác sáng chế đề xuất kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó kháng thể này hoặc một phần của nó liên kết với IL-18 của người.

Tuy nhiên, mục tiêu khác của sáng chế là đề xuất kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó

như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó liên kết của IL-18 với nhóm con thụ thể IL-18 alpha (IL-18R α) và beta (IL-18R β), đặc biệt là liên kết với IL-18R α giảm ít nhất 5%, đặc biệt là ít nhất 10%, đặc biệt là ít nhất 15%, đặc biệt là ít nhất 20%, đặc biệt là ít nhất 25%, đặc biệt là ít nhất 30%, đặc biệt là ít nhất 40%, đặc biệt là ít nhất 45%, đặc biệt là ít nhất 50%, đặc biệt là ít nhất 55%, đặc biệt là ít nhất 60%, đặc biệt là ít nhất 65%, đặc biệt là ít nhất 70, đặc biệt là ít nhất 75, đặc biệt là ít nhất 80, đặc biệt là ít nhất 85%, đặc biệt là ít nhất 90%, đặc biệt là ít nhất 95%, đặc biệt là bằng 96%, đặc biệt là bằng 97%, đặc biệt là 98%, đặc biệt là 99%, đặc biệt là 100%.

Mục tiêu khác nữa của sáng chế là đề xuất phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do, đặc biệt là chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 trong quần thể các đối tượng được chẩn đoán có mức IL-18 tự do bất thường và/hoặc tỷ lệ IL-18/IL-18BP tự do bất thường trong các mẫu cơ thể, đặc biệt là trong dịch cơ thể, so với các mức trong dịch cơ thể của đối tượng khỏe mạnh, trong đó phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do này, chất ức chế, kháng thể đặc hiệu IL-18BP hoặc IL-18 hoặc một phần của nó trung hòa tác dụng của IL-18 tự do bằng cách hạn chế hoặc ngăn chặn IL-18 liên kết với thụ thể IL-18 (IL-18R), đặc biệt là IL-18 tự do liên kết với IL-18R α .

Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó kháng thể này hoặc các phần của nó

a) liên kết đặc hiệu với một epitop duy nhất, sự kết hợp của hai epitop hoặc sự kết hợp của ba epitop bao gồm trong trình tự được chọn từ nhóm trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 và SEQ ID NO: 3; và/hoặc

b) liên kết đặc hiệu với epitop, trong đó có độ đồng nhất trình tự 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO:5 hoặc SEQ ID NO: 6; và

c) liên kết đặc hiệu với IL-18 tại vị trí liên kết IL-18BP hoặc trong vùng lân cận vị trí liên kết IL-18BP; và

d) liên kết đặc hiệu với protein IL-18 tự do, nhưng không liên kết với phức hợp IL-18/IL-18BP; và

e) cản trở không gian liên kết IL-18BP với IL-18; và

f) giảm liên kết của IL-18 với thụ thể IL-18, đặc biệt là liên kết với IL-18R α ít nhất 5%, đặc biệt là ít nhất 10%, đặc biệt là ít nhất 15%, đặc biệt là ít nhất 20%, đặc biệt là ít nhất 25%, đặc biệt là ít nhất 30%, đặc biệt là ít nhất 40%, đặc biệt là ít nhất 45%, đặc biệt là ít nhất 50%, đặc biệt là ít nhất 55%, đặc biệt là ít nhất 60%, đặc biệt là ít nhất 65%, đặc biệt là ít nhất 70, đặc biệt là ít nhất 75, đặc biệt là ít nhất 80, đặc biệt là ít nhất 85%, đặc biệt là ít nhất 90%, đặc biệt là ít nhất 95%, đặc biệt là 100%.

Đặc biệt, kháng thể được xác định cụ thể nêu trên cho thấy phản ứng chéo với phức hợp IL-18/IL-18BP giữa 0,01% và $\leq 0,05\%$, đặc biệt là giữa $\leq 0,1\%$ và $\leq 0,2\%$, đặc biệt là giữa $\leq 0,2\%$ và $\leq 0,5\%$, đặc biệt là giữa $\leq 0,5\%$ và $\leq 1\%$, đặc biệt là giữa $\leq 1\%$ và $\leq 2\%$ theo xác định của ELISA cạnh tranh.

Theo một số phương án nhất định của sáng chế, IL-18BP và/hoặc kháng thể đặc hiệu IL-18 tự do như được bộc lộ theo một trong những phương án bất kỳ có thể được sử dụng làm chất ức chế IL-18.

Theo một số phương án khác của sáng chế, IL-18BP và/hoặc kháng thể đặc hiệu IL-18 tự do như được bộc lộ theo một trong những phương án bất kỳ có thể được sử dụng làm phân tử bắt giữ, trong thử nghiệm để phát hiện IL-18 tự do trong mẫu cơ thể, đặc biệt là mẫu được chọn từ nhóm bao gồm dịch tuần hoàn dịch rửa phế quản - phế nang (BALF), dịch tiết, mô sinh thiết và đồng nhất, đặc biệt là huyết thanh, nước tiểu, nước mắt, nước bọt, mật, mồ hôi, hơi thở, thở ra, đờm, dịch phế quản phế nang, bã nhờn, tế bào, tuyến, niêm mạc, và mô tiết.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến polynucleotit mã hóa kháng thể theo sáng chế như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau.

Theo một phương án, polynucleotit mã hóa chuỗi nặng biến đổi được nêu trong các SEQ ID NO: 9, 11, 13, 15, 18, 20, 21, 23, 25 và Fig. 11.

Theo một phương án, polynucleotit mã hóa chuỗi nhẹ biến đổi được nêu trong các SEQ ID NO: 10, 12, 14, 16, 17, 19, 22, 24, 26, và Fig. 11.

Theo một phương án, polynucleotit mã hóa vùng CDR như được thể hiện trong các SEQ ID NO: 27 - 80.

Đặc biệt, sáng chế đề cập đến polynucleotit mã hóa chuỗi nặng và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể theo sáng chế có trình tự có độ đồng nhất 75%, 80%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% trình tự so với trình tự được trình bày trong Fig. 11.

Hơn nữa, sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18 theo sáng chế để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó chất ức chế là protein liên kết IL-18 (IL-18BP), đặc biệt là IL-18BP của người (hIL-18 BP), đặc biệt là IL-18BP bao gồm tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó, đặc biệt là IL-18BP như được trình bày trong SEQ ID NO: 7.

Ngoài ra còn có các biến thể phiên mã mã hóa IL-18BP.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chất ức chế IL-18 để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó chất ức chế là protein liên kết IL-18 (IL-18BP) có độ đồng nhất trình tự 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 7.

Tuy nhiên, mục tiêu khác của sáng chế là cung cấp chất ức chế IL-18 để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó việc điều trị bao gồm phòng ngừa, ngăn chặn, giảm nhẹ hoặc đảo ngược các triệu chứng liên quan đến bệnh hoặc rối loạn nêu trên.

Theo một phương án nữa, sáng chế đề xuất chất ức chế IL-18 để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó liên kết IL-18 bị hạn chế hoặc bị ức chế, đặc biệt là liên kết IL-18 tự do với IL-18R, nhưng đặc biệt là liên kết IL-18 tự do với IL-18R α .

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất chất ức chế IL-18 để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó đường tín hiệu xuôi dòng phụ thuộc IL-18 được sửa đổi, đặc biệt là bị ức chế.

Vẫn theo phương án khác, sáng chế đề xuất chất ức chế IL-18 để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó sự biểu hiện tăng của IFN γ , IL-13 hoặc IL-17A được sửa đổi, đặc biệt là bị ức chế, so với những đối tượng không được điều trị mắc bệnh hoặc rối loạn nêu trên.

Vẫn là mục tiêu khác của sáng chế là đề xuất chất ức chế IL-18 để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó chất ức chế IL-18 bù đắp sự mất cân bằng IL-18/IL-18BP bằng cách giữ lại lượng IL-18 tự do dư thừa trong mô và tuần hoàn.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chất ức chế IL-18 để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó chất ức chế IL-18 ức chế sự xâm nhập của bạch cầu trung tính vào phổi, đặc biệt là thông qua việc giảm thiểu giải phóng G-CSF trong đường thở phổi.

Tuy nhiên, phương án khác của sáng chế là đề xuất chất ức chế IL-18 để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, là protein có chiều dài đầy đủ hoặc protein đột biến, dẫn xuất chức năng, mảnh chức năng, peptit có hoạt tính sinh học, phân, dẫn xuất hoán vị vòng tròn, protein dung hợp, đồng phân hoặc muối của nó.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), bệnh tim mạch, bệnh khô mắt và/hoặc bệnh tiểu đường typ II.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD).

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị bệnh tim mạch.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị bệnh khô mắt.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị xơ cứng cột bên teo cơ (ALS),

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là kháng thể đối kháng, đặc biệt là IL-18BP, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị bệnh tiểu đường typ II.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị bệnh Still ở người trưởng thành.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị chấn thương phổi liên quan đến truyền máu.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị bệnh Still ở trẻ vị thành niên.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị loạn sản phế quản phổi (BPD).

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị hội chứng suy hô hấp cấp tiến triển (ARDS).

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị bệnh phổi kẽ (ILD).

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị xơ phổi vô căn.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị xơ nang.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là kháng thể đối kháng, đặc biệt là IL-18BP, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị tăng áp động mạch phổi.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị hen suyễn.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị giãn phế quản.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị suy tim.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị viêm giác mạc.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị loét giác mạc.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị tân mạch giác mạc.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị tân mạch nội nhãn bệnh lý.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị bệnh viêm mống mắt.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là kháng thể đối kháng, đặc biệt là IL-18BP, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị bệnh tăng nhãn áp.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị thoái hóa điểm vàng.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị hội chứng Sjögren.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là kháng thể đối kháng, đặc biệt là IL-18BP, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị viêm màng bồ đào tự miễn.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị bệnh Behçet.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị viêm kết mạc.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị viêm da mí mắt.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD).

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị viêm gan nhiễm mỡ.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị cấy ghép nội tạng rắn và huyết học.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị chấn thương tái tưới máu do thiếu máu cục bộ.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị sốt Địa Trung Hải có tính gia đình.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị hội chứng chu kỳ liên quan đến thụ thể yếu tố hoại tử khối u 1.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị hội chứng sốt chu kỳ liên quan đến cryopyrin.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị hội chứng tăng IgD.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị bệnh gút.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị hội chứng Schnitzler.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị bệnh u hạt của Wegener.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị viêm tuyến giáp Hashimoto.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị bệnh Crohn.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị viêm loét đại tràng.

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị các bệnh liên quan đến globulin miễn dịch-4 (IgG4).

Sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng trong điều trị các liệu pháp tế bào gốc.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó bệnh hoặc rối loạn này do hút thuốc hoặc tiếp xúc với khói thuốc thụ động, đặc biệt là tiếp xúc với khói thuốc lá.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó bệnh hoặc rối loạn này do nhiễm virus.

Hơn nữa, sáng chế cũng đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó bệnh hoặc rối loạn này là biểu hiện toàn thân do IL-18 của chứng viêm và các bệnh đi kèm được chọn từ nhóm bao gồm khí phế thũng, viêm mô, phá hủy mô, cắt bỏ phổi, biến mất mạch máu, chuyển sản niêm mạc, phì đại tim, giảm VEGF trong mô phổi, mất mạch phổi, cơ mạch hóa, lắng đọng collagen, các lớp đàn hồi không ổn định trong phổi, tái định dạng đường thở bằng sợi xơ, mở rộng khoảng không, tái định dạng mãn tính đường thở và mạch phổi và giảm chức năng phổi.

Tuy nhiên, mục tiêu khác của sáng chế là cung cấp chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó liên kết IL-18 bị

hạn chế hoặc bị ức chế, đặc biệt là liên kết IL-18 tự do với IL-18R, nhưng đặc biệt là liên kết IL-18 tự do với IL-18R α .

Tuy nhiên, mục tiêu khác của sáng chế là cung cấp chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó các đường tín hiệu xuôi dòng phụ thuộc IL-18 được sửa đổi, đặc biệt là bị ức chế.

Tuy nhiên, mục tiêu khác của sáng chế là cung cấp chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó sự biểu hiện tăng của IFN γ , IL-13 hoặc IL-17A được sửa đổi, đặc biệt là bị ức chế, so với những đối tượng không được điều trị mắc bệnh hoặc rối loạn này.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó chất ức chế IL-18 bù đắp sự mất cân bằng IL-18/IL-18BP bằng cách giữ lại lượng IL-18 tự do dư thừa trong mô và tuần hoàn.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, để sử dụng như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó việc điều trị bao gồm phòng ngừa, ngăn chặn, giảm nhẹ hoặc đảo ngược các triệu chứng liên quan đến bệnh hoặc rối loạn nêu trên.

Hơn nữa, sáng chế cũng đề xuất chế phẩm được để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên ở đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như vậy hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy như được định nghĩa theo phương án bất kỳ

trong số các phương án nêu trên, trong đó chế phẩm này bao gồm chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đối kháng, như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, đặc biệt là cùng với chất mang và/hoặc tá dược được dụng, đặc biệt là với lượng có hiệu quả dự phòng và/hoặc điều trị.

Cụ thể, sáng chế đề xuất chế phẩm được theo phương án trước, trong đó chế phẩm được này tùy ý cung cấp thêm chất ức chế khác của xytokin gây viêm hoặc mảnh chức năng của nó, hoặc yếu tố điều tiết, gây ra sự biểu hiện *in situ* của chất ức chế này của xytokin gây viêm hoặc mảnh chức năng của nó, các chất đồng điều trị như chống viêm, giãn phế quản, kháng histamin, thuốc thông mũi hoặc thuốc chống ho.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm được như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, bao gồm chất mang và/hoặc tá dược được dụng.

Theo một phương án cụ thể, sáng chế đề xuất chế phẩm được để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên ở đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như vậy hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên, trong đó chế phẩm này bao gồm protein liên kết Interleukin-18 (IL-18BP) như được bộc lộ trong một hoặc nhiều theo phương án nêu trên, đặc biệt là cùng với chất mang và/hoặc tá dược được dụng, đặc biệt là với lượng có hiệu quả dự phòng và/hoặc điều trị.

Theo một phương án cụ thể khác, sáng chế đề xuất chế phẩm được để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên ở đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như vậy hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên, trong đó chế phẩm này bao gồm kháng thể đặc hiệu IL-18 tự do đối mã như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, đặc biệt là kháng thể đặc hiệu IL-18 tự do đối mã

bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó theo sáng chế, cho thấy phản ứng chéo với phức hợp IL-18/IL-18BP $\leq 0,01\%$ và $\leq 0,05\%$, đặc biệt là giữa $\leq 0,1\%$ và $\leq 0,2\%$, đặc biệt là giữa $\leq 0,2\%$ và $\leq 0,5\%$, đặc biệt là giữa $\leq 0,5\%$ và $\leq 1\%$, đặc biệt là giữa $\leq 1\%$ và ≤ 2 theo xác định của ELISA cạnh tranh, đặc biệt là cùng với chất mang và/hoặc tá dược được dụng, đặc biệt là với lượng có hiệu quả dự phòng và/hoặc điều trị.

Theo một phương án cụ thể, sáng chế đề xuất chế phẩm được theo phương án trước, trong đó chế phẩm này tùy ý cung cấp thêm chất ức chế khác của xytokin gây viêm hoặc mảnh chức năng của nó, hoặc yếu tố điều tiết, gây ra sự biểu hiện *in situ* của chất ức chế này của xytokin gây viêm hoặc mảnh chức năng của nó, các chất đồng điều trị như kháng viêm, giãn phế quản, kháng histamin, thuốc thông mũi hoặc thuốc chống ho.

Tuy nhiên, mục tiêu khác của sáng chế là cung cấp chế phẩm được như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, bao gồm chất mang và/hoặc tá dược được dụng.

Sáng chế còn bộc lộ vector biểu hiện bao gồm trình tự mã hóa chất ức chế IL-18 hoặc vector biểu hiện đối mã IL-18 như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, khi sử dụng cho đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy như được xác định trong các phương án nêu trên dẫn đến sự biểu hiện *in situ* của chất ức chế IL-18 để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên.

Sáng chế còn bộc lộ vector biểu hiện bao gồm vector biểu hiện đối mã IL-18, khi sử dụng cho đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy như được xác định trong các phương án theo sáng chế, dẫn đến ức chế *in situ* sự biểu hiện của IL-18 để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên.

Sáng chế còn bộc lộ vector biểu hiện bao gồm trình tự mã hóa của yếu tố điều tiết, khi sử dụng cho đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, dẫn đến sự biểu hiện *in situ* của yếu tố điều tiết nêu trên, điều chỉnh các đường tín hiệu ngược dòng điều khiển sự biểu hiện của chất ức chế IL-18 như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, đặc biệt là yếu tố điều tiết nêu trên gây ra sự biểu hiện tế bào của chất ức chế IL-18 để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên.

Cụ thể, vector biểu hiện nêu trên như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo phương án bất kỳ trong các phương án nêu trên được sử dụng cho đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy, đơn lẻ hoặc kết hợp với chất ức chế IL-18 như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, protein liên kết Interleukin-18 (IL-18BP) như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên hoặc chế phẩm được như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên.

Sáng chế còn bộc lộ vector biểu hiện bao gồm trình tự mã hóa IL-18BP như được bộc lộ trong phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, khi sử dụng cho đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy như được xác định trong các phương án trước, dẫn đến sự biểu hiện *in situ* của IL-18BP để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên.

Sáng chế còn bộc lộ vector biểu hiện bao gồm trình tự mã hóa của yếu tố điều tiết, mà khi sử dụng cho đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên, dẫn đến sự biểu hiện *in situ* của yếu tố điều tiết

nêu trên, điều tiết các đường tín hiệu ngược dòng điều khiển sự biểu hiện của IL-18BP như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, đặc biệt là yếu tố điều tiết nêu trên gây ra sự biểu hiện tế bào của IL-18BP để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên.

Cụ thể, vector biểu hiện nêu trên như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên được sử dụng cho đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên, hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy, đơn lẻ hoặc kết hợp với chất ức chế IL-18 như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, protein liên kết Interleukin-18 (IL-18BP) như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên hoặc chế phẩm được như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên.

Tuy nhiên, mục tiêu khác của sáng chế là cung cấp chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đặc hiệu IL-18 tự do đối mã, hoặc chế phẩm được chứa chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đặc hiệu IL-18 tự do đối mã, hoặc vector biểu hiện, để sử dụng như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó chúng được sử dụng cho đối tượng với lượng có hiệu quả dự phòng và/hoặc điều trị bằng đường toàn thân, trong mũi, nội nhãn, tiêm trong mắt, nhỏ mắt, đường miệng, uống, qua niêm mạc, nội khí quản, tiêm tĩnh mạch, tiêm dưới da, đường nội mạch, trong trực tràng, trong âm đạo, dưới lưỡi, trong phế quản, trong phổi, qua da hoặc tiêm bắp, đặc biệt là dùng qua phế quản-phổi.

Cụ thể, đối tượng nêu trên là động vật có vú, cụ thể là đối tượng nêu trên là người.

Sáng chế còn đề cập đến phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên ở đối tượng mắc bệnh

hoặc rối loạn như vậy, hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên, bao gồm việc sử dụng cho đối tượng này một lượng có hiệu quả điều trị hoặc dự phòng của chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đặc hiệu IL-18 tự do đối mã, hoặc chế phẩm được chứa chất ức chế IL-18, đặc biệt là IL-18BP, đặc biệt là kháng thể đặc hiệu IL-18 tự do đối mã, hoặc vector biểu hiện, như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên,

Sáng chế còn đề cập đến phương pháp xác định lượng IL-18 tự do trong mẫu hoặc *in-situ* bao gồm việc phát hiện liên kết đặc hiệu của phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do của một trong các phương án bất kỳ nêu trên với protein IL-18 tự do trong mẫu hoặc *in situ* trong đó bao gồm các bước:

a) đưa mẫu hoặc bộ phận cơ thể cụ thể hoặc vùng cơ thể nghi ngờ chứa IL-18 tự do tiếp xúc với phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do của một trong các phương án bất kỳ nêu trên, liên kết đặc hiệu với IL-18 tự do, nhưng không liên kết với IL-18 được liên kết trong phức hợp và có chức năng làm phân tử bắt giữ IL-18 tự do;

b) cho phép phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do liên kết với IL-18 tự do;

c) phát hiện liên kết của IL-18 với phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do và xác định lượng IL-18 tự do trong mẫu.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp chẩn đoán bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên ở bệnh nhân bao gồm việc phát hiện liên kết đặc hiệu của phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do của một trong các phương án bất kỳ nêu trên với protein IL-18 tự do trong mẫu hoặc *in situ* trong đó bao gồm các bước:

a) đưa mẫu hoặc bộ phận cơ thể cụ thể hoặc vùng cơ thể nghi ngờ chứa IL-18 tự do tiếp xúc với phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do của một trong các phương án bất kỳ nêu trên, liên kết đặc hiệu với IL-18 tự do, nhưng không liên kết với IL-18 được liên kết trong phức hợp và có chức năng làm phân tử bắt giữ IL-18 tự do;

b) cho phép phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do liên kết với IL-18 tự do;
 c) phát hiện liên kết của IL-18 với phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do và xác định lượng IL-18 tự do trong mẫu.

d) so sánh lượng IL-18 tự do trong mẫu của đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên với lượng trong mẫu của đối tượng khỏe mạnh.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất phương pháp chẩn đoán khuynh hướng mắc các bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên ở bệnh nhân bao gồm việc phát hiện liên kết đặc hiệu của phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do của một trong các phương án bất kỳ nêu trên với protein IL-18 tự do trong mẫu hoặc *in situ* trong đó bao gồm các bước:

a) đưa mẫu hoặc bộ phận cơ thể cụ thể hoặc vùng cơ thể nghi ngờ chứa IL-18 tự do tiếp xúc với phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do của một trong các phương án bất kỳ nêu trên, liên kết đặc hiệu với IL-18 tự do, nhưng không liên kết với IL-18 được liên kết trong phức hợp và có chức năng làm phân tử bắt giữ IL-18 tự do;

b) cho phép phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do liên kết với IL-18 tự do;
 c) phát hiện liên kết của IL-18 với phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do và xác định lượng IL-18 tự do trong mẫu.

d) so sánh lượng IL-18 tự do trong mẫu của bệnh nhân mắc các bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên với lượng trong mẫu của bệnh nhân khỏe mạnh;

trong đó sự gia tăng lượng IL-18 tự do nêu trên trong mẫu so với giá trị đối chứng bình thường thu được từ bệnh nhân khỏe mạnh cho thấy rằng bệnh nhân đó đang mắc bệnh hoặc có nguy cơ phát triển bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên.

Được đề cập thêm ở đây là phương pháp theo dõi bệnh tồn lưu tối thiểu ở bệnh nhân sau khi điều trị bằng chất ức chế IL-18, chế phẩm được hoặc vector

biểu hiện của một trong các phương án bất kỳ nêu trên, trong đó phương pháp này bao gồm:

a) đưa mẫu hoặc bộ phận cơ thể cụ thể hoặc vùng cơ thể nghi ngờ chứa IL-18 tự do tiếp xúc với phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do của một trong các phương án bất kỳ nêu trên, liên kết đặc hiệu với IL-18 tự do, nhưng không liên kết với IL-18 được liên kết trong phức hợp và có chức năng làm phân tử bắt giữ IL-18 tự do;

b) cho phép phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do liên kết với IL-18 tự do;

c) phát hiện liên kết của IL-18 với phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do và xác định lượng IL-18 tự do trong mẫu.

d) so sánh lượng IL-18 tự do trong mẫu của bệnh nhân mắc các bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên với lượng trong mẫu của bệnh nhân khỏe mạnh;

trong đó sự gia tăng lượng IL-18 tự do nêu trên trong mẫu so với giá trị đối chứng bình thường thu được từ bệnh nhân khỏe mạnh cho thấy rằng bệnh nhân đó vẫn còn mắc bệnh tồn lưu tối thiểu.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp dự đoán khả năng đáp ứng của bệnh nhân đối với việc điều trị bằng chất ức chế IL-18, chế phẩm dược hoặc vector biểu hiện của một trong các phương án bất kỳ nêu trên, trong đó phương pháp này bao gồm:

a) đưa mẫu hoặc bộ phận cơ thể cụ thể hoặc vùng cơ thể nghi ngờ chứa IL-18 tự do tiếp xúc với phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do của một trong các phương án bất kỳ nêu trên, liên kết đặc hiệu với IL-18 tự do, nhưng không liên kết với IL-18 được liên kết trong phức hợp và có chức năng làm phân tử bắt giữ IL-18 tự do;

b) cho phép phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do liên kết với IL-18 tự do;

c) phát hiện liên kết của IL-18 với phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do và xác định lượng IL-18 tự do trong mẫu.

d) so sánh lượng IL-18 tự do trong mẫu của bệnh nhân mắc các bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên với lượng trong mẫu của bệnh nhân khỏe mạnh;

trong đó sự giảm lượng IL-18 tự do nêu trên trong mẫu cho thấy rằng bệnh nhân đó có khả năng đáp ứng cao với điều trị.

Phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp có thể bao gồm bước sử dụng bổ sung trong bước a) phân tử liên kết đặc hiệu IL-18BP, liên kết với vị trí khác của IL-18BP với phân tử bắt giữ, đặc biệt là trong đó một trong các phân tử đó liên kết với vị trí liên kết IL-18 của IL-18BP.

Hơn nữa, phương pháp bất kỳ nêu trên cũng có thể bao gồm bước xác định bổ sung trong mẫu với sự có mặt của IL-18BP tự do bằng cách sử dụng trong bước a) phân tử bắt giữ đặc hiệu IL-18BP và phân tử phát hiện đặc hiệu IL-18BP, liên kết với vị trí khác của IL-18BP với phân tử bắt giữ, đặc biệt, trong đó một trong những phân tử đặc hiệu IL-18BP liên kết với vị trí liên kết IL-18 của IL-18BP, bằng cách xác định trong bước c) lượng IL-18 tự do và tổng số và IL-18BP tự do và tổng số được liên kết với phân tử bắt giữ trong mẫu; và bằng cách so sánh trong bước d) lượng IL-18 tự do và/hoặc tổng số và IL-18BP tự do và/hoặc tổng số trong mẫu của bệnh nhân mắc các bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ trước đây với lượng trong mẫu của bệnh nhân khỏe mạnh.

Phân tử bắt giữ được sử dụng trong phương pháp bất kỳ có thể là phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, đặc biệt là IL-18 BP như được mô tả ở đây hoặc kháng thể liên kết IL tự do theo sáng chế và như được mô tả ở đây.

Mẫu được sử dụng trong phương pháp bất kỳ nêu trên có thể là mẫu được chọn từ nhóm bao gồm dịch tuần hoàn dịch rửa phế quản - phế nang (BALF), dịch tiết, sinh thiết và mô đồng nhất, đặc biệt là huyết thanh, nước tiểu, nước mắt, nước bọt, mật, mồ hôi, hơi thở, thở ra, đờm, dịch phế quản phế nang, bã nhờn, tế bào, tuyến, niêm mạc và mô tiết v.v...

Theo một phương án, lượng IL-18 tự do trong mẫu của đối tượng, đặc biệt là người, mắc bệnh bất kỳ được mô tả ở đây là ≥ 5 pg/mL và lên đến 10000 pg/mL hoặc cao hơn. Cụ thể, mức IL-18 tự do tăng cao nêu trên trong mẫu tạo thành của bệnh nhân hoặc đối tượng mắc bệnh nằm trong khoảng từ ≥ 5 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 100 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 200 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 300 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 400 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 500 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 600 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 700 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 800 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 900 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 1000 đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 1500 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 2000 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 3000 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 4000 pg/mL đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 5000 pg/mL đến 10000 pg/mL. Lượng IL-18 tự do trong huyết thanh của đối tượng khỏe mạnh, đặc biệt là người khỏe mạnh là ≤ 5 pg/mL, đặc biệt là ≤ 4 pg/mL, đặc biệt là ≤ 1 pg/mL, đặc biệt là $\leq 0,5$ pg/m, đặc biệt là dưới ngưỡng phát hiện.

Cụ thể, lượng IL-18 tự do trong mẫu phân lập của đối tượng, đặc biệt là người, mắc bệnh bất kỳ được mô tả ở đây là ≥ 5 pg/mL và, đặc biệt, lên đến 10000 pg/mL, trong khi lượng IL-18 tự do trong mẫu của đối tượng khỏe mạnh, đặc biệt là người khỏe mạnh, là ≤ 4 pg/mL.

Theo một phương án khác của sáng chế, tập hợp các dấu ấn sinh học được cung cấp để sử dụng trong phương pháp phát hiện bất kỳ nêu trên nhằm xác định rõ hơn các bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên, để chẩn đoán khuynh hướng mắc các bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên, theo dõi bệnh tồn lưu tối thiểu ở đối tượng, hoặc để dự đoán khả năng đáp ứng của đối tượng đối

với việc điều trị bằng chất ức chế IL-18, chế phẩm được hoặc vector biểu hiện của một trong các phương án bất kỳ nêu trên bao gồm việc xác định hồ sơ dấu ấn sinh học và tương quan giữa hồ sơ thu được với bệnh hoặc rối loạn cụ thể.

Đặc biệt, dấu ấn sinh học có thể được sử dụng trong phương pháp chẩn đoán bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên, để chẩn đoán khuynh hướng mắc các bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên hoặc để theo dõi bệnh tồn lưu tối thiểu ở đối tượng, hoặc để dự đoán khả năng đáp ứng của đối tượng đối với việc điều trị bằng chất ức chế IL-18 như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, IL-18BP như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên hoặc chế phẩm được chứa chất ức chế IL-18 như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên bao gồm các bước:

- a) thu thập hồ sơ dấu ấn sinh học của đối tượng được kiểm tra bằng cách lấy mẫu của dịch cơ thể từ đối tượng đó;
- b) thu thập hồ sơ dấu ấn sinh học của quần thể tham chiếu khỏe mạnh;
- c) thu thập hồ sơ dấu ấn sinh học từ quần thể mắc bệnh hoặc rối loạn nêu trên và
- d) so sánh hồ sơ dấu ấn sinh học thu được trong bước a) với hồ sơ thu được trong bước b) và bước c).

Tuy nhiên, mục tiêu khác của sáng chế là cung cấp tập hợp các dấu ấn sinh học để sử dụng trong chẩn đoán bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên, để sử dụng trong chẩn đoán khuynh hướng mắc các bệnh hoặc rối loạn như được xác định theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên để sử dụng trong việc theo dõi bệnh tồn lưu tối thiểu ở đối tượng, hoặc để dự đoán phản ứng của một đối tượng được điều trị với chất ức chế IL-18 như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, IL-18BP như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên hoặc chế phẩm được chứa chất ức chế IL-18 như được bộc lộ theo phương án

bất kỳ trong số các phương án nêu trên, bao gồm a) IL-18, IL-18BP, IL-13, IL-17A, IL-8, IL-1 β , IL-2, IL-12, IL-4, IL-6, INF- γ , TNF- α , VEGF, EGF, HB-EGF, TGF- α , MMP-9, MMP-12, myeloperoxidaza, calprotectin được đo bằng xét nghiệm miễn dịch, TGF- β , chất ức chế mô của metalloproteinase (TIMP-1), yếu tố tăng trưởng tế bào gan (HGF), yếu tố gây thiếu oxy máu động mạch 1 alpha (HIF-1 α), yếu tố von Willebrand (vWF), EN-RAGE, S-RAGE, protein hoạt động bề mặt D, HsCRP, fibrinogen, vi hạt nội mô, và b) khí bao gồm NO, CO, alkan, pentan, etan được đo bằng thành phần không khí thở ra.

Tuy nhiên, mục tiêu khác của sáng chế là cung cấp kit được phẩm bao gồm chất ức chế IL-18 như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, protein liên kết Interleukin-18 (IL-18BP) như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên hoặc chế phẩm được chứa chất ức chế IL-18 như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên và chất mang và/hoặc tá được dụng theo sáng chế ở các dạng liều lượng đơn vị riêng biệt, các dạng này thích hợp để sử dụng với lượng hữu hiệu.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất kit chẩn đoán để phát hiện IL-18 tự do, bao gồm phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 tự do của một trong các phương án bất kỳ nêu trên làm phân tử bắt giữ, và phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 thứ hai làm phân tử phát hiện và, tùy ý, phân tử bắt giữ đặc hiệu IL-18 thứ hai, trong đó phân tử phát hiện liên kết với các vị trí khác nhau của IL-18 so với phân tử bắt giữ.

Theo một phương án khác, kit chẩn đoán được cung cấp để phát hiện IL-18 tổng số hoặc IL-18BP tổng số, bao gồm phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 thứ nhất, phân tử này không liên kết với vị trí liên kết IL-18 của IL-18BP và phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 thứ hai, không liên kết với vị trí liên kết IL-18BP của IL-18.

Cũng được đề cập ở đây là kit chẩn đoán để phát hiện IL-18BP tự do, bao gồm phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 thứ nhất làm phân tử bắt giữ và phân tử liên

kết đặc hiệu IL-18 thứ hai làm phân tử phát hiện, trong đó phân tử phát hiện này liên kết với vị trí khác của IL-18BP so với phân tử bắt giữ.

Theo một phương án, kit chẩn đoán kết hợp sự kết hợp của một số hoặc tất cả các phân tử liên kết có trong kit chẩn đoán được xác định ở trên.

Tuy nhiên, mục tiêu khác của sáng chế là cung cấp kit chẩn đoán để phát hiện IL-18 tự do, bao gồm kháng thể đặc hiệu IL-18 như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên làm kháng thể bắt giữ hoặc IL-18BP làm phân tử bắt giữ thay thế, và kháng thể phát hiện đặc hiệu IL-18 thứ hai hoặc kháng thể đặc hiệu IL-18 như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên làm kháng thể phát hiện và kháng thể bắt giữ đặc hiệu IL-18 thứ hai, trong đó kháng thể phát hiện này liên kết với các vị trí khác nhau trên IL-18 so với phân tử bắt giữ.

Tuy nhiên, mục tiêu khác của sáng chế là cung cấp kit chẩn đoán để phát hiện IL-18 tổng số hoặc IL-18BP tổng số, bao gồm kháng thể đặc hiệu IL-18BP đơn dòng đầu tiên không liên kết với vị trí liên kết IL-18 của IL-18BP và kháng thể đặc hiệu IL-18 thứ hai, không liên kết với vị trí liên kết IL-18BP của IL-18.

Đối tượng khác của sáng chế là cung cấp kit chẩn đoán để phát hiện IL-18BP tự do, bao gồm kháng thể bắt giữ đặc hiệu IL-18BP đơn dòng đầu tiên và kháng thể phát hiện đặc hiệu IL-18BP, kháng thể này liên kết với vị trí khác của IL-18BP so với kháng thể bắt giữ.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất kit chẩn đoán, bao gồm tất cả kit chẩn đoán như được bộc lộ theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên.

Sáng chế cung cấp IL-18BP, để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 ở đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như vậy hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy, bằng cách sử dụng cho đối tượng này lượng hữu hiệu về mặt điều trị ít nhất một IL-18BP.

IL-18BP được hiểu trong phạm vi của sáng chế cũng bao gồm các protein đột biến của IL-18BP, các mảnh chức năng hoặc dẫn xuất của IL-18BP, các dẫn

xuất hoán vị vòng tròn của IL-18BP, các protein dung hợp bao gồm IL-18BP, các đồng phân của IL-18BP hoặc muối của nó.

IL-18BP có thể được cung cấp như vậy hoặc ở dạng chế phẩm, đặc biệt là chế phẩm dược. Các chế phẩm nêu trên có thể bao gồm các dược chất bổ sung, tác nhân dược, chất mang, chất đệm, chất phân tán, chất pha loãng, các chất đồng điều trị như kháng viêm, giãn phế quản, kháng histamin, thuốc thông mũi hoặc thuốc chống ho và những chất tương tự tùy thuộc vào mục đích sử dụng và ứng dụng.

Do đó, sáng chế đề xuất IL-18BP hoặc chế phẩm dược chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dụng để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 ở đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như vậy hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy.

Được cung cấp thêm là IL-18BP hoặc chế phẩm dược chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dụng theo sáng chế, để điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 ở đối tượng cần sự điều trị như vậy, trong đó bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 là do sự biểu hiện quá mức của IL-18 trong các mô và/hoặc các khoang cơ thể cụ thể, dẫn đến mất cân bằng IL-18/IL-18BP trong các mô và/hoặc các khoang nêu trên. Ví dụ, sự biểu hiện tăng cao của IL-18 như được mô tả ở đây dẫn đến mức IL-18 tăng trong phổi, huyết thanh, đờm, dịch rửa phế quản - phế nang (BALF) hoặc tuần hoàn của đối tượng nêu trên so với đối tượng khỏe mạnh, đặc biệt là các mức IL-18 trong đờm và/hoặc trong huyết thanh tăng cao.

Bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau của sáng chế là do sự biểu hiện quá mức của IL-18. Do đó, sự biểu hiện tăng cao của IL-18 như được mô tả ở đây dẫn đến mức IL-18 tăng cao trong phổi, huyết thanh, đờm, dịch rửa phế quản - phế nang (BALF) và/hoặc tuần hoàn của đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như vậy hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy, so với đối tượng khỏe mạnh, đặc biệt là mức IL-18 trong đờm và/hoặc huyết thanh tăng cao. Hơn nữa, mức IL-18 tăng

cao dẫn đến sự mất cân bằng IL-18/IL-18BP ở đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như vậy.

Theo một phương án cụ thể, sáng chế đề xuất IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dụng sử dụng để bù đắp sự mất cân bằng IL-18/IL-18BP ở đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 như được mô tả theo các phương án khác nhau của sáng chế hoặc có khuynh hướng mắc bệnh hoặc rối loạn như vậy, bằng cách giữ lại lượng IL-18 vượt quá. Đặc biệt là IL-18BP làm giảm mức IL-18 so với đối tượng không được điều trị.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dụng để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 theo sáng chế, trong đó IL-18BP dẫn đến sự ức chế biểu hiện của IL-18. Đặc biệt là IL-18BP làm giảm nồng độ IL-18 đối với những đối tượng không được điều trị.

Sáng chế còn đề xuất thêm IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dụng để sử dụng trong việc điều trị các biểu hiện viêm cục bộ và toàn thân do IL-18 gây ra.

Sáng chế còn đề xuất IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dụng để sử dụng trong việc điều trị các biểu hiện viêm cục bộ và toàn thân do IL-18 gây ra và các bệnh đi kèm như khí phế thũng, viêm mô, phá hủy mô, cắt bỏ phổi, biến mất mạch máu, chuyển sản dịch, phì đại tim, giảm VEGF trong mô phổi, mất mạch phổi, cơ mạch hóa, lắng đọng collagen, các lớp đàn hồi không ổn định trong phổi, tái định dạng đường thở bằng sợi xơ, mở rộng khoảng không, tái định dạng mãn tính đường thở và mạch phổi và/hoặc chức năng phổi giảm.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, khi mức IL-18 tăng lên như được bộc lộ trong sáng chế, sẽ kích hoạt sự biểu hiện tăng cao của IFN γ , IL-13 hoặc IL-17A ở các đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 nêu trên so với đối tượng khỏe mạnh. Do đó, sáng chế đề xuất IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa

IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dụng để điều chỉnh, đặc biệt là để làm giảm, sự biểu hiện và/hoặc sản xuất IFN γ , IL-13 hoặc IL-17A ở đối tượng.

Theo một số phương án nhất định của sáng chế, IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dụng dẫn đến ức chế sự liên kết của IL-18 với thụ thể IL-18 (IL-18R), đặc biệt là liên kết của IL-18 với thụ thể α IL-18 (IL-18R α).

Các biểu hiện của bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 được kích hoạt bởi đáp ứng xytokin Th1 và/hoặc đáp ứng xytokin Th2. IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dụng theo sáng chế do đó dẫn đến sự ức chế của đáp ứng xytokin Th1 và/hoặc đáp ứng xytokin Th2.

Theo một số phương án nhất định của sáng chế, IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dụng dẫn đến sự điều chỉnh đường tín hiệu xuôi dòng phụ thuộc IL-18, ví dụ như các đường điều chỉnh TNF-alpha, IL-1beta, IL-8, protein viêm đại thực bào-alpha (MIP-alpha), IL-12, IL-15 và sản xuất và/hoặc giải phóng nitric oxit. Đặc biệt, các đường tín hiệu nêu trên bị ức chế.

Theo một phương án của sáng chế, IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dụng ngăn cản sự hoạt hóa caspase. Đặc biệt, caspase đó là caspase-1.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dụng để sử dụng trong điều trị bệnh liên quan đến IL-18, chẳng hạn như bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), bệnh tim mạch và bệnh tiểu đường typ 2.

Theo một phương án sáng chế đề xuất IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dụng để sử dụng trong điều trị bệnh liên quan đến IL-18, chẳng hạn như bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), chấn thương phổi liên quan đến truyền máu, loạn sản phế quản phổi (BPD), hội chứng suy hô hấp cấp tiến triển (ARDS), bệnh Still ở người trưởng thành, bệnh Still ở trẻ vị thành niên, bệnh phổi kẽ (ILD), xơ phổi vô căn, xơ

nang, tăng áp động mạch phổi, hen suyễn, giãn phế quản, suy tim, xơ cứng cột bên teo cơ (ALS), bệnh khô mắt (DED), viêm giác mạc, loét và mài mòn giác mạc, tân mạch giác mạc, tân mạch nội nhãn bệnh lý, bệnh viêm móng mắt, bệnh tăng nhãn áp, thoái hóa điểm vàng, hội chứng Sjögren, viêm màng bồ đào tự miễn, bệnh Behçet, viêm kết mạc, viêm kết mạc dị ứng, viêm da mí mắt, bệnh tiểu đường typ 2, viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD), viêm gan nhiễm mỡ, cấy ghép nội tạng rắn và huyết học, chấn thương tái tưới máu do thiếu máu cục bộ, sốt Địa Trung Hải có tính gia đình, hội chứng chu kỳ liên quan đến thụ thể yếu tố hoại tử khối u 1, hội chứng sốt chu kỳ liên quan đến cryopyrin, hội chứng tăng IgD, bệnh gút, hội chứng Schnitzler, bệnh u hạt của Wegener còn gọi là bệnh u hạt với viêm đa mạch (GPA), viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh Crohn, viêm loét đại tràng, các bệnh liên quan đến globulin miễn dịch-4 (IgG4) và liệu pháp tế bào gốc.

Theo một phương án cụ thể, sáng chế đề xuất IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dùng để sử dụng trong điều trị bệnh phổi hoặc rối loạn liên quan đến IL-18, bệnh tim mạch hoặc rối loạn hoặc bệnh tiểu đường typ 2 như được định nghĩa ở đây.

Cụ thể hơn, bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 nêu trên được điều trị được biểu hiện trong phổi của đối tượng và có thể dẫn đến sự phát triển bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD) kèm theo các biểu hiện toàn thân của viêm và các bệnh đi kèm như khí phế thũng, viêm mô, phá hủy mô, cắt bỏ phổi, biến mất mạch máu, chuyển sản dịch, phì đại tim, giảm VEGF trong mô phổi, mất mạch phổi, cơ mạch hóa ở phổi, lắng đọng collagen ở phổi, các lớp đàn hồi không ổn định trong phổi, tái định dạng đường thở bằng sợi xơ, mở rộng khoảng không, tái định dạng mãn tính đường thở và mạch phổi và/hoặc chức năng phổi giảm. Đặc biệt, biểu hiện nêu trên là viêm phổi do khói. Theo một phương án cụ thể, sáng chế đề xuất IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dùng theo sáng chế để sử dụng trong điều trị bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD).

Sự mất cân bằng IL-18/IL-18BP quan sát được ở đối tượng và dẫn đến bệnh hoặc rối loạn như được mô tả ở đây, chẳng hạn như COPD có thể do hút thuốc lá hoặc tiếp xúc với khói thuốc thụ động, cụ thể là tiếp xúc với khói thuốc lá và/hoặc nhiễm virus. Đặc biệt, tiếp xúc với khói thuốc lá có thể dẫn đến sự phát triển của khí phế thũng và/hoặc viêm phổi do khói thuốc gây ra.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 cần được điều trị là do tiếp xúc lâu dài với ô nhiễm không khí.

Do đó, sáng chế cung cấp thêm IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dụng, để điều trị tái định dạng mạch và đường thở do IL-18, do đó, ngăn ngừa sự biểu hiện và tiến triển của bệnh COPD.

Theo một khía cạnh của sáng chế, các đại thực bào phế nang là nguồn quan trọng làm tăng mức IL-18. Do đó, IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dụng, như được đề xuất bởi sáng chế, làm giảm sự biểu hiện và/hoặc sản xuất IL-18 bởi các đại thực bào phế nang.

Sáng chế còn đề xuất thêm IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dụng để ngăn ngừa và/hoặc ức chế dạng chết tế bào do khói của tế bào mô phổi và/hoặc tế bào biểu mô bị ảnh hưởng bởi bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 như được mô tả ở đây. Đặc biệt, dạng chết tế bào do khói là chết tế bào theo chương trình.

Theo một phương án của sáng chế, chế phẩm được theo sáng chế và như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau được sử dụng dự phòng.

Theo một phương án khác của sáng chế, chế phẩm được theo sáng chế và như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau được sử dụng về mặt điều trị.

Theo một phương án của sáng chế, chế phẩm được theo sáng chế và như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau được sử dụng cho đối tượng mắc các bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18, hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy bằng đường toàn thân, trong mũi, nội nhãn,

tiêm trong mắt, nhỏ mắt, đường miệng, uống, qua niêm mạc, nội khí quản, tiêm tĩnh mạch, tiêm dưới da, đường nội mạch, trong trực tràng, trong âm đạo, dưới lưỡi, trong phế quản, trong phổi, qua da hoặc tiêm bắp. Cụ thể, chế phẩm được theo sáng chế và như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau được cung cấp qua phế quản phổi.

Chế phẩm được theo sáng chế và như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau có thể được cung cấp dưới dạng chất lỏng, chất phun dạng lỏng, vi cầu, bán rắn, gel, hoặc bột để sử dụng qua niêm mạc, ví dụ, theo đường mũi, đường miệng, uống, qua niêm mạc, nội khí quản, đường nội mạch, trong âm đạo, dưới lưỡi, trong phế quản, trong phổi và/hoặc dùng để sử dụng qua da. Hơn nữa, chế phẩm có thể ở dạng bào chế rắn để dùng theo đường miệng, qua niêm mạc miệng và/hoặc dưới lưỡi. Việc sử dụng theo đường mũi, theo đường miệng, nội khí quản miệng, đường nội mạch, trong âm đạo, qua niêm mạc và dưới lưỡi dẫn đến sự tan rã của chế phẩm như được mô tả ở đây trong khoang miệng ở nhiệt độ cơ thể và có thể tùy ý dính vào mô cơ thể của khoang miệng. Ngoài ra, chế phẩm như được mô tả ở đây có thể bao gồm thêm một hoặc nhiều tá dược, chất pha loãng, chất kết dính, chất bôi trơn, tá dược trượt chảy, chất làm tan rã, chất giải mẫn cảm, chất nhũ hóa, chất kết dính niêm mạc, chất hòa tan, huyền phù, chất điều chỉnh độ nhớt, chất trương lực ion, chất đệm, chất mang, chất hoạt động bề mặt, hương vị, hoặc hỗn hợp của nó.

Theo khía cạnh cụ thể theo sáng chế, chế phẩm được tạo chế phẩm dưới dạng tiêm, tiêm tĩnh mạch, viên nén, thuốc viên, miếng dán dính sinh học, giọt, bột biển, màng, viên thuốc hình thoi, kẹo cứng, viên nhện, hình cầu, kẹo mút, cấu trúc hình đĩa, thuốc đạn hoặc xịt.

Việc dùng qua niêm mạc nói chung là nhanh chóng vì có nhiều mạch máu cung cấp cho niêm mạc và thiếu lớp sừng ở biểu bì. Việc vận chuyển thuốc như vậy thường làm tăng nhanh nồng độ trong máu, và tương tự như vậy, tránh được tuần hoàn ruột gan và hủy diệt ngay lập tức bởi axit dạ dày hoặc hiệu ứng vượt

qua đầu tiên một phần của thành ruột và chuyển hóa ở gan. Thuốc thường cần tiếp xúc lâu dài với bề mặt niêm mạc để xảy ra sự hấp thu thuốc đáng kể.

Các đường qua niêm mạc cũng có thể hiệu quả hơn so với đường uống ở chỗ những đường này có thể giúp hấp thu và bắt đầu hiệu quả điều trị tương đối nhanh hơn. Hơn nữa, các đường qua niêm mạc có thể được ưu tiên sử dụng để điều trị cho những bệnh nhân gặp khó khăn khi nuốt viên nén, viên nang hoặc các chất rắn dạng uống khác, hoặc những bệnh nhân bị tổn thương khả năng hấp thu ở ruột. Do đó, có nhiều lợi ích khi sử dụng IL-18BP qua niêm mạc hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dùng.

Ở một trong hai đường mũi hoặc đường miệng, sự hấp thu thuốc có thể bị chậm lại hoặc kéo dài, hoặc sự hấp thu có thể gần như nhanh chóng như khi tiêm một liều truyền tĩnh mạch. Do tính thẩm thấu cao của nguồn cung cấp máu phong phú, đường dưới lưỡi có thể khởi phát tác dụng nhanh chóng.

Chế phẩm dùng trong mũi có thể được sử dụng bằng phương pháp thích hợp bất kỳ tùy theo dạng của nó. Có thể sử dụng chế phẩm bao gồm vi cầu hoặc bột bằng dụng cụ xông mũi. Ví dụ về các thiết bị này được biết đến với người có kỹ năng trong lĩnh vực kỹ thuật, và bao gồm các hệ thống bột thương mại như Fisons Lomudal System. Khí cụ bơm tạo ra đám mây chia nhỏ của bột khô hoặc các vi cầu. Tốt hơn là khí cụ bơm được cung cấp có cơ chế đảm bảo sử dụng một lượng cố định đáng kể của chế phẩm. Bột hoặc vi cầu có thể được sử dụng trực tiếp với khí cụ bơm, được cung cấp với chai hoặc vật chứa bột hoặc vi cầu. Ngoài ra, bột hoặc vi cầu có thể được làm đầy vào viên nang như viên nang gelatin, hoặc thiết bị liều duy nhất khác thích hợp để sử dụng qua đường mũi. Tốt hơn là khí cụ bơm có cơ chế phá vỡ để mở tung viên nang hoặc thiết bị khác. Hơn nữa, chế phẩm có thể cung cấp sự giải phóng nhanh chóng ban đầu của hoạt chất, sau đó là sự giải phóng bền vững của hoạt chất, ví dụ, bằng cách cung cấp nhiều hơn một loại vi cầu hoặc bột. Hơn nữa, các phương pháp thay thế phù hợp để sử dụng chế phẩm vào khoang mũi sẽ được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rõ. Có thể được sử dụng phương pháp thích

hợp bất kỳ. Để mô tả chi tiết hơn về các phương pháp thích hợp, tham khảo EP2112923, EP1635783, EP1648406, EP2112923 (toàn bộ nội dung được đưa vào bằng cách tham khảo ở đây).

Theo một phương án của sáng chế, chế phẩm được theo sáng chế và như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau có thể được tiếp tục sử dụng qua đường mũi, tức là bằng cách hít vào và, do đó, có thể được tạo chế phẩm ở dạng thích hợp để sử dụng qua đường mũi, tức là dưới dạng sol khí, công thức bào chế dạng bột khô hoặc chế phẩm dạng lỏng.

Các ví dụ về chất mang được dụng, tá dược và/hoặc chất pha loãng thích hợp đã được biết đến trong lĩnh vực này và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất gồm, tinh bột (ví dụ, tinh bột ngô, tinh bột pregelatin hóa), đường (ví dụ, lactoza, mannitol, sucroza, dextroza), vật liệu xenlulo (ví dụ, xenluloza vi tinh thể), acrylat (ví dụ, polymethylacrylat), canxi cacbonat, magie oxit, bột talc, hoặc hỗn hợp của nó.

Chất mang được dụng cho công thức bào chế dạng lỏng là dung dịch nước hoặc không chứa nước, huyền phù, công thức bào chế dạng bột khô, nhũ tương hoặc dầu. Ví dụ về dung môi không chứa nước là propylen glycol, polyetylen glycol, và các este hữu cơ dạng tiêm như etyl oleat. Ví dụ về các loại dầu là dầu có nguồn gốc động vật, thực vật, hoặc tổng hợp, ví dụ, dầu lạc, dầu đậu nành, dầu ô liu, dầu hướng dương, dầu gan cá, dầu hàng hải khác, hoặc lipit từ sữa hoặc trứng.

Sáng chế cũng đề cập đến việc sử dụng qua phổi bằng cách hít chế phẩm được theo sáng chế và như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau là công thức bào chế ở dạng bột khô, dạng khí hoặc dạng dễ bay hơi thành tuần hoàn toàn thân qua đường hô hấp. Sự hấp thu hầu như nhanh chóng khi công thức bào chế có thể được phân phối vào phế nang của phổi, vì màng biểu mô phế nang và mạch máu khá dễ thấm, lưu lượng máu dồi dào và có một bề mặt rất lớn để hấp thu. Ví dụ, các sol khí có thể được cung cấp từ các ống hít đóng gói có áp suất, liều lượng theo định lượng (MDI).

Chế phẩm được theo sáng chế và như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau thường sẽ được sử dụng trong hỗn hợp với tá dược được phẩm thích hợp, chất pha loãng hoặc chất mang được chọn liên quan đến công cụ hít đã chọn và thực hành được tiêu chuẩn.

Theo một phương án khác của sáng chế, công thức bào chế IL-18BP hoặc công thức bào chế của chế phẩm được chứa IL-18BP là dạng bột khô, tùy ý kết hợp với ít nhất một chất mang được dụng dạng hạt, có thể là một hoặc nhiều vật liệu được gọi là chất mang được dụng, tốt hơn là được chọn từ vật liệu đã biết như các chất mang trong chế phẩm hít dạng bột khô, ví dụ sacarit, bao gồm monosacarit, disacarit, polysacarit và rượu đường như arabinoza, glucoza, fructoza, riboza, mannoza, sucroza, trehaloza, lactoza, maltoza, tinh bột, dextran, mannitol hoặc sorbitol. Chất mang đặc biệt được ưu tiên là lactoza, ví dụ lactoza monohydrat hoặc lactoza khan. Bột khô có thể được chứa dưới dạng các dạng liều lượng đơn vị trong viên nang, ví dụ, gelatin hoặc nhựa, hoặc trong vỉ (ví dụ bằng nhôm hoặc nhựa), để sử dụng trong thiết bị hít bột khô, có thể là một liều duy nhất hoặc thiết bị đa liều, tốt hơn là ở các đơn vị liều cùng với chất mang để đưa tổng trọng lượng của bột trong mỗi viên nằm trong khoảng từ 5 mg đến 50 mg. Ngoài ra, bột khô có thể được chứa trong bình chứa trong thiết bị hít bột khô đa liều (MDDPI) được điều chỉnh để phân phối.

Có thể sử dụng đường điều trị hiệu quả khác bất kỳ của việc sử dụng, ví dụ, sự hấp thu qua các mô nội mạc hoặc biểu mô hoặc bằng liệu pháp gen trong đó phân tử ADN mã hóa chất hoạt tính được sử dụng cho bệnh nhân (ví dụ qua vector biểu hiện), khiến chất hoạt tính này được biểu hiện và tiết ra trong cơ thể sống.

Trong cơ thể, sự biểu hiện của IL-18BP có thể được tạo ra bằng cách điều chỉnh đường tín hiệu ngược dòng, điều khiển sự biểu hiện của IL-18BP. Ví dụ, IL-18BP được gây ra đặc biệt bởi IFN-gama như một phần của vòng phản hồi tiêu cực, điều chỉnh sự gây ra IFN-gama bởi IL-18. Các yếu tố đã biết khác được

báo cáo để điều chỉnh sự biểu hiện IL-18BP là IL-18, IL-27, IFN-alpha và STAT1.

Do đó, theo một phương án của sáng chế, sự biểu hiện tế bào của IL-18BP được gây ra gián tiếp do sự sửa đổi một hoặc nhiều đường tín hiệu ngược dòng, đường này điều khiển sự biểu hiện của IL-18BP. Đặc biệt, sự biểu hiện của IL-18BP được gây ra gián tiếp do sự sửa đổi ít nhất một đường tín hiệu ngược dòng.

Sáng chế còn đề cập đến vector biểu hiện bao gồm trình tự mã hóa IL-18BP trong việc bào chế thuốc để điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 như được mô tả ở đây ở đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như vậy hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy.

Theo một phương án cụ thể, sáng chế đề cập đến vector biểu hiện bao gồm trình tự mã hóa của yếu tố điều tiết, điều chỉnh các đường tín hiệu ngược dòng để điều tiết sự biểu hiện của IL-18BP. Do đó, yếu tố điều tiết nêu trên gây ra các biểu hiện của IL-18BP bằng cách điều chỉnh ít nhất một đường tín hiệu ngược dòng.

Sáng chế còn đề cập đến vector biểu hiện bao gồm trình tự mã hóa của yếu tố điều tiết, điều chỉnh các đường tín hiệu ngược dòng để điều chỉnh sự biểu hiện của IL-18BP trong việc bào chế thuốc để điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 như được mô tả ở đây ở đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như vậy hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy.

Sáng chế còn đề cập đến vector biểu hiện bao gồm trình tự mã hóa của yếu tố điều tiết, gây ra sự biểu hiện của IL-18BP để điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 như được mô tả ở đây ở đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như vậy hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy. Cụ thể, nó liên quan đến vector biểu hiện bao gồm trình tự mã hóa của yếu tố điều tiết, gây ra sự biểu hiện của IL-18BP trong phổi để điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 như được mô tả ở đây ở đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như vậy hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy.

Theo tùy chọn, sáng chế đề xuất vector biểu hiện thứ hai bao gồm trình tự mã hóa của chất ức chế xytokin gây viêm thứ hai tự nhiên hoặc yếu tố điều tiết điều chỉnh ít nhất một đường tín hiệu ngược dòng để điều chỉnh biểu hiện của xytokin gây viêm nêu trên. Đặc biệt, yếu tố điều tiết nêu trên gây ra sự biểu hiện của chất ức chế xytokin nêu trên.

Đặc biệt, sự biểu hiện của IL-18 được điều chỉnh bởi sự can thiệp ARN (ARNi) hoặc vector biểu hiện đối mã IL-18. Cụ thể hơn, sự biểu hiện của IL-18 được điều chỉnh bởi sự can thiệp của ARN (ARNi), trong đó sự biểu hiện của IL-18 được điều hòa giảm bởi trường hợp câm gen sau phiên mã (PTGS). Đặc biệt, sự biểu hiện của IL-18 được điều hòa giảm trong phổi của đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như được mô tả ở đây. Cơ chế của sự can thiệp ARN bao gồm trường hợp câm gen sau phiên mã bất kỳ, đặc biệt là trường hợp câm gen sau phiên mã bất kỳ được gây ra bởi microARN (miARN) hoặc ARN can thiệp nhỏ (siARN). Các microARN (các miARN) và các ARN can thiệp nhỏ (các siARN) có thể được biểu hiện bằng vector biểu hiện theo sáng chế và như được mô tả ở đây.

Do đó, phương pháp điều trị gen có thể được sử dụng để điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 như được mô tả ở đây và như được bộc lộ trong các phương án khác nhau. Theo đó, sự biểu hiện của IL-18BP xảy ra *in situ*, do đó, trực tiếp trung hòa IL-18 trong mô hoặc tế bào bị ảnh hưởng bởi bệnh hoặc rối loạn nêu trên. Đặc biệt, sự biểu hiện của IL-18BP như được mô tả ở đây được gây ra trong phổi.

Chế phẩm được theo sáng chế và như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau có thể được sử dụng để điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau ở thuốc cho người và thú y để điều trị cho người và động vật, bao gồm chim, động vật linh trưởng không phải con người, chó, mèo, lợn, dê, cừu, gia súc, ngựa, chuột nhắt, chuột và thỏ.

Theo một phương án cụ thể, sáng chế đề xuất chế phẩm được theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau, trong đó đối tượng là động vật có vú, đặc biệt là đối tượng là người.

Theo một phương án cụ thể khác, chế phẩm được theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau được sử dụng với lượng hiệu quả về mặt điều trị với liều thích hợp của ít nhất một chất ức chế xytokin gây viêm thứ hai. Đặc biệt là chất ức chế nêu trên là đặc hiệu cho IL-1, IL-6, IL-13, IL-17A, IFN γ hoặc TNF α .

Chất mang nước bao gồm nước, dung dịch cồn/nước, nhũ tương hoặc huyền phù, bao gồm nước muối và môi trường đệm như dung dịch muối đệm phosphat, nước, nhũ tương, chẳng hạn như nhũ tương dầu/nước, các loại chất làm ướt, dung dịch vô trùng v.v.. Chế phẩm bao gồm chất mang như vậy có thể được tạo chế phẩm bằng các phương pháp thông thường đã biết. Chất mang thích hợp có thể bao gồm vật liệu bất kỳ, khi được kết hợp với hợp chất có hoạt tính sinh học theo sáng chế, vẫn giữ được các hoạt tính sinh học.

Những nỗ lực đã được thực hiện trong lĩnh vực này để sửa đổi về mặt hóa học các đặc tính rào cản của da để cho phép sự thâm thấu của các tác nhân nhất định, tăng cao hiệu quả của tác nhân được phân phối, tăng cao thời gian phân phối, giảm liều lượng phân phối, giảm tác dụng phụ từ các phương pháp phân phối khác nhau, giảm các khả năng đáp ứng của bệnh nhân, v.v..

Về vấn đề này, chất tăng cường sự thâm qua đã được sử dụng để tăng tính thâm qua của bề mặt da đối với thuốc, và thường là các dung môi nhận proton như dimetyl sulfoxit (DMSO) và dimethylacetamit. Các chất tăng cường sự thâm qua khác đã được nghiên cứu và báo cáo là có hiệu quả bao gồm 2-pyrrolidin, N,N-diethyl-m-toluamit (Deet), 1-dodecal-azacycloheptan-2-one, N,N-dimetylformamit, N-metyl-2-pyrrolidin, canxi thioglycolat, hexanol, axit béo và este, dẫn xuất pyrrolidon, dẫn xuất của các 1,3-dioxan và 1,3-dioxolan, axit 1-N-dodecyl-2-pyrrolidon-5-carboxylic, axit 2-pentyl-2-oxo-

pyrrolidineacetic, axit 2-dodecyl-2-oxo-1-pyrrolidineacetic, axit 1-azacycloheptan-2-one-2-dodecylacetic, và các dẫn xuất aminoalcohol, bao gồm các dẫn xuất của 1,3-dioxan, trong số những chất khác.

Các chế phẩm để sử dụng qua niêm mạc có thể bao gồm dung dịch nước hoặc không chứa nước vô trùng, huyền phù, công thức bào chế dạng bột khô và nhũ tương. Ví dụ về các dung môi không chứa nước là propylen glycol, polyetylen glycol, dầu thực vật như dầu ô liu, và các este hữu cơ dạng tiêm như etyl oleat. Chất mang nước bao gồm nước, dung dịch rượu/nước, nhũ tương hoặc huyền phù, bao gồm nước muối và môi trường đệm. Các công cụ qua niêm mạc có thể bao gồm dung dịch natri clorua, Ringer's dextroza, dextroza và natri clorua, dung dịch Ringer lactat, hoặc các dầu không bay hơi. Chất bảo quản và chất phụ gia khác cũng có thể có mặt bao gồm, ví dụ, chất kháng khuẩn, chất chống oxy hóa, chất tạo chelat, và khí trơ và những chất tương tự. Ngoài ra, chế phẩm được theo sáng chế có thể bao gồm chất mang protein, như ví dụ, albumin huyết thanh hoặc globulin miễn dịch, tốt hơn là có nguồn gốc từ người.

Chế phẩm được theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau có thể được sử dụng cục bộ trên bề mặt cơ thể, và do đó, được tạo chế phẩm ở dạng thích hợp để sử dụng cục bộ. Các công thức bào chế cục bộ thích hợp bao gồm gel, thuốc mỡ, kem, nước thơm, thuốc nhỏ và các loại tương tự. Đối với việc sử dụng cục bộ, chế phẩm được theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau được điều chế và sử dụng dưới dạng dung dịch, huyền phù, hoặc nhũ tương trong chất pha loãng được chấp nhận về mặt sinh lý có hoặc không có chất mang được.

Chế phẩm được theo sáng chế và như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau cũng có thể được sử dụng dưới dạng chế phẩm giải phóng có kiểm soát, tức là chế phẩm trong đó hoạt chất được giải phóng trong một khoảng thời gian sau khi sử dụng. Các chế phẩm giải phóng có kiểm soát hoặc giải phóng kéo dài bao gồm công thức bào chế ở dạng khu trú ưa chất béo (ví dụ, axit béo, sáp, dầu). Theo một phương án khác, chế phẩm là chế phẩm giải phóng ngay lập

tức, tức là chế phẩm trong đó tất cả hoạt chất được giải phóng ngay sau khi sử dụng.

Các ví dụ khác về công thức bào chế phù hợp được cung cấp trong WO 2006/085983, toàn bộ nội dung của nó được đưa vào tài liệu tham khảo ở đây. Ví dụ, chế phẩm được theo sáng chế và như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau của sáng chế có thể được cung cấp dưới dạng công thức bào chế liposom. Công nghệ để tạo thành huyền phù liposom nổi tiếng trong lĩnh vực. Lớp lipit được sử dụng có thể là chế phẩm thông thường bất kỳ và cũng có thể chứa cholesterol hoặc không có cholesterol. Các liposom có thể được giảm kích thước, thông qua việc sử dụng các kỹ thuật siêu âm và đồng nhất tiêu chuẩn. Công thức bào chế liposom chứa chế phẩm được theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau có thể được đông khô để sản xuất chất đông khô có thể được hoàn nguyên bằng chất mang được dụng, chẳng hạn như nước, để tái tạo huyền phù liposom. Chế phẩm được theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau có thể được sử dụng cho đối tượng với liều lượng thích hợp. Chế độ liều lượng sẽ được xác định bởi bác sĩ chăm sóc và các yếu tố lâm sàng. Như đã được biết đến trong lĩnh vực y tế, liều lượng cho đối tượng bất kỳ phụ thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm kích thước của đối tượng, diện tích bề mặt cơ thể, tuổi tác, hợp chất cụ thể được sử dụng, giới tính, thời gian và đường sử dụng, sức khỏe nói chung, và các thuốc khác được sử dụng đồng thời.

Hơn nữa, người ta dự kiến rằng chế phẩm được theo sáng chế có thể bao gồm thêm các chất hoạt tính sinh học, tùy thuộc vào mục đích sử dụng của chế phẩm được. Các chất hoạt tính sinh học khác này có thể là, ví dụ, các kháng thể, đoạn kháng thể, hormon, yếu tố tăng trưởng, enzym, phân tử liên kết, xytokin, chemokine, phân tử axit nucleic và thuốc. Theo một phương án được ưu tiên, chế phẩm được theo sáng chế được sử dụng đồng thời với cơ chủ vận beta-adrenoceptor tác dụng kéo dài (LABA), cơ chủ vận muscarinic tác dụng kéo dài (LAMA), steroid, corticoid, glucocorticoid và chất ức chế phosphodiesteraza cơ

chủ vận glucocorticoit, chất ức chế kinaza, chất ức chế xytokin và chemokine hoặc chất đối kháng hoặc chất ức chế proteaza hoặc sự kết hợp của nó.

Liều lượng của chế phẩm được theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau sẽ phụ thuộc vào tình trạng đang được điều trị, chế phẩm cụ thể được sử dụng, và các yếu tố lâm sàng khác như trọng lượng, kích thước và tình trạng của đối tượng, diện tích bề mặt cơ thể, hợp chất hoặc chế phẩm cụ thể được sử dụng, các loại thuốc khác được sử dụng đồng thời, và đường sử dụng.

Chế phẩm được theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau có thể được sử dụng kết hợp với các chất và quy trình có hoạt tính sinh học khác để điều trị các triệu chứng liên quan đến bệnh liên quan đến IL-18, chẳng hạn như bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), chấn thương phổi liên quan đến truyền máu, loạn sản phế quản phổi (BPD), hội chứng suy hô hấp cấp tiến triển (ARDS), bệnh Still ở người trưởng thành, bệnh Still ở trẻ vị thành niên, bệnh phổi kẽ (ILD), xơ phổi vô căn, xơ nang, tăng áp động mạch phổi, hen suyễn, giãn phế quản, suy tim, xơ cứng cột bên teo cơ (ALS), bệnh khô mắt (DED), viêm giác mạc, loét và mài mòn giác mạc, tân mạch giác mạc, tân mạch nội nhãn bệnh lý, bệnh viêm móng mắt, bệnh tăng nhãn áp, thoái hóa điểm vàng, hội chứng Sjögren, viêm màng bồ đào tự miễn, bệnh Behçet, viêm kết mạc, viêm kết mạc dị ứng, viêm da mí mắt, bệnh tiểu đường typ 2, viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD), viêm gan nhiễm mỡ, cấy ghép nội tạng rắn và huyết học, chấn thương tái tưới máu do thiếu máu cục bộ, sốt Địa Trung Hải có tính gia đình, hội chứng chu kỳ liên quan đến thụ thể yếu tố hoại tử khối u 1, hội chứng sốt chu kỳ liên quan đến cryopyrin, hội chứng tăng IgD, bệnh gút, hội chứng Schnitzler, bệnh u hạt của Wegener còn gọi là bệnh u hạt với viêm đa mạch (GPA), viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh Crohn, viêm loét đại tràng, các liệu pháp tế bào gốc và bệnh liên quan đến globulin miễn dịch-4 (IgG4). Các chất hoạt tính sinh học khác có thể là một phần của cùng chế phẩm đã bao gồm chế phẩm theo sáng chế, ở dạng hỗn hợp, trong đó chế phẩm theo sáng chế và

chất hoạt tính sinh học khác được trộn lẫn với nhau trong hoặc với cùng dung môi được dụng và/hoặc chất mang được dụng hoặc có thể được cung cấp riêng biệt như một phần của chế phẩm riêng biệt, có thể được cung cấp riêng biệt hoặc cùng nhau dưới dạng kit nhiều phần.

Chế phẩm được theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau có thể được sử dụng đồng thời với các chất hoặc chất hoạt tính sinh học khác, gián đoạn hoặc tuần tự. Ví dụ, chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng đồng thời với chất hoạt tính sinh học bổ sung đầu tiên hoặc tuần tự sau hoặc trước khi sử dụng chế phẩm này. Nếu một sơ đồ ứng dụng được chọn trong đó sử dụng nhiều hơn một chất hoạt tính sinh học bổ sung được dùng và ít nhất một chế phẩm theo sáng chế, các hợp chất hoặc các chất có thể được sử dụng một phần đồng thời, một phần tuần tự trong các sự kết hợp khác nhau.

Do đó đối tượng khác theo sáng chế là cung cấp các hỗn hợp chế phẩm được theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau, tùy ý bao gồm một hoặc nhiều chất hoạt tính sinh học hơn nữa với lượng điều trị hiệu quả hoặc phòng bệnh, cũng như các phương pháp sử dụng chế phẩm như vậy theo sáng chế, hoặc các hỗn hợp của nó để phòng ngừa và/hoặc điều trị và/hoặc giảm nhẹ ảnh hưởng của bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), bệnh tim mạch và bệnh tiểu đường typ 2.

Do đó đối tượng khác theo sáng chế là cung cấp các hỗn hợp chế phẩm được theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau, tùy ý bao gồm, một hoặc nhiều chất hoạt tính sinh học hơn nữa với lượng điều trị hiệu quả hoặc phòng bệnh, cũng như các phương pháp sử dụng chế phẩm như vậy theo sáng chế, hoặc các hỗn hợp của nó để phòng ngừa và/hoặc điều trị và/hoặc giảm nhẹ ảnh hưởng của bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), chấn thương phổi liên quan đến truyền máu, loạn sản phế quản phổi (BPD), hội chứng suy hô hấp cấp tiến triển (ARDS), bệnh Still ở người trưởng thành, bệnh Still ở trẻ vị thành niên, bệnh phổi kẽ (ILD), xơ phổi vô căn, xơ nang, tăng áp động mạch phổi, hen suyễn, giãn phế quản, suy tim, xơ cứng cột bên teo cơ (ALS), bệnh khô mắt

(DED), viêm giác mạc, loét và mài mòn giác mạc, tân mạch giác mạc, tân mạch nội nhãn bệnh lý, bệnh viêm móng mắt, bệnh tăng nhãn áp, thoái hóa điểm vàng, hội chứng Sjögren, viêm màng bồ đào tự miễn, bệnh Behçet, viêm kết mạc, viêm kết mạc dị ứng, viêm da mí mắt, bệnh tiểu đường typ 2, viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD), viêm gan nhiễm mỡ, cấy ghép nội tạng rắn và huyết học, chấn thương tái tưới máu do thiếu máu cục bộ, sốt Địa Trung Hải có tính gia đình, hội chứng chu kỳ liên quan đến thụ thể yếu tố hoại tử khối u 1, hội chứng sốt chu kỳ liên quan đến cryopyrin, hội chứng tăng IgD, bệnh gút, hội chứng Schnitzler, bệnh u hạt của Wegener còn gọi là bệnh u hạt với viêm đa mạch (GPA), viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh Crohn, viêm loét đại tràng, các liệu pháp tế bào gốc và bệnh liên quan đến globulin miễn dịch-4 (IgG4).

Chất hoạt tính sinh học hoặc hợp chất khác có thể phát huy tác dụng sinh học của nó theo cơ chế giống hoặc tương tự như chế phẩm theo sáng chế hoặc theo cơ chế hoạt động không liên quan hoặc bằng nhiều cơ chế hoạt động có liên quan và/hoặc không liên quan.

Nói chung, hợp chất có hoạt tính sinh học khác có thể bao gồm các kháng thể kháng lại và liên kết với INF-gama, IL-17A, IL-13, IL-1beta, IL-6, IL-2, IL-4, IL-12, TNF-alpha. Cụ thể, hỗn hợp theo sáng chế có thể bao gồm IL-18BP (IL-18BP) hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP (IL-18BP) và chất mang và/hoặc tá dược được dụng theo sáng chế và như được mô tả ở đây.

Liều lượng thích hợp của chế phẩm được theo sáng chế như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau sẽ khác nhau tùy thuộc vào tình trạng, độ tuổi và loài của đối tượng, và có thể dễ dàng được xác định bởi những người có kỹ năng trong lĩnh vực này. Tổng liều lượng hàng ngày được sử dụng trong cả thuốc thú y và thuốc cho người thích hợp sẽ nằm trong khoảng 0,01-2000 mg/kg trọng lượng cơ thể, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1000 mg/kg trọng lượng cơ thể, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1 đến 100 mg/kg và chúng có thể được sử dụng dưới dạng liều duy nhất hoặc chia liều, ngoài ra, giới hạn trên cũng có thể bị vượt quá khi tổng liều lượng hàng ngày này được chỉ định. Liều

lượng như vậy sẽ được điều chỉnh theo các yêu cầu riêng trong từng trường hợp cụ thể bao gồm (các) hợp chất cụ thể đang được sử dụng, đường sử dụng, tình trạng đang được điều trị, cũng như đối tượng đang được điều trị. Tuy nhiên, các hợp chất cũng có thể được sử dụng dưới dạng các chế phẩm khu trú (cây ghép, công thức bào chế giải phóng chậm, v.v...) hàng tuần, hàng tháng hoặc thậm chí trong khoảng thời gian dài hơn. Trong những trường hợp như vậy, liều lượng sẽ cao hơn nhiều so với liều hàng ngày và phải được điều chỉnh cho phù hợp với dạng sử dụng, trọng lượng cơ thể và chỉ định cụ thể. Liều lượng thích hợp có thể được xác định bằng cách tiến hành các thí nghiệm trên mô hình thông thường, tốt hơn là mô hình động vật. Liều lượng hiệu quả của (các) hoạt chất phụ thuộc ít nhất vào bản chất của tình trạng đang được điều trị, độc tính, cho dù (các) hợp chất đang được sử dụng để dự phòng hoặc chống lại tình trạng nhiễm trùng hoặc tình trạng đang hoạt động, phương pháp phân phối, và công thức bào chế được, và sẽ được xác định bởi bác sĩ lâm sàng bằng cách sử dụng các nghiên cứu tăng liều thông thường. Nó có thể được dự kiến là nằm trong khoảng từ 0,01 mg đến 1 g/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày. Ví dụ, để phân phối cục bộ, liều lượng đề xuất hàng ngày cho người trưởng thành nặng có trọng lượng khoảng 70 kg sẽ nằm trong khoảng từ 1 mg đến khoảng 500 mg, nói chung là giữa khoảng 5 mg và khoảng 40 mg, và có thể ở dạng đơn liều hoặc đa liều hoặc các vị trí sử dụng. Đối với sự phân phối trong mũi, liều lượng đề xuất có thể được dự kiến nằm trong khoảng từ 0,01 mg đến khoảng 1 g/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày.

Hơn nữa, các dẫn xuất chức năng của IL-18BP có thể được kết hợp với các polyme để cải thiện các đặc tính của protein, chẳng hạn như tính ổn định, thời gian bán hủy, sinh khả dụng, khả năng dung nạp của cơ thể người, hoặc tính sinh miễn dịch. Để đạt được mục đích này, IL-18-BP có thể được liên kết, ví dụ với polyethylenglycol (PEG). PEGyl hóa có thể được thực hiện bằng các phương pháp đã biết, chẳng hạn được mô tả trong WO 92/13095.

Do đó, theo một phương án khác của sáng chế, IL-18BP được PEGyl hóa.

Theo phương án khác của sáng chế, IL-18BP là protein dung hợp bao gồm tất cả hoặc một phần IL-18BP, protein này được dung hợp với tất cả hoặc một phần của globulin miễn dịch.

Theo một phương án nữa theo sáng chế, IL-18BP được PEGyl hóa, được dung hợp với tất cả hoặc một phần của globulin miễn dịch, tốt hơn là với vùng không đổi của globulin miễn dịch, và trong đó protein được dung hợp vẫn có khả năng liên kết với IL-18. Cụ thể hơn, globulin miễn dịch có thể là isotyp IgG1 hoặc IgG2.

Người có kỹ năng trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng protein dung hợp tạo thành vẫn giữ được hoạt tính sinh học của IL-18BP, đặc biệt là liên kết với IL-18. Sự dung hợp có thể trực tiếp hoặc thông qua peptit liên kết ngắn có thể ngắn bằng 1 đến 3 gốc axit amin về chiều dài hoặc dài hơn, ví dụ, chiều dài 13 gốc axit amin. Ví dụ, trình tự liên kết nêu trên có thể là tripeptit của trình tự E-F-M (Glu-Phe-Met) (SEQ ID NO: 9), hoặc trình tự liên kết 13 axit amin bao gồm Glu-Phe-Gly-Ala-Gly-Leu-Val-Leu-Gly-Gly-Gln-Phe-Met (SEQ ID NO: 8) được đưa vào giữa trình tự IL-18BP và trình tự globulin miễn dịch. Protein dung hợp thu được có các đặc tính được cải thiện, chẳng hạn như thời gian cư trú kéo dài trong dịch cơ thể (thời gian bán hủy), tăng hoạt động cụ thể, tăng mức độ biểu hiện, hoặc sự tinh chế protein dung hợp được tạo điều kiện thuận lợi.

Tốt hơn là nó được dung hợp với các vùng chuỗi nặng, chẳng hạn như miền CH2 và CH3 của IgG1 của người. Việc tạo ra các protein dung hợp cụ thể bao gồm IL-18BP và một phần của globulin miễn dịch được mô tả trong ví dụ 11 của WP99/09063, chẳng hạn. Các đồng phân khác của phân tử Ig cũng thích hợp để tạo ra các protein dung hợp theo sáng chế, chẳng hạn như các đồng phân IgG2 hoặc IgG4, hoặc các lớp Ig khác, chẳng hạn như IgM hoặc IgA. Protein dung hợp có thể là đơn phân hoặc đa phân, đa phân đồng thể hoặc dị thể.

Theo một số phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn liên quan đến những biểu hiện quá mức của IL-18 như được mô tả ở đây theo các phương

án khác nhau của sáng chế, bao gồm việc sử dụng cho đối tượng đó một lượng hữu hiệu về mặt điều trị chế phẩm được theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau.

Các xét nghiệm huyết thanh học được biết đến trong lĩnh vực này và đã trở thành công cụ hữu ích để phát hiện các kháng nguyên trong dịch cơ thể, chẳng hạn như huyết thanh, dịch rửa phế quản phế nang (BAL) và đờm. Tuy nhiên, cho đến nay vẫn chưa có xét nghiệm chẩn đoán chức năng nào để phát hiện IL-18 bằng các kháng thể đặc hiệu tồn tại. Do đó, cần có phương pháp chẩn đoán cụ thể để phát hiện IL-18 trong dịch cơ thể, đặc biệt là trong huyết thanh.

Do đó, sáng chế bộc lộ các phương pháp và kit để phát hiện và chẩn đoán bệnh hoặc tình trạng liên quan đến IL-18 như được mô tả ở đây, để chẩn đoán khuynh hướng mắc các bệnh hoặc tình trạng liên quan đến IL-18 như được mô tả ở đây hoặc để theo dõi bệnh tồn lưu tối thiểu ở đối tượng hoặc để dự đoán khả năng đáp ứng của đối tượng đối với phương pháp điều trị bằng chế phẩm được theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau và như được mô tả trước đây. Các phương pháp này bao gồm các phương pháp miễn dịch đã biết thường được sử dụng để phát hiện hoặc định lượng hóa các chất trong mẫu sinh học hoặc trong điều kiện *in situ*.

Theo một phương án, sáng chế còn bộc lộ phương pháp chẩn đoán bệnh liên quan đến IL-18 như được mô tả ở đây, hoặc để chẩn đoán khuynh hướng mắc các bệnh liên quan đến IL-18 như được mô tả ở đây, hoặc để theo dõi bệnh tồn lưu tối thiểu ở đối tượng hoặc để dự đoán khả năng đáp ứng của đối tượng để điều trị với IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP (IL-18BP) và chất mang và/hoặc tá dược được dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, bao gồm các bước:

- a) thu mẫu dịch cơ thể của đối tượng mắc bệnh này;
- b) thử nghiệm mẫu này với sự có mặt của IL-18 bằng cách sử dụng IL-18BP như được mô tả ở đây hoặc kháng thể đặc hiệu IL-18 theo sáng chế làm phân tử bắt giữ;

c) xác định lượng IL-18 liên kết với phân tử bắt giữ trong mẫu;

d) so sánh lượng IL-18 trong mẫu của đối tượng mắc bệnh như vậy với lượng trong mẫu của đối tượng khỏe mạnh.

Lượng IL-18 tự do trong huyết thanh phân lập của đối tượng, đặc biệt là người, mắc bệnh nêu trên, nằm trong khoảng từ 5 đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 100 đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 200 đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 300 đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 400 đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 500 đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 600 đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 700 đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 800 đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 900 đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 1000 đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 1500 đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 2000 đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 3000 đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 4000 đến 10000 pg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 5000 đến 10000 pg/mL. Lượng IL-18 tự do trong huyết thanh của đối tượng khỏe mạnh, đặc biệt là người khỏe mạnh là ≤ 40 pg/mL, đặc biệt là ≤ 30 pg/mL, đặc biệt là ≤ 25 pg/mL, đặc biệt là ≤ 20 pg/mL, đặc biệt là ≤ 10 pg/mL, đặc biệt là ≤ 5 pg/mL, đặc biệt là ≤ 1 pg/mL, đặc biệt là $\leq 0,5$ pg/mL. Do đó, đối tượng có nồng độ IL-18 có thể phát hiện trong huyết thanh nằm trong khoảng 5 đến 10000 pg/mL mắc bệnh liên quan đến IL-18 như được mô tả ở đây. Lượng IL-18 trong huyết thanh và các chất dịch cơ thể khác có thể được xác định bằng phương pháp chẩn đoán như được mô tả ở đây bằng cách sử dụng đường chuẩn tuyến tính, được tính cho các nồng độ IL-18 xác định trước nằm trong khoảng từ 5 đến 200 pg/mL.

Chẩn đoán bệnh hoặc tình trạng liên quan đến IL-18 hoặc khuynh hướng mắc các bệnh liên quan đến IL-18 hoặc điều kiện như được mô tả ở đây ở đối tượng có thể đạt được bằng cách phát hiện liên kết IL-18BP như được mô tả ở đây với IL-18 hoặc sự liên kết miễn dịch đặc hiệu của kháng thể đơn dòng hoặc

đoạn hoạt tính của nó như được mô tả ở đây với epitop của IL-18 trong mẫu hoặc *in situ*, bao gồm việc đưa mẫu hoặc bộ phận cơ thể cụ thể hoặc vùng cơ thể nghi ngờ chứa kháng nguyên IL-18 tiếp xúc với IL-18BP và/hoặc kháng thể liên kết epitop của IL-18 protein hoặc một đoạn của nó, cho phép IL-18BP hoặc kháng thể liên kết với kháng nguyên IL-18 để tạo thành phức hợp miễn dịch, phát hiện sự hình thành phức hợp miễn dịch và tương quan giữa sự có mặt hoặc vắng mặt của phức hợp miễn dịch với sự có mặt hoặc vắng mặt của kháng nguyên IL-18 trong mẫu hoặc bộ phận hoặc vùng cơ thể cụ thể, tùy ý so sánh lượng phức hợp miễn dịch nêu trên với giá trị đối chứng bình thường, trong đó sự gia tăng lượng tổng hợp nêu trên so với giá trị đối chứng bình thường cho thấy đối tượng đó đang mắc bệnh hoặc có nguy cơ phát triển bệnh hoặc tình trạng liên quan đến IL-18.

Theo dõi bệnh tồn lưu tối thiểu ở đối tượng sau khi điều trị bằng IL-18BP hoặc chế phẩm được chứa IL-18BP và chất mang và/hoặc tá dược được dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên và như được mô tả ở đây trước đây có thể đạt được bằng cách phát hiện liên kết IL-18BP như được mô tả ở đây với IL-18 hoặc liên kết hệ miễn dịch đặc hiệu của kháng thể đơn dòng hoặc đoạn hoạt tính của nó như được mô tả ở đây với epitop của IL-18 protein hoặc đoạn của nó trong mẫu hoặc *in situ*, bao gồm việc đưa mẫu hoặc bộ phận cơ thể cụ thể hoặc vùng cơ thể nghi ngờ chứa kháng nguyên IL-18 tiếp xúc với IL-18BP và/hoặc kháng thể như được mô tả ở đây liên kết epitop của IL-18 protein hoặc một đoạn của nó, cho phép IL-18BP hoặc kháng thể liên kết với kháng nguyên IL-18 để tạo thành phức hợp miễn dịch, phát hiện sự hình thành phức hợp miễn dịch và tương quan giữa sự có mặt hoặc vắng mặt phức hợp miễn dịch với sự có mặt hoặc vắng mặt của kháng nguyên IL-18 trong mẫu hoặc bộ phận hoặc vùng cơ thể cụ thể, tùy ý so sánh lượng phức hợp miễn dịch này với giá trị đối chứng bình thường, trong đó sự gia tăng về lượng tổng hợp nêu trên so với giá trị đối chứng bình thường cho thấy bệnh nhân đó vẫn có thể mắc tồn dư tối thiểu của bệnh.

Dự đoán khả năng đáp ứng của đối tượng đối với điều trị bằng chế phẩm được theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau có thể đạt được bằng cách phát hiện liên kết IL-18BP như được mô tả ở đây với IL-18 hoặc liên kết miễn dịch đặc hiệu của kháng thể đơn dòng hoặc đoạn hoạt tính của nó như được mô tả ở đây với epitop của IL-18 protein hoặc đoạn của nó trong mẫu hoặc *in situ*, bao gồm việc đưa mẫu hoặc bộ phận cơ thể cụ thể hoặc vùng cơ thể nghi ngờ chứa kháng nguyên IL-18 tiếp xúc với IL-18BP và/hoặc kháng thể liên kết epitop của IL-18 protein hoặc một đoạn của nó, cho phép IL-18BP hoặc kháng thể liên kết với kháng nguyên IL-18 để tạo thành phức hợp miễn dịch, phát hiện sự hình thành phức hợp miễn dịch và tương quan giữa sự có mặt hoặc sự vắng mặt phức hợp miễn dịch với sự có mặt hoặc vắng mặt của kháng nguyên IL-18 trong mẫu hoặc bộ phận hoặc vùng cơ thể cụ thể, tùy ý so sánh lượng phức hợp miễn dịch đó trước và sau khi bắt đầu điều trị, trong đó sự giảm lượng tổng hợp nêu trên cho thấy rằng đối tượng đó có khả năng đáp ứng cao với điều trị.

Các mẫu sinh học có thể được sử dụng để chẩn đoán bệnh hoặc tình trạng liên quan đến IL-18 như được mô tả ở đây, để chẩn đoán khuynh hướng mắc các bệnh hoặc tình trạng liên quan đến IL-18 hoặc để theo dõi bệnh tồn lưu tối thiểu như được mô tả ở đây ở đối tượng hoặc để dự đoán khả năng đáp ứng của đối tượng đối với điều trị bằng chế phẩm được theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau, ví dụ, các chất lỏng như huyết thanh, huyết tương, nước bọt, dịch tiết dạ dày, chất nhầy, dịch não tủy, dịch bạch huyết và các chất tương tự hoặc các mẫu mô hoặc tế bào thu được từ sinh vật như mô thần kinh, não, phổi, tim hoặc mạch máu. Để xác định sự có mặt hoặc vắng mặt của kháng nguyên IL-18, đặc biệt là kháng nguyên IL-18 tự do, trong mẫu có thể sử dụng xét nghiệm miễn dịch bất kỳ mà những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này đã biết. (Xem Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory, New York 1988 555-612) có thể được sử dụng như, ví dụ, các xét nghiệm sử dụng phương pháp phát hiện gián tiếp sử dụng

thuốc thử thứ cấp để phát hiện, ELISA và kết tủa miễn dịch và ngưng kết. Ví dụ, mô tả chi tiết về các xét nghiệm này được đưa ra trong WO96/13590 to Maertens and Stuyver, Zrein et al. (1998) và WO96/29605.

Đối với việc chẩn đoán *in situ*, IL-18BP như được mô tả ở đây và/hoặc kháng thể đặc hiệu IL-18 hoặc phân hoạt động và chức năng bất kỳ của nó như được mô tả ở đây có thể được sử dụng cho sinh vật được chẩn đoán bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này, chẳng hạn như, ví dụ, tiêm tĩnh mạch, trong mũi, trong màng bụng, trong não, trong động mạch sao cho có thể xảy ra liên kết đặc hiệu giữa IL-18BP và/hoặc kháng thể đặc hiệu với vùng epitop trên kháng nguyên IL-18. Phức hợp IL-18BP/kháng nguyên hoặc kháng thể/kháng nguyên có thể được phát hiện thông qua nhãn được gắn với kháng thể hoặc mảnh chức năng của nó.

Các xét nghiệm miễn dịch được sử dụng trong các ứng dụng chẩn đoán hoặc trong các ứng dụng để chẩn đoán khuynh hướng mắc các bệnh hoặc tình trạng liên quan đến IL-18 hoặc như được mô tả ở đây hoặc để theo dõi bệnh tồn lưu tối thiểu ở đối tượng hoặc để dự đoán khả năng đáp ứng của đối tượng với điều trị bằng chế phẩm được theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau thường dựa vào các kháng nguyên, kháng thể, hoặc thuốc thử thứ cấp được đánh dấu để phát hiện. Các protein hoặc thuốc thử này có thể được đánh dấu bằng các hợp chất mà những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này thường biết bao gồm enzym, đồng vị phóng xạ, và huỳnh quang, và các chất huỳnh quang, phát quang và sinh màu bao gồm các hạt màu, chẳng hạn như vàng keo và hạt nhựa mù. Trong số này, ghi nhãn phóng xạ có thể được sử dụng cho hầu hết các loại xét nghiệm và với hầu hết các biến thể. Các nhãn liên hợp enzym đặc biệt hữu ích khi phải tránh phóng xạ hoặc khi cần kết quả nhanh. Các chất có huỳnh quang, mặc dù yêu cầu thiết bị đắt tiền để sử dụng, cung cấp phương pháp phát hiện rất nhạy. Các kháng thể hữu ích trong các xét nghiệm này bao gồm các kháng thể đơn dòng, kháng thể đa dòng, và kháng thể đa dòng tinh sạch ái lực.

Ngoài ra, kháng thể có thể được đánh dấu gián tiếp bằng phản ứng với các chất được dán nhãn có ái lực với globulin miễn dịch, chẳng hạn như protein A hoặc G hoặc các kháng thể thứ hai. Các kháng thể có thể được liên hợp với chất thứ hai và được phát hiện với chất thứ ba được đánh dấu có ái lực với chất thứ hai được liên hợp với kháng thể. Ví dụ, kháng thể có thể được liên hợp với biotin và sự liên hợp kháng thể- biotin được phát hiện bằng cách sử dụng avidin hoặc streptavidin được đánh dấu. Tương tự như vậy, kháng thể có thể được liên hợp với hapten và liên hợp kháng thể- hapten được phát hiện bằng cách sử dụng kháng thể kháng hapten được đánh dấu.

Những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ biết về những nhãn này và các nhãn thích hợp khác có thể được sử dụng theo sáng chế. Việc liên kết các nhãn này với các kháng thể hoặc các đoạn của nó có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các kỹ thuật tiêu chuẩn thường được biết đến bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Các kỹ thuật điển hình được mô tả bởi Kennedy, J. H., và cộng sự, 1976 (Clin. Chim. Acta 70:1-31), và Schurs, A. H. W. M., và cộng sự 1977 (Clin. Chim Acta 81:1-40). Các kỹ thuật ghép nối được đề cập trong phần sau là phương pháp glutaraldehyde, phương pháp periodate, phương pháp dimaleimide, và các phương pháp khác, tất cả đều được kết hợp bằng cách tham khảo ở đây.

Các xét nghiệm miễn dịch hiện tại sử dụng phương pháp kháng thể kép để phát hiện sự có mặt của chất phân tích, trong đó kháng thể bắt giữ được đánh dấu gián tiếp bằng phản ứng với kháng thể thứ hai đã được đánh dấu bằng nhãn có thể phát hiện. Tốt hơn là kháng thể thứ hai liên kết với kháng thể của động vật mà từ đó kháng thể đơn dòng được tạo ra. Nói cách khác, nếu kháng thể đơn dòng là kháng thể của chuột, thì kháng thể thứ hai được đánh dấu là kháng thể kháng chuột. Đối với kháng thể đơn dòng được sử dụng trong xét nghiệm được mô tả dưới đây, nhãn này tốt hơn là hạt phủ kháng thể, đặc biệt là hạt từ tính. Đối với kháng thể đa dòng được sử dụng trong xét nghiệm miễn dịch được mô

tả ở đây, nhấn tốt hơn là phân tử có thể phát hiện được như chất phóng xạ, chất huỳnh quang hoặc chất phát quang điện hóa.

Hệ thống kháng thể kẹp thay thế, thường được gọi là hệ thống định dạng nhanh vì chúng được điều chỉnh để xác định nhanh sự có mặt của chất phân tích, cũng có thể được sử dụng trong phạm vi của sáng chế. Hệ thống yêu cầu ái lực cao giữa kháng thể và chất phân tích. Theo một phương án của sáng chế, sự có mặt của kháng nguyên IL-18 được xác định bằng cách sử dụng cặp kháng thể, mỗi kháng thể đặc hiệu cho kháng nguyên IL-18. Một trong các cặp kháng thể nêu trên ở đây được gọi là "kháng thể phát hiện" và cặp kháng thể còn lại trong số các cặp kháng thể này được gọi là "kháng thể bắt giữ". Kháng thể đơn dòng theo sáng chế có thể được sử dụng làm kháng thể bắt giữ hoặc kháng thể phát hiện. Kháng thể đơn dòng theo sáng chế cũng có thể được sử dụng làm cả kháng thể bắt giữ và kháng thể phát hiện, cùng nhau trong một thử nghiệm duy nhất. Do đó, một phương án của sáng chế sử dụng phương pháp kẹp kháng thể kẹp để phát hiện kháng nguyên IL-18 trong mẫu dịch sinh học. Trong phương pháp này, chất phân tích (kháng nguyên IL-18) được kẹp giữa kháng thể phát hiện và kháng thể bắt giữ, kháng thể bắt giữ được cố định không thể đảo ngược trên giá đỡ vững chắc. Kháng thể phát hiện sẽ chứa nhãn có thể phát hiện được, để nhận biết sự có mặt của kẹp kháng thể-chất phân tích và do đó nhận biết sự có mặt của chất phân tích.

Các chất pha rắn được lấy làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các đĩa vi chuẩn, ống nghiệm bằng polystyren, hạt từ tính, nhựa hoặc thủy tinh và các phiên kính được biết rõ trong lĩnh vực xét nghiệm miễn dịch phóng xạ và xét nghiệm miễn dịch bằng enzym. Các phương pháp ghép kháng thể với pha rắn cũng được những người có kỹ năng trong lĩnh vực này biết rõ. Gần đây, một số vật liệu xốp như nylon, xenluloza nitrit, xenluloza axetat, sợi thủy tinh và các polyme xốp khác đã được sử dụng làm giá đỡ vững chắc.

Sáng chế cũng đề cập đến kit chẩn đoán để phát hiện kháng nguyên IL-18 trong mẫu sinh học. Hơn nữa, sáng chế đề cập đến kit chẩn đoán thứ hai, ngoài

chế phẩm như đã định nghĩa ở trên, còn bao gồm thuốc thử phát hiện như đã định nghĩa ở trên. Thuật ngữ "kit chẩn đoán" nói chung dùng để chỉ kit chẩn đoán bất kỳ được biết đến trong lĩnh vực này. Cụ thể hơn, thuật ngữ thứ hai dùng để chỉ kit chẩn đoán như được mô tả bởi Zrein và cộng sự (1998).

Đối tượng khác nữa của sáng chế là cung cấp các tế bào miễn dịch mới và kit xét nghiệm để phát hiện và chẩn đoán các bệnh và tình trạng liên quan đến IL-18 như được mô tả ở đây bao gồm IL-18BP như được mô tả ở đây trước đây hoặc các kháng thể IL-18BP đặc hiệu như được mô tả ở đây trước đây. Đối với các tế bào miễn dịch, IL-18BP hoặc các kháng thể được gắn trực tiếp hoặc gián tiếp vào phân tử chỉ thị thích hợp, ví dụ, enzym hoặc hạt nhân phóng xạ. Kit xét nghiệm bao gồm vật chứa giữ IL-18BP và/hoặc một hoặc nhiều kháng thể và hướng dẫn sử dụng IL-18BP và/hoặc các kháng thể nhằm mục đích liên kết với kháng nguyên IL-18 để tạo thành phức hợp miễn dịch và phát hiện sự hình thành phức hợp miễn dịch sao cho sự có mặt hoặc vắng mặt của phức hợp miễn dịch tương quan với sự có mặt hoặc vắng mặt của kháng nguyên IL-18.

Theo những điều trên, sáng chế cũng đề xuất kit được phẩm bao gồm chế phẩm được theo sáng chế như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau ở các dạng liều lượng đơn vị riêng biệt, các dạng này thích hợp để sử dụng với lượng hữu hiệu. Kit như vậy còn bao gồm một hoặc nhiều thiết bị hít thích hợp để sử dụng chế phẩm được theo sáng chế như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau. Ví dụ, kit này có thể bao gồm một hoặc nhiều thiết bị hít bột khô được điều chỉnh để cung cấp bột khô từ viên nang, cùng với viên nang chứa bột khô bao gồm đơn vị liều lượng của chế phẩm được theo sáng chế được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau. Trong ví dụ khác, kit này có thể bao gồm thiết bị hít bột khô đa liều chứa trong bình chứa của nó bột khô bao gồm chế phẩm được theo sáng chế như được mô tả ở đây theo các phương án khác nhau.

Định nghĩa

Các thuật ngữ và cách diễn đạt kỹ thuật được sử dụng trong phạm vi của sáng chế này thường được hiểu theo nghĩa thông thường được áp dụng cho chúng trong lĩnh vực thích hợp nếu không được chỉ rõ ở đây bên dưới.

Như được sử dụng trong mô tả sáng chế này và các phương án bổ sung, các dạng số ít bao gồm các tham chiếu số nhiều trừ khi ngữ cảnh quy định rõ ràng theo cách khác. Vì vậy, ví dụ, tham chiếu đến "một hợp chất" bao gồm một hoặc nhiều hợp chất.

Thuật ngữ "điều trị", "liệu pháp" và các thuật ngữ tương tự được sử dụng ở đây thường có nghĩa là đạt được tác dụng dược lý và/hoặc sinh lý mong muốn. Tác dụng có thể dự phòng về mặt ngăn ngừa hoàn toàn hoặc một phần bệnh hoặc triệu chứng của bệnh và/hoặc có thể điều trị về mặt chữa khỏi một phần hoặc hoàn toàn bệnh và/hoặc các tác dụng phụ do bệnh gây ra. Thuật ngữ "điều trị" như được sử dụng ở đây bao gồm việc điều trị bệnh bất kỳ ở đối tượng và bao gồm: (a) ngăn ngừa bệnh, tức là liên quan đến phản ứng miễn dịch không mong muốn xảy ra ở đối tượng có thể dễ mắc bệnh; (b) ức chế bệnh, tức là ngăn chặn sự phát triển của nó; hoặc (c) làm giảm bệnh, tức là làm cho bệnh thoái triển (d) đảo ngược các triệu chứng của bệnh, tức là dẫn đến phục hồi các mô bị tổn thương.

Cụm từ "protein liên kết IL-18 (IL-18BP)" như được sử dụng ở đây bao gồm protein có chiều dài đầy đủ, protein đột biến, đoạn, peptit, dẫn xuất chức năng, mảnh chức năng, phân đoạn, dẫn xuất hoán vị vòng, protein dung hợp, đồng phân hoặc muối của chúng.

Thuật ngữ "IL-18 tự do" như được sử dụng ở đây có nghĩa là protein interleukin-18 đơn phân, hòa tan và không phức hợp.

"Globulin miễn dịch" là một phân tử tetrameric. Trong một globulin miễn dịch tự nhiên, mỗi tetramer bao gồm hai cặp chuỗi polypeptit giống hệt nhau, mỗi cặp có một chuỗi "nhẹ" (khoảng 25 kDa) và một chuỗi "nặng" (khoảng 50-70 kDa). Phần cuối có nhóm amin của mỗi chuỗi bao gồm vùng biến đổi của khoảng từ 100 đến 110 axit amin trở lên chịu trách nhiệm chính cho việc nhận

biết kháng nguyên. Phần đầu carboxy của mỗi chuỗi xác định vùng không đổi chịu trách nhiệm chính cho chức năng tác động. Các chuỗi nhẹ của người được phân loại là chuỗi nhẹ [kappa] và [lambda]. Các chuỗi nặng được phân loại là [micro], [delta], [gama], [alpha], hoặc [epsilon], và xác định isotyp của kháng thể tương ứng là IgM, IgD, IgG, IgA, và IgE. Trong chuỗi nhẹ và chuỗi nặng, vùng biến đổi và vùng không đổi được nối với nhau bởi vùng "J" của khoảng 12 axit amin trở lên, với chuỗi nặng cũng bao gồm vùng "D" của khoảng 10 axit amin nữa. Xem thêm: Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989)) (được kết hợp toàn bộ bằng cách tham chiếu cho tất cả các mục đích). Các vùng biến đổi của mỗi cặp chuỗi nhẹ/nặng tạo thành vị trí liên kết kháng thể sao cho một globulin miễn dịch nguyên vẹn có hai vị trí liên kết.

Các chuỗi globulin miễn dịch có cùng cấu trúc chung của các vùng khung được bảo tồn tương đối (FR) được nối với nhau bởi ba vùng siêu biến, còn được gọi là các vùng xác định bổ thể hoặc các CDR. Các CDR từ hai chuỗi của mỗi cặp được sắp hàng bởi các vùng khung, cho phép liên kết với một epitop cụ thể. Từ đầu N đến đầu C, cả chuỗi nặng và chuỗi nhẹ đều bao gồm các miền FR1, CDR1, FR2, CDR.2, FR3, CDR3 và FR4. Việc chỉ định các axit amin cho mỗi miền tuân theo định nghĩa của Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991)), hoặc Chothia & Lesk J. Mol. Biol, 196:901-917 (1987); Chothia et al., Nature 342:878-883 (1989).

Thuật ngữ "kháng thể" hoặc "các kháng thể" được sử dụng ở đây là thuật ngữ được công nhận trong lĩnh vực này và được hiểu là để chỉ các phân tử hoặc các đoạn hoạt tính của phân tử liên kết với các kháng nguyên đã biết, đặc biệt là với các phân tử globulin miễn dịch và các phân tử có hoạt tính miễn dịch của các phân tử globulin miễn dịch, tức là các phân tử chứa vị trí liên kết liên kết đặc hiệu miễn dịch kháng nguyên. Globulin miễn dịch theo sáng chế có thể thuộc

loại bất kỳ (IgG, IgM, IgD, IgE, IgA và IgY) hoặc lớp (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 và IgA2) hoặc các phân lớp của phân tử globulin miễn dịch.

Thuật ngữ "kháng thể" đề cập đến mục đích của sáng chế là cho một globulin miễn dịch nguyên vẹn hoặc một phần liên kết với kháng nguyên của nó cạnh tranh với kháng thể nguyên vẹn để liên kết đặc hiệu. Đặc biệt, "các kháng thể" được dự định trong phạm vi của sáng chế để bao gồm các kháng thể đơn dòng, đa dòng, dạng khảm, chuỗi đơn, đặc hiệu kép hoặc hiệu quả kép, được mô phỏng hóa, của người và được làm tương thích với người.

Ví dụ về các phần liên kết với kháng nguyên bao gồm, trong số đó, các đoạn Fab, Fab', F(ab')₂, scFv, dAb và Fv, bao gồm các sản phẩm của thư viện biểu hiện globulin miễn dịch Fab và các đoạn liên kết với epitop của kháng thể bất kỳ và các đoạn nêu trên. Các ví dụ khác về các phần liên kết với kháng nguyên bao gồm các đoạn vùng xác định bổ thể (CDR), các diabody và polypeptit chứa ít nhất một phần của globulin miễn dịch đủ để tạo liên kết kháng nguyên đặc hiệu với polypeptit.

Các đoạn hoạt tính như vậy có thể được tạo ra từ kháng thể theo sáng chế bằng một số kỹ thuật đã biết. Ví dụ, các kháng thể đơn dòng tinh khiết có thể được phân cắt bằng enzym, chẳng hạn như pepsin, và trải qua sự lọc gel HPLC. Phần thích hợp chứa các đoạn Fab sau đó có thể được thu thập và cô đặc bằng cách lọc màng và tương tự. Để mô tả thêm về các kỹ thuật chung để phân lập các đoạn kháng thể hoạt tính, xem ví dụ, Khaw, B. A. et al. J. Nucl. Med. 23:1011 đến 1019 (1982); Rousseaux et al. Methods Enzymology, 121:663-69, Academic Press, 1986.

"Kháng thể được làm tương thích với người" đề cập đến kháng thể được thiết kế có các CDR mà có nguồn gốc từ globulin miễn dịch vật cho không phải là người. Theo một phương án, một số axit amin nhất định trong khung và miền không đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ đã bị đột biến để tránh hoặc mất phản ứng miễn dịch ở người. Theo một phương án thay thế, kháng thể được làm tương thích với người có thể được tạo ra bằng cách dung hợp các miền không

đổi từ kháng thể của người với các miền biến đổi của loài không phải của người. Có thể tìm thấy các ví dụ về cách tạo ra các kháng thể được làm tương thích với người trong các patent Hoa Kỳ số 6054297; 5 886152 và 5877293.

Theo phương án khác của sáng chế, "kháng thể được làm tương thích với người" dùng để chỉ loại kháng thể được thiết kế có các CDR của nó có nguồn gốc từ globulin miễn dịch hiến tặng không phải của người được đưa vào "giàn" kháng thể của người có nguồn gốc từ một (hoặc nhiều) globulin miễn dịch của người. Ngoài ra, các gốc hỗ trợ khung có thể được thay đổi để bảo tồn ái lực liên kết. Các phương pháp thu được "kháng thể được làm tương thích với người" đã được biết đến đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. (xem, ví dụ, Queen et al., Proc. Natl Acad Sci USA, 86:10029-10032 (1989), Hodgson et al., Bio/Technology, 9:421 (1991)).

"Kháng thể được làm tương thích với người" cũng có thể thu được bằng phương pháp kỹ thuật di truyền mới cho phép sản xuất các kháng thể đa dòng giống người đã trưởng thành ái lực ở các động vật lớn, chẳng hạn như thỏ (xem, ví dụ, patent Hoa Kỳ số 7129084).

Thuật ngữ "kháng thể đơn dòng" cũng được công nhận trong lĩnh vực này và dùng để chỉ kháng thể được sản xuất hàng loạt trong phòng thí nghiệm từ một dòng vô tính duy nhất và chỉ nhận một kháng nguyên. Các kháng thể đơn dòng thường được tạo ra bằng cách dung hợp tế bào B sản xuất kháng thể thường tồn tại trong thời gian ngắn với một tế bào phát triển nhanh, chẳng hạn như tế bào ung thư (đôi khi được gọi là tế bào "bất tử"). Tế bào lai tạo thành, hoặc hybridoma, phát triển nhanh chóng, tạo ra dòng vô tính tạo ra số lượng lớn kháng thể. Theo mục đích của sáng chế, "kháng thể đơn dòng" cũng được hiểu là bao gồm các kháng thể được tạo ra bởi dòng vô tính mẹ chưa đạt đến tính đơn dòng hoàn toàn.

Thuật ngữ "các CDR" dùng để chỉ vùng siêu biến của kháng thể. Thuật ngữ "vùng siêu biến", "HVR", hoặc "HV", dùng để chỉ các vùng của miền biến đổi kháng thể siêu biến theo trình tự và/hoặc tạo thành các vòng được xác định theo

cấu trúc. Nói chung, kháng thể bao gồm sáu vùng siêu biến; ba vùng trong VH (H1, H2, H3), và ba vùng trong VL (L1, L2, L3). Một số mô tả vùng siêu biến đang được sử dụng và được đề cập ở đây. Các vùng xác định bỏ thể Kabat dựa trên tính biến đổi trình tự và được sử dụng phổ biến nhất (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)).

Các chữ cái "HC" và "LC" đứng trước thuật ngữ "CDR" lần lượt đề cập đến CDR của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, Thay vào đó, Chothia đề cập đến vị trí của các vòng cấu trúc (Chothia and Lesk J. Mol. Biol.196:901-917 (1987)). Các vùng siêu biến AbM đại diện cho sự thỏa hiệp giữa các CDR Kabat và các vòng cấu trúc Chothia, và được sử dụng phần mềm mô hình hóa kháng thể AbM của Oxford Molecular. Các vùng siêu biến "tiếp xúc" dựa trên sự phân tích các cấu trúc tinh thể phức tạp có sẵn.

Thuật ngữ "đánh số gốc miền biến đổi như trong Kabat" hoặc "đánh số vị trí axit amin như trong Kabat," và các biến thể của chúng, đề cập đến hệ thống đánh số được sử dụng cho miền biến đổi chuỗi nặng hoặc miền biến đổi chuỗi nhẹ của sự biên dịch của các kháng thể trong Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991).

"Kháng thể tương đương về mặt chức năng" được hiểu trong phạm vi của sáng chế là để chỉ kháng thể về cơ bản có chung ít nhất một đặc tính chức năng chính với kháng thể, ví dụ các đặc tính chức năng được mô tả ở đây bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: tính đặc hiệu liên kết với protein IL-18 tự do. Các kháng thể có thể thuộc lớp bất kỳ như IgG, IgM, IgA hay, v.v.. hoặc phân lớp bất kỳ như IgG1, IgG2a, v.v.. và các phân lớp khác được mô tả ở đây hoặc đã biết trong lĩnh vực này, nhưng đặc biệt là lớp IgG4. Hơn nữa, các kháng thể có thể được tạo ra bằng phương pháp bất kỳ, chẳng hạn như hiển thị phage, hoặc được tạo ra trong sinh vật hoặc dòng tế bào bất kỳ, bao gồm vi khuẩn, côn trùng, động vật có vú hoặc các loại tế bào hoặc dòng tế bào khác tạo ra kháng thể với

các đặc điểm mong muốn, chẳng hạn như kháng thể được làm tương thích với người. Các kháng thể cũng có thể được hình thành bằng cách kết hợp một phần Fab và một vùng Fc từ các loài khác nhau.

Các đoạn hoặc chất tương tự của các kháng thể có thể được chuẩn bị sẵn sàng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này theo các hướng dẫn của mô tả này. Đầu amino- và carboxy- của mảnh hoặc thể tương đồng xuất hiện gần vùng biên của vùng chức năng được ưu tiên. Các miền cấu trúc và chức năng có thể được xác định bằng cách so sánh dữ liệu trình tự nucleotit và/hoặc axit amin với cơ sở dữ liệu trình tự công khai hoặc độc quyền. Tốt hơn là, các phương pháp so sánh được điện toán hóa được sử dụng để xác định các motif trình tự hoặc các miền cấu trúc protein được dự đoán xảy ra trong các protein khác có cấu trúc và/hoặc chức năng đã biết. Được biết các phương pháp xác định trình tự protein gấp thành cấu trúc ba chiều đã biết, Bowie et al. *Science* 253: 164 (1991).

Thuật ngữ "kháng thể của người" bao gồm tất cả các kháng thể có một hoặc nhiều vùng không đổi và biến đổi có nguồn gốc từ trình tự globulin miễn dịch của người. Theo một phương án được ưu tiên, tất cả các miền không đổi và biến đổi đều có nguồn gốc từ trình tự globulin miễn dịch của người (kháng thể hoàn toàn của người). Những kháng thể này có thể được chuẩn bị trong nhiều loại tế bào chủ như tế bào nhân sơ, ví dụ, *E. coli*. Theo một phương án khác, tế bào chủ là tế bào nhân thực, ví dụ, tế bào nguyên sinh, tế bào động vật, tế bào thực vật, hoặc tế bào nấm. Theo một phương án, tế bào chủ là tế bào động vật có vú bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, CHOCOS, NS0, SP2, PER.C6, hoặc tế bào nấm, chẳng hạn như *Saccharomyces cerevisiae*, hoặc tế bào côn trùng, chẳng hạn như Sf9. Theo một phương án khác, các tế bào sản xuất kháng thể của người có thể được nuôi cấy trong lò phản ứng sinh học hoặc cho cây trồng trong các ngôi nhà và cánh đồng xanh (xem, ví dụ, trong: Riechmann L, et al (1988). *Nature* 332 (6162): 332-323; Queen C, et al. (Dec 1989). *Proc Natl Acad Sci U*

S A. 86 (24): 10029-33; Kashmiri SV, et al. (May 2005).. *Methods* 36 (1): 25-34; Hou S, et al. (July 2008).. *J Biochem* 144 (1): 115-20).

"Bệnh nhân" hoặc "đối tượng" cho các mục đích của sáng chế được sử dụng thay thế cho nhau và có nghĩa là bao gồm cả người và các động vật khác, đặc biệt là động vật có vú, và các sinh vật khác. Vì vậy, các phương pháp có thể sử dụng cho cả các ứng dụng thú y và liệu pháp người. Trong phương án được ưu tiên, bệnh nhân hoặc đối tượng là động vật có vú, và trong phương án được ưu tiên nhất, bệnh nhân hoặc đối tượng là người.

Các cụm từ "chế phẩm dược phẩm" và "chế phẩm điều trị" được sử dụng thay thế cho nhau ở đây theo nghĩa rộng nhất. Chúng được dùng để chỉ, theo mục đích của sáng chế, lượng hoạt chất hữu hiệu về mặt điều trị, tức là IL-18BP và, tùy ý, chất mang hoặc một chất pha loãng được dụng.

Nó bao gồm các chế phẩm phù hợp để điều trị chữa bệnh, điều khiển, cải thiện tình trạng hoặc ngăn ngừa bệnh tật hoặc rối loạn ở người hoặc động vật không phải là người. Do đó, nó bao gồm các chế phẩm dược để sử dụng trong lĩnh vực y học cho người hoặc thú y. "Chế phẩm điều trị" như vậy được đặc trưng ở chỗ nó bao gồm ít nhất một hợp chất IL-18BP hoặc muối sinh lý chấp nhận được của chúng, và tùy chọn là chất mang hoặc tá dược, theo đó muối và chất mang và tá dược được sinh vật đích dung nạp được điều trị với nó.

"Lượng hiệu quả về mặt điều trị" đề cập đến lượng cung cấp hiệu quả điều trị cho một tình trạng và chế độ sử dụng nhất định. Cụ thể, "lượng hiệu quả về mặt điều trị" có nghĩa là lượng có hiệu quả để ngăn chặn, đảo ngược, giảm nhẹ hoặc cải thiện các triệu chứng của bệnh hoặc kéo dài thời gian sống sót của đối tượng được điều trị, có thể là người hoặc động vật không phải là người. Việc xác định lượng hiệu quả về mặt điều trị nằm trong kỹ năng của người có kỹ năng trong lĩnh vực này. Cụ thể, trong trường hợp hiện tại, "lượng có hiệu quả điều trị hoặc phòng bệnh" là lượng protein hoặc peptit, protein đột biến, dẫn xuất chức năng, phân nhỏ, dẫn xuất hoán vị vòng, protein dung hợp, đồng phân hoặc muối của nó, và hợp chất hoặc chế phẩm dược, khi dùng cho người hoặc động vật, sẽ

dẫn đến hiệu quả điều trị hoặc phòng bệnh ở người hoặc động vật nêu trên. Lượng có hiệu quả được xác định dễ dàng bởi người có kỹ năng trong lĩnh vực này theo các thủ tục thông thường. Lượng hoặc liều lượng hiệu quả về mặt điều trị của hợp chất theo sáng chế này có thể thay đổi trong các giới hạn rộng và có thể được xác định theo cách đã biết trong lĩnh vực liên quan. Liều lượng có thể thay đổi trong giới hạn rộng và, tất nhiên, sẽ phải được điều chỉnh theo yêu cầu riêng trong từng trường hợp cụ thể.

Thuật ngữ sử dụng "qua niêm mạc" đề cập đến các đường sử dụng khác nhau, trong đó hợp chất được hấp thu bởi niêm mạc của bộ phận bất kỳ của cơ thể. Sử dụng qua niêm mạc bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, qua niêm mạc mũi, đường miệng, qua niêm mạc miệng, nội khí quản, đường trong não, trong trực tràng, trong âm đạo, dưới lưỡi, trong phế quản, trong phổi và qua da.

Định nghĩa "dược dụng" có nghĩa là bao gồm chất mang, tá dược, chất pha loãng hoặc tá dược lỏng bất kỳ, không ảnh hưởng đến hiệu quả của hoạt tính sinh học của hoạt chất và không gây độc cho vật chủ mà nó được sử dụng.

Thuật ngữ "protein dung hợp" dùng để chỉ polypeptit bao gồm IL-18BP, hoặc IL-18BP của virus, hoặc protein đột biến hoặc một đoạn của nó, được dung hợp với protein khác, ví dụ, có thời gian cư trú kéo dài trong dịch cơ thể. Do đó, IL-18BP hoặc IL-18BP của virus có thể được dung hợp với protein khác, polypeptit hoặc loại tương tự, ví dụ, globulin miễn dịch hoặc một đoạn của nó.

Các đồng phân, protein đột biến, protein dung hợp hoặc các dẫn xuất chức năng này giữ nguyên hoạt tính sinh học của IL-18 BP, đặc biệt là liên kết với IL-18, và tốt nhất là có ít nhất hoạt tính tương tự IL-18BP. Lý tưởng nhất là những protein như vậy có hoạt tính sinh học thậm chí còn tăng lên so với IL-18BP không sửa đổi. Các phân đoạn hoạt tính được ưu tiên có hoạt tính tốt hơn hoạt tính của IL-18BP, hoặc có các ưu điểm hơn nữa, như độ ổn định tốt hơn hoặc độc tính hoặc tính sinh miễn dịch thấp hơn, hoặc chúng dễ dàng được sản xuất với số lượng lớn, hoặc dễ tinh chế hơn.

Thuật ngữ "protein liên kết interleukin-18" cũng bao gồm protein đột biến IL-18BP, dẫn xuất chức năng, phân đoạn, peptit có hoạt tính sinh học, dẫn xuất hoán vị vòng, protein dung hợp, đồng phân vị và muối của nó.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "protein đột biến" dùng để chỉ các chất tương tự của IL-18BP, hoặc các chất tương tự của một IL-18BP của virus, trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin của IL-18BP tự nhiên hoặc IL-18BP của virus được thay thế bằng các gốc axit amin khác nhau, hoặc bị loại bỏ, hoặc một hoặc nhiều gốc axit amin được thêm vào trình tự tự nhiên của IL-18BP, hoặc IL-18BP của virus, mà không làm thay đổi đáng kể hoạt tính của các sản phẩm tạo thành so với IL-18BP kiểu dại hoặc IL-18BP của virus. Các protein đột biến này được chuẩn bị bằng kỹ thuật tổng hợp đã biết và/hoặc kỹ thuật gây đột biến hướng vị trí, kỹ thuật gây đột biến thông lượng cao, kỹ thuật xáo trộn ADN, kỹ thuật tiên hóa protein, hoặc kỹ thuật bất kỳ khác đã biết phù hợp.

Tốt nhất là protein đột biến bất kỳ như vậy đều có trình tự axit amin đủ giống hệt với IL-18BP, hoặc đủ giống hệt với IL-18BP của virus, chẳng hạn như có hoạt tính tương tự về cơ bản với IL-18BP. Một hoạt tính của IL-18BP là khả năng liên kết IL-18 của nó. Miễn là protein đột biến có hoạt tính liên kết đáng kể với IL-18, nó có thể được sử dụng để tinh chế IL-18, chẳng hạn như bằng phương pháp sắc ký ái lực, và do đó có thể được coi là có hoạt tính tương tự về cơ bản với IL-18BP. Do đó, có thể xác định xem protein đột biến nhất định bất kỳ về cơ bản có các hoạt tính tương tự như IL-18BP hay không bằng thử nghiệm thường quy bao gồm việc tạo ra một protein đột biến như vậy, ví dụ đối với một xét nghiệm cạnh tranh kiểu bánh kẹp đơn giản để xác định xem nó có liên kết với IL-18 được đánh dấu thích hợp hay không, chẳng hạn như xét nghiệm miễn dịch phóng xạ hoặc xét nghiệm ELISA.

Các protein đột biến của polypeptit IL-18BP hoặc các protein đột biến của IL-18BP của virus có thể được sử dụng theo sáng chế, hoặc do đó mã hóa axit nucleic, bao gồm một tập hợp hữu hạn các trình tự tương ứng về cơ bản là các peptit hoặc polynucleotit thay thế có thể thu được thường xuyên bằng một hiệu

biết trung bình trong lĩnh vực này mà không cần thử nghiệm quá mức, dựa trên những chỉ dẫn và hướng dẫn được trình bày ở đây.

Các thay đổi được ưu tiên đối với các protein đột biến theo sáng chế được gọi là các thay thế "bảo toàn". Những sự thay thế axit amin bảo toàn của polypeptit IL-18BP hoặc protein hoặc IL-18BP của virus, có thể bao gồm các axit amin đồng nghĩa trong một nhóm có các đặc tính hóa lý tương tự đủ để thay thế giữa các thành viên của nhóm sẽ bảo toàn chức năng sinh học của phân tử (Grantham, 1974). Rõ ràng là việc chèn và xóa bỏ axit amin cũng có thể được thực hiện theo trình tự được xác định ở trên mà không làm thay đổi chức năng của chúng, đặc biệt là nếu việc chèn hoặc xóa bỏ chỉ liên quan đến một vài axit amin, ví dụ, dưới ba mươi, và tốt nhất là dưới mười, và không loại bỏ hoặc thay thế các axit amin quan trọng đối với cấu trúc chức năng, ví dụ, các gốc cystein. Protein và protein đột biến được tạo ra bằng cách xóa bỏ và/hoặc chèn như vậy cũng thuộc phạm vi của sáng chế.

"Các dẫn xuất chức năng" như được sử dụng ở đây bao gồm các dẫn xuất của các IL-18BP hoặc IL-18BP của virus, và protein đột biến và protein dung hợp của chúng, có thể được điều chế từ các nhóm chức năng xuất hiện dưới dạng chuỗi phụ trên các gốc hoặc các nhóm đầu N- hoặc C-, bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này, và được đưa vào sáng chế miễn là chúng vẫn còn được dụng, tức là chúng không vô hiệu hóa hoạt tính của protein mà về cơ bản tương tự với hoạt tính của IL-18BP, hoặc IL-18BP của virus, và không tạo ra các đặc tính độc hại cho các chế phẩm chứa nó.

Ví dụ, các dẫn xuất này có thể bao gồm các chuỗi phụ polyetylen glycol, có thể làm ẩn các vị trí kháng nguyên và làm tăng sự lưu trú của IL-18BP hoặc IL-18BP của virus trong dịch cơ thể. Các dẫn xuất khác bao gồm các este béo của các nhóm carboxyl, các amit của các nhóm carboxyl bằng phản ứng với amoniac hoặc với các amin bậc một hoặc bậc hai, các dẫn xuất N-acyl của các nhóm amin tự do của gốc axit amin được tạo thành với các gốc acyl (ví dụ, alkanol hoặc các nhóm aroyl cacbocyclic) hoặc các dẫn xuất O-acyl của các nhóm

hydroxyl tự do (ví dụ, các gốc seryl hoặc threonyl) được tạo thành với các gốc acyl.

Là "mảnh chức năng" của IL-18BP, hoặc IL-18BP của virut, protein đột biến và protein dung hợp, sáng chế đề cập đến đoạn hoặc tiền chất bất kỳ của chuỗi polypeptit của phân tử protein IL-18BP đơn lẻ hoặc cùng với các phân tử hoặc gốc liên quan liên kết với nó, ví dụ, các gốc đường hoặc phosphat, hoặc tập hợp của phân tử protein hoặc các gốc đường của chính chúng, miễn là phân đoạn này có hoạt tính về cơ bản tương tự như IL-18BP.

Thuật ngữ "muối" ở đây dùng để chỉ cả muối của nhóm carboxyl và muối cộng axit của nhóm amin của phân tử IL-18BP hoặc các chất tương tự của chúng. Các muối của nhóm carboxyl có thể được tạo thành bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này và bao gồm các muối vô cơ, ví dụ, muối natri, canxi, amoni, các muối sắt hoặc kẽm, và các muối tương tự, và các muối với bazơ hữu cơ được tạo thành, ví dụ, với amin, chẳng hạn như triethanolamin, arginin hoặc lysin, piperidin, procain và các loại tương tự. Các muối cộng axit bao gồm, ví dụ, muối với axit khoáng, chẳng hạn như, ví dụ, axit clohydric hoặc axit sulfuric và muối với axit hữu cơ, chẳng hạn như axit axetic hoặc axit oxalic. Tất nhiên, muối bất kỳ như vậy phải giữ được hoạt tính sinh học của IL-18BP, ví dụ, khả năng liên kết IL-18.

"Đồng phân" của IL-18BP là các protein có khả năng liên kết IL-18 hoặc đoạn của chúng, có thể được tạo ra bằng cách nối thay thế.

Thuật ngữ "các dẫn xuất hoán vị vòng" như được sử dụng ở đây đề cập đến phân tử mạch thẳng mà đầu cuối đã được nối với nhau, trực tiếp hoặc thông qua trình tự liên kết, để tạo ra phân tử tròn, và sau đó phân tử tròn được mở ở một vị trí khác để tạo ra phân tử mạch thẳng mới với điểm cuối khác với điểm cuối trong phân tử ban đầu. Hoán vị vòng bao gồm những phân tử có cấu trúc tương đương với phân tử đã được tạo vòng và sau đó mở ra. Do đó, một phân tử hoán vị vòng có thể được tổng hợp de novo như một phân tử mạch thẳng và không

bao giờ trải qua bước tạo vòng và mở. Việc chuẩn bị các dẫn xuất hoán vị vòng được mô tả trong W095/27732.

Cụm từ "mức IL-18 tự do bất thường" chỉ mức IL-18 tăng hoặc giảm so với giá trị được phát hiện trong dịch cơ thể của đối tượng đối chứng khỏe mạnh. Đặc biệt, các mức bất thường này có nghĩa là giá trị IL-18 tăng lên. Đặc biệt, mức IL-18 tự do bất thường trong dịch cơ thể vượt quá mức trong dịch cơ thể của một đối tượng đối chứng khỏe mạnh là 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, hoặc hơn 100%. Theo một số phương án nhất định của sáng chế, giá trị tham chiếu hoặc đối chứng là giá trị cơ bản bình thường, không bệnh lý đối với IL-18 tự do được xác định ở bệnh nhân được điều trị.

Cụm từ "tỷ lệ bất thường của IL-18 tự do/IL-18BP" đề cập đến tỷ lệ IL-18 trên IL-18BP tăng so với các giá trị được tìm thấy trong dịch cơ thể của đối tượng đối chứng khỏe mạnh. Đặc biệt, tỷ lệ bất thường của IL-18 tự do so với IL-18BP trong dịch cơ thể vượt quá tỷ lệ trong dịch cơ thể của đối tượng đối chứng khỏe mạnh là 1%, 2,5%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40 %, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, hoặc hơn 100%. Theo một số phương án nhất định của sáng chế, giá trị tham chiếu hoặc đối chứng là giá trị cơ bản bình thường, không bệnh lý đối với IL-18 tự do được xác định ở bệnh nhân được điều trị.

Các cụm từ "làm câm gen" và "làm câm gen sau phiên mã" có nghĩa là sự điều hòa ức chế biểu hiện gen bằng cơ chế khác với cơ chế cải biến gen. Quá trình làm câm xảy ra bởi sự trung hòa mARN ở cấp độ sau phiên mã, trong đó quá trình dịch mã mARN bị ngăn cản để tạo thành sản phẩm gen hoạt động, trong hầu hết các trường hợp thường là một protein.

Thuật ngữ "khuynh hướng" có nghĩa là tính nhạy cảm tăng của một đối tượng đối với việc phát triển một căn bệnh cụ thể. Trong trường hợp hiện tại, một đối tượng được phân loại là dễ mắc bệnh nếu chẳng hạn mức IL-18 tăng cao xuất hiện trong phổi, huyết thanh, đờm, dịch rửa phế quản-phế nang (BALF) hoặc tuần hoàn.

Các cụm từ “khói”, “do khói thuốc”, “khói thuốc lá” hoặc “khói thuốc lá gây ra” đề cập đến khói thuốc lá.

"Đại thực bào phế nang" là một loại phụ của đại thực bào được tìm thấy trong phế nang phổi. Chúng thường chứa các hạt vật chất ngoại sinh mà chúng tiếp nhận từ các bề mặt hô hấp. Những hạt đen như vậy đặc biệt phổ biến ở những người tiếp xúc lâu với bụi mịn, hạt mịn, ví dụ như những người hút thuốc hoặc cư dân thành phố lâu năm.

"Đáp ứng xytokin Th2" qua trung gian với IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13 và/hoặc IL-17A, đặc biệt IL-4 và/hoặc IL-8 và/hoặc IL-17A, trong khi "đáp ứng xytokin Th1" được trung gian bởi interferon-gamma (IFN- γ), IL-2, và yếu tố hoại tử khối u alpha (TNF- α).

Cụm từ "mất cân bằng IL-18/IL-18 BP" liên quan đến sự rối loạn điều hòa tương tác lẫn nhau của IL-18 và IL-18 BP, cuối cùng dẫn đến mức IL-18 không liên kết tăng cao.

"Bệnh" là tình trạng sức khỏe của động vật trong đó động vật không thể duy trì cân bằng nội môi, và trong đó nếu bệnh không được cải thiện thì sức khỏe của động vật tiếp tục xấu đi. Ngược lại, "rối loạn" ở động vật là tình trạng sức khỏe mà động vật có thể duy trì cân bằng nội môi, nhưng trong đó tình trạng sức khỏe của động vật kém thuận lợi hơn so với khi không có rối loạn. Nếu không được điều trị, chứng rối loạn không nhất thiết khiến tình trạng sức khỏe của động vật giảm thêm.

Bệnh hoặc rối loạn được "giảm nhẹ" nếu mức độ nghiêm trọng của triệu chứng của bệnh hoặc rối loạn, tần suất mà một đối tượng hoặc cả hai gặp phải triệu chứng đó đều giảm.

Các thuật ngữ "rối loạn điều tiết" hoặc "rối loạn điều hòa", như được sử dụng ở đây, đề cập đến sự suy giảm trong quá trình sinh học, do đó có thể dẫn đến di chứng sinh lý có hại hoặc biểu hiện bất thường của gen, axit nucleic, protein, peptit, hoặc phân tử sinh học khác. Trong trường hợp sự biểu hiện của gen, axit nucleic, protein, peptit, hoặc phân tử sinh học khác bị rối loạn điều tiết,

thì gen, axit nucleic, protein, peptit, hoặc phân tử sinh học khác được biểu hiện, xử lý, hoặc duy trì ở các mức nằm ngoài những gì được coi là phạm vi bình thường của gen, axit nucleic, protein, peptit, hoặc phân tử sinh học khác đó như được xác định bởi nghệ nhân có tay nghề cao. Rối loạn điều hòa của gen, axit nucleic, protein, peptit, hoặc phân tử sinh học khác ở động vật có vú có thể được xác định bằng cách đo mức độ của gen, axit nucleic, protein, peptit, hoặc phân tử sinh học khác ở động vật có vú và so sánh mức đo được ở động vật có vú đó với mức đo được trong một quần thể phù hợp đã biết không bị rối loạn điều hòa gen đó, axit nucleic, protein, peptit, hoặc phân tử sinh học khác bị rối loạn điều tiết. Ngoài ra, mức này có thể được so sánh với mức được đo ở cùng một cá thể tại một thời điểm khác nhau.

Các thuật ngữ "bệnh tim" hay "bệnh tim mạch" được sử dụng ở đây bao gồm các bệnh và các rối loạn ảnh hưởng đến cơ tim hoặc mạch máu của tim và cơ thể. Bệnh tim có thể dẫn đến suy tim và cuối cùng là một trong những nguyên nhân gây tử vong thường xuyên nhất trong các xã hội công nghiệp. Ví dụ về các bệnh tim do mất cân bằng IL-18/IL-18 BP bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở bệnh tim tắc nghẽn, rối loạn tiêu huyết khối, bệnh cơ tim do rượu, sa van động mạch chủ, hẹp van động mạch chủ, loạn nhịp tim, sốc tim, bệnh tim bẩm sinh, bệnh cơ tim giãn, nhồi máu cơ tim, suy tim, khối u tim, hẹp van tim động mạch phổi, bệnh cơ tim phì đại, bệnh cơ tim vô căn, bệnh tim thiếu máu cục bộ, bệnh cơ tim thiếu máu cục bộ, hở van hai lá, sa van hai lá, bệnh cơ tim sau sinh, đau thắt ngực ổn định.

Thuật ngữ "bệnh tiểu đường typ 2" được sử dụng ở đây là dạng bệnh tiểu đường phổ biến nhất. Bệnh hoặc tình trạng rối loạn này có đặc điểm là cơ thể không hoặc chỉ sản xuất không đủ enzym insulin hoặc các tế bào có khiếm khuyết trong phản ứng với insulin. Những khiếm khuyết như vậy được cho là có liên quan đến thụ thể insulin.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "nội sinh" đề cập đến vật liệu bất kỳ từ hoặc được sản xuất bên trong sinh vật, tế bào, mô hoặc hệ thống. Thuật ngữ

"ngoại sinh" đề cập đến vật liệu bất kỳ từ hoặc được sản xuất bên ngoài sinh vật, tế bào, mô hoặc hệ thống.

Thuật ngữ "biểu hiện" như được sử dụng ở đây được định nghĩa là sự phiên mã và/hoặc dịch mã của trình tự nucleotit cụ thể do trình tự khởi động của nó điều khiển. Thuật ngữ "vector biểu hiện" như được sử dụng ở đây đề cập đến vector chứa trình tự axit nucleic mã hóa cho ít nhất một phần của sản phẩm gen có khả năng được phiên mã. Trong một số trường hợp, phân tử ARN sau đó được dịch mã thành protein, polypeptit, hoặc peptit. Trong các trường hợp khác, các trình tự này không được dịch mã, ví dụ, trong việc sản xuất phân tử đối nghĩa, siARN, ribozym, và những phân tử tương tự. Các vector biểu hiện có thể chứa nhiều trình tự điều khiển, liên quan đến trình tự axit nucleic cần thiết cho việc phiên mã và có thể là bản dịch của trình tự mã hóa được liên kết hoạt động trong sinh vật chủ cụ thể. Ngoài trình tự điều khiển chi phối sự phiên mã và dịch mã, vector và vector biểu hiện có thể chứa trình tự axit nucleic cũng phục vụ các chức năng khác. Vector biểu hiện theo sáng chế có thể được sử dụng trong liệu pháp gen để điều trị bệnh hoặc rối loạn như được mô tả ở đây. Đặc biệt, vector biểu hiện nêu trên là vector virus. Các virus có thể được sử dụng như công cụ tiện để cung cấp vector biểu hiện được chọn từ nhóm retrovirus, adenovirus, lentivirus, virus herpes simplex, virus vaccinia, virus pox, và virus liên quan đến adeno.

Các thuật ngữ "ức chế", "trung hòa" hoặc "phong bế" như được sử dụng ở đây, phải được hiểu là các từ đồng nghĩa có nghĩa là giảm phân tử, phản ứng, tương tác, biểu hiện gen, mARN, và/hoặc biểu hiện của protein, tính ổn định, chức năng hoặc hoạt động của một số lượng có thể đo lường hoặc để ngăn chặn hoàn toàn. Chất ức chế là các hợp chất, ví dụ, liên kết với, ngăn chặn một phần hoặc toàn bộ, làm giảm, ngăn chặn, trì hoãn sự kích hoạt, bất hoạt, giải miễn cảm, hoặc điều hòa giảm protein, gen, và độ ổn định của mARN, biểu hiện, chức năng và hoạt động, ví dụ, chất đối kháng.

Thuật ngữ "vector biểu hiện đối nghĩa" dùng để chỉ vector biểu hiện, mã hóa ARN sợi đơn hoặc sợi kép bổ sung cho sợi ARN thông tin (mARN) và ức chế sự dịch mã của mARN đó thành axit amin. Thuật ngữ ARN đối nghĩa bao gồm asARN, siARN, shARN, microARN.

Thuật ngữ "liệu pháp gen" như được sử dụng ở đây có nghĩa là việc sử dụng ADN, ví dụ vector biểu hiện, như một tác nhân được để điều trị bệnh như được mô tả ở đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1: So sánh IL-18 tự do và tổng số ở từng bệnh nhân nhiễm trùng huyết. Dựa theo Novick et al 2001. Mức IL-18 tự do (vòng tròn kín) trong huyết thanh của bệnh nhân nhiễm trùng huyết khi nhập viện được tính dựa trên mức IL-18 tổng số (vòng tròn mở) và IL-18BP_a, có tính đến phức hợp 1:1 của IL-18 và IL-18BP_a và KD lý thuyết là 400 pM. Mỗi đường dọc liên kết IL-18 tự do và tổng số trong một mẫu huyết thanh riêng lẻ. Các xét nghiệm ELISA trên được thực hiện với cặp kháng thể được phát triển bởi Taniguchi và cộng sự 1997 1, cụ thể là các kháng thể 125-2H là kháng thể chính/bắt giữ và 159-12B là kháng thể thứ cấp/đang phát triển.

Fig. 2: Phát hiện IL-18 tổng số với các kháng thể 125-2H và 159-12B. Dữ liệu chỉ ra rằng cả hai kháng thể đều định lượng IL-18 tổng số.

Fig. 3: Chuẩn độ 400pg/ml IL-18 là hàm của mức IL-18BP.

Fig. 4: Cảm ứng IL-18 của chuột trong không gian đường thở phổi vào ngày thứ 5 sau khi 1) tiếp xúc với không khí, 2) khói thuốc lá (TS), 3) p[I:C] đơn lẻ, 4) p[I:C] kết hợp với khói thuốc lá vào ngày thứ 4 (khởi phát đợt cấp). Đường chấm cho biết giới hạn phát hiện dưới. Các phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng thử nghiệm t không bắt cặp.

Fig. 5: Ức chế sự xâm nhập toàn bộ tế bào trong không gian đường thở ở phổi chuột vào ngày thứ 5 sau khi 1) tiếp xúc với không khí, 2) khói thuốc lá (TS), 3) p[I:C] đơn lẻ, 4) p[I:C] kết hợp với khói thuốc lá vào ngày thứ 4 (khởi phát đợt cấp), 5-7) p[I:C] kết hợp với khói thuốc lá vào ngày thứ 4 trong điều trị

IL-18BP ở mức 1, 3 hoặc 10 mg/kg, 8) điều trị dexamethasone ở mức 10 mg/kg. Các phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng thử nghiệm t không ghép đôi.

Fig. 6: Ức chế sự xâm nhập toàn bộ tế bào trong không gian đường thở ở phổi chuột vào ngày thứ 5 sau khi 1) tiếp xúc với không khí, 2) khói thuốc lá (TS), 3) p[I:C] đơn lẻ, 4) p[I:C] kết hợp với khói thuốc lá vào ngày thứ 4 (khởi phát đợt cấp), 5) p[I:C] kết hợp với khói thuốc lá vào ngày thứ 4 trong điều trị IL-18BP ở mức 10 mg/kg, 6) điều trị dexamethasone ở mức 10 mg/kg. Các phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng thử nghiệm ANOVA (post-test Sidak's).

Fig. 7: Ức chế sự xâm nhập của bạch cầu trung tính bởi IL-18BP. Sự xâm nhập của bạch cầu trung tính trong không gian đường thở ở phổi chuột được theo dõi vào ngày thứ 5 sau khi 1) tiếp xúc với không khí, 2) khói thuốc lá (TS), 3) p[I:C] đơn lẻ, 4) p[I:C] kết hợp với khói thuốc lá vào ngày thứ 4 (khởi phát đợt cấp), 5-7) p[I:C] kết hợp với khói thuốc lá vào ngày thứ 4 với việc điều trị IL-18BP ở mức 1, 3 hoặc 10 mg/kg, 8) điều trị dexamethasone ở mức 10 mg/kg. Các phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng thử nghiệm ANOVA (post-test Sidak's).

Fig. 8: Ức chế sự xâm nhập của bạch cầu trung tính bởi IL-18BP. Sự xâm nhập của bạch cầu trung tính trong không gian đường thở ở phổi chuột được theo dõi vào ngày thứ 5 sau khi 1) tiếp xúc với không khí, 2) khói thuốc lá (TS), 3) p[I:C] đơn lẻ, 4) p[I:C] kết hợp với khói thuốc lá vào ngày thứ 4 (khởi phát đợt cấp), 5) p[I:C] kết hợp với khói thuốc lá vào ngày thứ 4 với việc điều trị IL-18BP ở mức 10 mg/kg, 6) điều trị dexamethasone ở mức 10 mg/kg. Các phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng thử nghiệm ANOVA (post-test Sidak's).

Fig. 9: Sự ức chế đường G-CSF bởi IL-18BP. Sự có mặt của G-CSF (pg/ml) được theo dõi trong không gian đường thở ở phổi chuột bằng ELISA vào ngày thứ 5 sau khi 1) tiếp xúc với không khí, 2) khói thuốc lá (TS), 3) p[I:C]

đơn lẻ, 4) p[I:C] kết hợp với khối thuốc lá vào ngày thứ 4 (khởi phát đợt cấp), 5-7) p[I:C] kết hợp với khối thuốc lá vào ngày thứ 4 trong điều trị IL-18BP ở mức 1, 3 hoặc 10 mg/kg, 8) điều trị dexamethasone ở mức 10 mg/kg. Đường chấm cho biết giới hạn phát hiện dưới. Các phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng Students t-test.

Fig. 10: Giảm cân bằng IL-18BP. Sự giảm cân của chuột vào ngày thứ 5 sau khi 1) tiếp xúc với không khí, 2) khối thuốc lá (TS), 3) p[I:C] đơn lẻ, 4) p[I:C] kết hợp với khối thuốc lá vào ngày thứ 4 (khởi phát đợt cấp), 5) p[I:C] kết hợp với khối thuốc lá vào ngày thứ 4 trong điều trị IL-18BP ở mức 10 mg/kg, 7) điều trị dexamethasone ở mức 10 mg/kg. Các phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng thử nghiệm ANOVA (post-test Sidak's).

Fig. 11: trình bày trình tự axit amin của chuỗi nặng biến đổi (VH) và chuỗi nhẹ biến đổi (VK) của các kháng thể được tạo ra bởi các dòng vô tính khác nhau. Các vùng xác định bổ thể CDR 1, CDR 2 và CDR 3 được xác định bằng cách gạch dưới các trình tự tương ứng được xác định bởi hệ thống đánh số IMGT (Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Research, 27, 209-212 (1999)). Từ trái sang phải, trình tự gạch dưới đầu tiên trong mỗi trình tự VH và VK được hiển thị đại diện cho CDR1, trình tự gạch dưới thứ hai đại diện cho CDR 2, trình tự gạch dưới thứ ba đại diện cho CDR 3. Miền biến đổi được đánh dấu bằng nét đậm.

CÁC TRÌNH TỰ

SEQ ID NO 1: IL-18 Epitop 1: Tyr-Phe-Gly-Lys-Leu-Glu-Ser-Lys-Leu-Ser-Val-Ile-Arg-Asn

SEQ ID NO 2: IL-18 Epitop 2: Phe-Ile-Ile-Ser-Met-Tyr-Lys-Asp-Ser-Gln-Pro-Arg-Gly-Met-Ala-Val-Thre-Ile-Ser-Val-Lys

SEQ ID NO 3: IL-18 Epitop 3: Glu-Met-Asn-Pro-Pro-Asp-Asn-Ile-Lys-Asp-Thr-Lys-Ser-Asp-Ile-Ile-Phe

SEQ ID NO 4: IL-18 Epitop 4: Tyr-Phe-Gly-Lys-Leu-Glu-Ser

SEQ ID NO 5: IL-18 Epitop 5: Tyr-Lys-Asp-Ser-Gln-Pro-Arg-Gly-Met-Ala

SEQ ID NO 6: IL-18 Epitop 6: Asp-Asn-Ile-Lys-Asp-Thr-Lys

SEQ ID NO 7: Protein liên kết IL-18 (IL-18BP)

SEQ ID NO: 8: Trình tự liên kết 13 axit amin: Glu-Phe-Gly-Ala-Gly-Leu-Val-Leu-Gly-Gly-Gln-Phe-Met

SEQ ID NO: 9: Trình tự VH của kháng thể 107C6

SEQ ID NO:10: Trình tự VK của kháng thể 107C6

SEQ ID NO: 11: Trình tự VH của kháng thể 108F8

SEQ ID NO: 12: Trình tự VK của kháng thể 108F8

SEQ ID NO: 13: Trình tự VH của kháng thể 109A6

SEQ ID NO: 14: Trình tự VK của kháng thể 109A6

SEQ ID NO: 15: Trình tự VH của kháng thể 111A6

SEQ ID NO: 16: Trình tự 1 VK của kháng thể 111A6

SEQ ID NO: 17: Trình tự 2 VK của kháng thể 111A6

SEQ ID NO: 18: Trình tự VH của kháng thể 131B4

SEQ ID NO: 19: Trình tự VK của kháng thể 131B4

SEQ ID NO: 20: Trình tự 1 VH của kháng thể 131E8

SEQ ID NO: 21: Trình tự 2 VH của kháng thể 131E8

SEQ ID NO: 22: Trình tự VK của kháng thể 131E8

SEQ ID NO: 23: Trình tự VH của kháng thể 132H4

SEQ ID NO: 24: Trình tự VK của kháng thể 132H4

SEQ ID NO: 25: Trình tự VH của kháng thể 133A6

SEQ ID NO: 26: Trình tự VK của kháng thể 133A6

SEQ ID NO: 27: Trình tự CDR1 VH của kháng thể 107C6 : Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly

SEQ ID NO: 28: Trình tự CDR2 VH của kháng thể 107C6; Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro

SEQ ID NO: 29: Trình tự CDR3 VH của kháng thể 107C6: Ala Arg Glu
Gly Tyr Ser Thr Thr Arg Ser Met Asp Tyr

SEQ ID NO: 30: Trình tự CDR1 VK của kháng thể 107C6: Gln Ser Leu
Leu Asp Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr

SEQ ID NO: 31: Trình tự CDR2 VK của kháng thể 107C6: Trp Ala Ser

SEQ ID NO: 32: Trình tự CDR3 VK của kháng thể 107C6 : Lys Gln Ser
Tyr Asn Leu Arg Thr

SEQ ID NO: 33: Trình tự CDR1 VH của kháng thể 108F8 : Gly Tyr Thr
Phe Thr Asn Tyr Gly

SEQ ID NO: 34: Trình tự CDR2 VH của kháng thể 108F8 : Ile Asn Thr
Tyr Ser Gly Val Pro

SEQ ID NO: 35: Trình tự CDR3 VH của kháng thể 108F8: Ala Arg Glu
Gly Tyr Ser Thr Thr Arg Ser Met Asp Tyr

SEQ ID NO: 36: Trình tự CDR1 VK của kháng thể 108F8: Gln Ser Leu
Leu Asp Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr

SEQ ID NO: 37: Trình tự CDR2 VK của kháng thể 108F8: Trp Ala Ser

SEQ ID NO: 38: Trình tự CDR3 VK của kháng thể 108F8: Lys Gln Ser
Tyr Asn Leu Arg Thr

SEQ ID NO: 39: Trình tự CDR1 VH của kháng thể 109A6: Gly Phe Lys Ile
Lys Asp Thr Tyr

SEQ ID NO: 40: Trình tự CDR2 VH của kháng thể 109A6: Ile Asp Pro Ala
Asn Gly Asn Thr

SEQ ID NO: 41: Trình tự CDR3 VH của kháng thể 109A6: Ala Gly Tyr
Val Trp Phe Ala Tyr

SEQ ID NO: 42: Trình tự CDR1 VK của kháng thể 109A6: Gln Arg Leu
Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr

SEQ ID NO: 43:: Trình tự CDR2 VK của kháng thể 109A6: Thr Val Ser

SEQ ID NO: 44: Trình tự CDR3 VK của kháng thể 109A6: Ser Gln Ser
Thr Leu Val Pro Trp Thr

SEQ ID NO: 45: Trình tự CDR1 VH của kháng thể 111A6: Gly Phe Lys Ile
Lys Asp Thr Tyr

SEQ ID NO: 46 Trình tự CDR2 VH của kháng thể 111A6: Ile Asp Pro Ala
Asn Gly Asn Thr

SEQ ID NO: 47: Trình tự CDR3 VH của kháng thể 111A6: Ala Gly Tyr
Val Trp Phe Ala Tyr

SEQ ID NO: 48: Trình tự 1 CDR1 VK của kháng thể 111A6: Ser Ser Val
Ser Ser Ser Tyr

SEQ ID NO: 49: Trình tự 1 CDR2 VK của kháng thể 111A6: Ser Thr Ser

SEQ ID NO 50: Trình tự 1 CDR3 VK của kháng thể 111A6: Gln Gln Tyr
Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

SEQ ID NO: 51: Trình tự 2 CDR1 VK của kháng thể 111A6: Gln Arg Leu
Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr

SEQ ID NO: 52: Trình tự 2 CDR2 VK của kháng thể 111A6: Thr Val Ser

SEQ ID NO: 53: Trình tự 2 CDR3 VK của kháng thể 111A6: Ser Gln Ser
Thr Leu Val Pro Trp Thr

SEQ ID NO: 54: Trình tự CDR1 VH của kháng thể 131B4: Gly Phe Lys Ile
Lys Asp Thr Tyr

SEQ ID NO: 55: Trình tự CDR2 VH của kháng thể 131B4: Ile Asp Pro Ala
Asn Gly Asn Thr

SEQ ID NO: 56: Trình tự CDR3 VH của kháng thể 131B4: Ala Gly Tyr
Val Trp Phe Ala Tyr

SEQ ID NO: 57: Trình tự CDR1 VK của kháng thể 131B4: Gln Ser Leu
Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr

SEQ ID NO: 58: Trình tự CDR2 VK của kháng thể 131B4: Lys Val Ser

SEQ ID NO: 59: Trình tự CDR3 VK của kháng thể 131B4: Ser Gln Ser Ser
Leu Val Pro Trp Thr

SEQ ID NO: 60: Trình tự 1 CDR1 VH của kháng thể 131E8: Gly Phe Ser
Leu Pro Asn Tyr Gly

SEQ ID NO: 61: Trình tự 1 CDR2 VH của kháng thể 131E8: Ile Trp Ser
Gly Gly Ser Thr

SEQ ID NO: 62: Trình tự 1 CDR3 VH của kháng thể 131E8: Ala Arg Asn
Phe Tyr Ser Lys Tyr Asp Tyr Ala Met Asp Tyr

SEQ ID NO: 63: Trình tự 2 CDR1 VH của kháng thể 131E8: Gly Tyr Thr
Phe Thr Ser Tyr Trp

SEQ ID NO: 64: Trình tự 2 CDR2 VH của kháng thể 131E8: Ile Asn Pro
Asn Ser Gly Ser Thr

SEQ ID NO: 65: Trình tự 2 CDR3 VH của kháng thể 131E8: Ala Arg Leu
Gly Asp Tyr

SEQ ID NO: 66: Trình tự CDR1 VK của kháng thể 131E8: Ser Ser Val Ser
Tyr

SEQ ID NO: 67: Trình tự CDR2 VK của kháng thể 131E8: Asp Thr Ser

SEQ ID NO: 68: Trình tự CDR3 VK của kháng thể 131E8: Phe Gln Gly
Ser Gly Tyr Pro Leu Thr

SEQ ID NO: 69: Trình tự CDR1 VH của kháng thể 132H4: Gly Phe Thr
Phe Ser Asn Tyr Ala

SEQ ID NO: 70: Trình tự CDR2 VH của kháng thể 132H4: Ile Ser Ser Gly
Gly Ala Asn Ile

SEQ ID NO: 71: Trình tự CDR3 VH của kháng thể 132H4: Ala Arg Gly
Asp Tyr Phe Asn His Phe Trp Phe Ala Tyr

SEQ ID NO: 72: Trình tự CDR1 VK của kháng thể 132H4: Gln Ser Ile Val
His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr

SEQ ID NO: 73: Trình tự CDR2 VK của kháng thể 132H4: Lys Val Ser

SEQ ID NO: 74: Trình tự CDR3 VK của kháng thể 132H4: Phe Gln Gly
Ser His Val Pro Trp Thr

SEQ ID NO: 75: Trình tự CDR1 VH của kháng thể 133A6: Gly Phe Thr
Phe Ser Asn Tyr Ala

SEQ ID NO: 76: Trình tự CDR2 VH của kháng thể 133A6: Ile Ser Ser Gly
Gly Gly Asn Ile

SEQ ID NO: 81: Trình tự ADN VH của kháng thể 107C6

SEQ ID NO: 82: Trình tự VH của kháng thể 107C6

SEQ ID NO: 83: Trình tự ADN VK của kháng thể 107C6

SEQ ID NO: 84: Trình tự VK của kháng thể 107C6

SEQ ID NO: 85: Trình tự VH của kháng thể 108F8

SEQ ID NO: 86: Trình tự VH của kháng thể 108F8

SEQ ID NO: 87: Trình tự ADN VK của kháng thể 108F8

SEQ ID NO: 88: Trình tự VK của kháng thể 108F8

SEQ ID NO: 89: Trình tự ADN VH của kháng thể 109A6

SEQ ID NO: 90: Trình tự VH của kháng thể 109A6

SEQ ID NO: 91: Trình tự ADN VK của kháng thể 109A6

SEQ ID NO: 92: Trình tự VK của kháng thể 109A6

SEQ ID NO: 93: Trình tự ADN VH của kháng thể 111A6

SEQ ID NO: 94: Trình tự VH của kháng thể 111A6

SEQ ID NO: 95: Trình tự ADN 1 VK của kháng thể 111A6

SEQ ID NO: 96: Trình tự 1 VK của kháng thể 111A6

SEQ ID NO: 97: Trình tự ADN 2 VK của kháng thể 111A6

SEQ ID NO: 98: Trình tự 2 VK của kháng thể 111A6

SEQ ID NO: 99: Trình tự ADN 1 VH của kháng thể 131B4

SEQ ID NO: 100: Trình tự 1 VH của kháng thể 131B4

SEQ ID NO: 101: Trình tự ADN 2 VH của kháng thể 131B4

SEQ ID NO: 102: Trình tự 2 VH của kháng thể 131B4

SEQ ID NO: 103: Trình tự miền biến đổi 2 VH của kháng thể 131B4

SEQ ID NO: 104: Trình tự 2 CDR1 VH của kháng thể 131B4

SEQ ID NO: 105: Trình tự 2 CDR2 VH của kháng thể 131B4

SEQ ID NO: 106: Trình tự 2 CDR3 VH của kháng thể 131B4

SEQ ID NO: 107: Trình tự ADN 3 VH của kháng thể 131B4

SEQ ID NO: 108: Trình tự 3 VH của kháng thể 131B4
SEQ ID NO: 109: Trình tự miền biến đổi 3 VH của kháng thể 131B4
SEQ ID NO: 110: Trình tự 3 CDR1 VH của kháng thể 131B4
SEQ ID NO: 111: Trình tự 3 CDR2 VH của kháng thể 131B4
SEQ ID NO: 112: Trình tự 3 CDR3 VH của kháng thể 131B4
SEQ ID NO: 113: Trình tự ADN VK của kháng thể 131B4
SEQ ID NO: 114: Trình tự VK của kháng thể 131B4
SEQ ID NO: 115: Trình tự ADN 1 VH của kháng thể 131E8
SEQ ID NO: 116: Trình tự 1 VH của kháng thể 131E8
SEQ ID NO: 117: Trình tự ADN 2 VH của kháng thể 131E8
SEQ ID NO: 118: Trình tự 2 VH của kháng thể 131E8
SEQ ID NO: 119: Trình tự ADN 3 VH của kháng thể 131E8
SEQ ID NO: 120: Trình tự 3 VH của kháng thể 131E8
SEQ ID NO: 121: Trình tự miền biến đổi 3 VH của kháng thể 131E8
SEQ ID NO: 122: Trình tự 3 CDR1 VH của kháng thể 131E8
SEQ ID NO: 123: Trình tự 3 CDR2 VH của kháng thể 131E8
SEQ ID NO: 124: Trình tự 3 CDR3 VH của kháng thể 131E8
SEQ ID NO: 125: Trình tự ADN VK của kháng thể 131E8
SEQ ID NO: 126: Trình tự VK của kháng thể 131E8
SEQ ID NO: 127: Trình tự ADN VH của kháng thể 131H1
SEQ ID NO: 128: Trình tự VH của kháng thể 131H1
SEQ ID NO: 129: Trình tự miền biến đổi VH của kháng thể 131H1
SEQ ID NO: 130: Trình tự CDR1 VH của kháng thể 131H1
SEQ ID NO: 131: Trình tự CDR2 VH của kháng thể 131H1
SEQ ID NO: 132: Trình tự CDR3 VH của kháng thể 131H1
SEQ ID NO: 133: Trình tự ADN 1 VK của kháng thể 131H1
SEQ ID NO: 134: Trình tự 1 VK của kháng thể 131H1
SEQ ID NO: 135: Trình tự miền biến đổi 1 VK của kháng thể 131H1
SEQ ID NO: 136: Trình tự 1 CDR1 VK của kháng thể 131H1

SEQ ID NO: 137: Trình tự 1 CDR2 VK của kháng thể 131H1
 SEQ ID NO: 138: Trình tự 1 CDR3 VK của kháng thể 131H1
 SEQ ID NO: 139: Trình tự ADN 2 VK của kháng thể 131H1
 SEQ ID NO: 140: Trình tự 2 VK của kháng thể 131H1
 SEQ ID NO: 141: Trình tự miền biến đổi 2 VK của kháng thể 131H1
 SEQ ID NO: 142: Trình tự 2 CDR1 VK của kháng thể 131H1
 SEQ ID NO: 143: Trình tự 2 CDR2 VK của kháng thể 131H1
 SEQ ID NO: 144: Trình tự 2 CDR3 VK của kháng thể 131H1
 SEQ ID NO: 145: Trình tự ADN VH của kháng thể 132H4
 SEQ ID NO: 146: Trình tự VH của kháng thể 132H4
 SEQ ID NO: 147: Trình tự ADN VK của kháng thể 132H4
 SEQ ID NO: 148: Trình tự VK của kháng thể 132H4
 SEQ ID NO: 149: Trình tự ADN VH của kháng thể 133A6
 SEQ ID NO: 150: Trình tự VH của kháng thể 133A6
 SEQ ID NO: 151: Trình tự ADN VK của kháng thể 133A6
 SEQ ID NO: 152: Trình tự VK của kháng thể 133A6

Ví dụ thực hiện sáng chế

A. Phát hiện IL-18 tự do so với phức hợp IL-18/IL-18BP

1. Phát hiện chung IL-18 ở bệnh nhân

Định lượng IL-18 của người ở bệnh nhân được thực hiện với xét nghiệm ELISA phát hiện IL-18 tổng số (cả dạng IL-18BP tự do và phức hợp). ELISA bao gồm các kháng thể có sẵn trên thị trường (xem Bảng 8 bên dưới). Hầu hết các xét nghiệm ELISA phổ biến được thực hiện với cặp kháng thể kháng-IL-18 được phát triển bởi Taniguchi và cộng sự 1997 và được bán bởi các nhà cung cấp khác nhau, cụ thể là kháng thể chuột đơn dòng 125-2H là kháng thể chính/bắt giữ và chuột đơn dòng 159-12B là kháng thể thứ cấp/đang phát triển.

<u>Bảng 8: Các ấn phẩm khoa học báo cáo định lượng IL-18 ở bệnh nhân</u>		
Tài liệu tham khảo	Xét nghiệm, bệnh	Các kháng thể và nguồn thương mại
Wong CK et al 2000	Các mức IL-18 và IL-12 trong huyết tương, Lupus Erythematosus hệ thống	1. Kit ELISA IL-18 của người, từ MBL, #7620 2. Kit ELISA IL-12 ở người, từ R&D Systems, #DP400
Park MC et al 2004	Mức IL-18 trong huyết thanh, Lupus Erythematosus hệ thống	Kit ELISA IL-18 của người, từ R&D Systems giống như MBL kit #7620
Novick D et al 2001	IL-18 và IL-18BP trong huyết thanh, Nhiễm trùng huyết	1. Hai kháng thể IL-18 của người từ R&D Systems (chuột đơn dòng được đánh dấu biotin khi bắt giữ # N/A và thô đa dòng được ruthenyl hóa khi phát hiện # N/A) 2. Hai kháng thể IL-18BP được phát triển bởi Interpharm and Serono mà không có sẵn trên thị trường, dòng vô tính MAbs No. 582.10 làm kháng thể bắt giữ (xem ở trên, đoạn 2.2. Phát hiện IL-18BP trong huyết thanh và nước tiểu của người) và kháng thể đa dòng thô để phát hiện.
Novick D et al 2010	Các mức IL-18 và IL-18BP trong huyết thanh, Lupus Erythematosus hệ thống	Tương tự như Novick et al 2001, xem hàng trên

<u>Bảng 8: Các ấn phẩm khoa học báo cáo định lượng IL-18 ở bệnh nhân</u>		
Tài liệu tham khảo	Xét nghiệm, bệnh	Các kháng thể và nguồn thương mại
Chen DY et al 2004	Các mức IL-18 trong huyết thanh, bệnh Still ở người trưởng thành	Kit ELISA IL-18 của người, từ Bender MedSystems (hiện nay là eBioscience) bao gồm 2 kháng thể IL-18 của người gọi là BMS267/2MST: 1. Kháng thể bắt giữ đơn dòng # N/A 2. Kháng thể phát hiện đơn dòng được đánh dấu với biotin # N/A và phản ứng được tiết lộ với streptavidin-HRP

2. Ước tính mức IL-18 tự do

Cho đến nay, không có báo cáo nào về mức IL-18 tự do đo được. Ước tính IL-18 tự do được thực hiện bằng phép ngoại suy sử dụng tính toán được mô tả bởi Novick và cộng sự 2004 (xem bên dưới). Dữ liệu so sánh mức IL-18 và IL-18BP ở người. Trong các nghiên cứu này, các nhà nghiên cứu đã sử dụng cặp kháng thể đơn dòng có sẵn trên thị trường kháng IL-18 125-2H và 159-12B, trong đó kháng thể 125-2H được sử dụng để bắt giữ và được biết là liên kết với phức hợp IL-18/IL-18BP (Argiradi et al 2009). Để tính IL-18 tự do trong huyết thanh bệnh nhân, họ đã áp dụng Định luật tác dụng khối lượng (the Law of Mass Action) với giả định rằng sự liên kết của các kháng thể IL-18 có thể đảo ngược. Việc tính toán được thực hiện như sau:

$$K_D = 0,4 \text{ nM} = ([\text{IL-18}] \times [\text{IL-18BP}]) / [\text{IL-18-IL-18BP}]$$

$$\text{Hoặc } [\text{IL-18}] \text{ trong nM} = (0,4 \times [\text{IL-18-IL-18BP}]) / [\text{IL-18BP}]$$

Trong đó:

IL-18-IL-18BP là phức hợp

Hằng số phân ly theo tính toán của Kim và cộng sự 2000, $K_D = 0,4 \text{ nM}$

Hệ số tỷ lượng 1:1 trong phức hợp IL-18-IL-18BP

Nồng độ IL-18 được xác định bằng điện hóa phát quang

Nồng độ IL-18BP được xác định bằng ELISA

Điều quan trọng cần lưu ý là các tác giả nhận thấy sự khác biệt lớn của IL-18 tự do so với IL-18 tổng số giữa các bệnh nhân mà không phản ánh tỷ lệ IL-18 so với IL-18BP. Điều thú vị là tỷ lệ IL-18/IL-18BP này không được báo cáo trong các ấn phẩm được trích dẫn. Hơn nữa, các kháng thể kháng IL-18 không có khả năng phân biệt giữa IL-18 tự do và IL-18/IL-18BP dạng phức hợp. Cuối cùng, như mô tả của Novick và cộng sự 2001, các kháng thể kháng IL-18BP không phát hiện IL-18BP dạng tự do mà là IL-18BP tổng số vì chúng được báo cáo là không ngăn chặn sự tương tác giữa IL-18BP và IL-18, tương ứng là các kháng thể đơn dòng 582.10 và 657.27. Do đó, việc tính toán IL-18 tự do sử dụng nồng độ IL-18BP thiếu chính xác. Mặc dù đáng khích lệ, sự thay đổi dữ liệu chỉ ra rằng việc phát hiện IL-18 tự do có thể được cải thiện bằng xét nghiệm thích hợp hơn kết hợp các kháng thể hướng đích cụ thể vào vùng IL-18 liên kết với IL-18BP.

3. Xác nhận rằng các kháng thể thường được sử dụng trên thị trường không phát hiện IL-18 tự do

Mười một kháng thể đơn dòng kháng IL-18 có sẵn trên thị trường đã được kiểm tra về khả năng ngăn chặn tương tác IL-18 bất kỳ với IL-18BP. Dữ liệu dưới đây chứng minh rằng không phải như vậy và không có kháng thể nào được thử nghiệm liên kết với vị trí tương tác giữa IL-18 và IL-18BP. Do đó, việc phát hiện IL-18 tự do trong mẫu người yêu cầu phải có thiết kế và phương pháp tiếp cận cụ thể hướng đích, ví dụ, vị trí liên kết IL-18 /epitop liên kết với IL-18BP.

Các kháng thể 125-2H và 159-12B thường được sử dụng đã được thử nghiệm cho cả kháng thể bắt giữ và phát triển (xem Fig. 2). Dữ liệu chỉ ra rằng cả hai kháng thể đều không nhận ra được epitop IL-18 cho IL-18BP và do đó chỉ cung cấp định lượng IL-18 tổng số (cả dạng tự do và phức hợp của IL-18BP).

Song song với các kháng thể 125-2H và 159-12G, chín kháng thể đơn dòng có sẵn trên thị trường khác đã được thử nghiệm về khả năng phát hiện IL-18 tự do của chúng trong các điều kiện tương tự như trên. Như được mô tả nêu trên, kháng thể như vậy sẽ có giá trị để phát hiện IL-18 tự do trong các mẫu sinh học. Danh sách các kháng thể có sẵn trên thị trường được thử nghiệm được đưa ra trong Bảng 9 dưới đây.

<u>Bảng 9</u> : Các kháng thể đơn dòng kháng IL-18 đã được thử nghiệm	
Công ty	Tên kháng thể
MBL International	D043-3, dòng 25-2G
	D-045-6 159-12B biotin
Santa Cruz Biotechnologies	sc-13602 (1.51E3E1)
	sc-133127 (E-8)
Abnova	MAB 1308, dòng mxsghk-18
	MAB8223, dòng SB116c1
	MAB8224, dòng SB116b1
	MAB9935, dòng 2
Millipore	04-1503 Anti-Interleukin 18 (dòng CPTC-IL-18-1)
Lifespan	LS-C137620 (dòng 50008-2)

Dữ liệu thu thập được chỉ ra rằng không có kháng thể nào có sẵn trên thị trường có thể phân biệt IL-18 tự do với phức hợp của nó với IL-18BP.

4. ELISA thiết lập để phát hiện IL-18 tự do

4.1. Bắt giữ IL-18 tự do với IL-18BP

Các tấm vi nhân được phủ dung dịch muối đệm phosphat thể tích thích hợp chứa IL-18BP tái tổ hợp của người. Các đĩa này được ủ trong một khoảng thời gian ở 4°C và sau đó được ổn định bằng đệm chặn chứa albumin huyết thanh bò hoặc chất ngăn chặn thích hợp khác. Khi phản ứng kết thúc, các vi đĩa được niêm phong và bảo quản ở 4°C cho đến khi được sử dụng để phát hiện IL-18 tự do. Các vi đĩa cũng có thể được làm khô trong dung dịch ổn định cho phép bảo

quản ở nhiệt độ phòng và sau đó được hoàn nguyên bằng cách hydrat hóa khi cần cho xét nghiệm.

Ví dụ, đối với thể tích phản ứng cuối cùng là 100 μ l, phân phối 80 μ l liên hợp kháng thể/biotin đầu tiên. Các mẫu hoặc dịch sinh học chứa IL-18 tự do được thử nghiệm với các vi đĩa phủ L-18BP. Sau đó, thể tích mẫu 20 μ l chứa dịch sinh học hoặc chất chuẩn được phân phối vào mỗi giếng vi đĩa. Dịch sinh học pha loãng hoặc không pha loãng có thể là nhưng không chỉ giới hạn ở huyết thanh, nước tiểu, nước mắt, nước bọt, mật, mồ hôi, hơi thở hoặc thở ra, đờm, dịch phế quản phế nang, bã nhờn, tế bào, tuyến, niêm mạc hoặc mô tiết, sinh thiết, mô đồng nhất. Nồng độ chuẩn IL-18 tự do nằm trong khoảng giữa 4,2 pg/ml đến 3000 pg/ml. Tiêu chuẩn và nồng độ được chuẩn bị từ IL-18 của người tái tổ hợp có sẵn trên thị trường. Các tấm được niêm phong và sau đó được ủ trong điều kiện lắc nhẹ để bắt giữ IL-18 tự do. Cho phép một khoảng thời gian thích hợp cho phản ứng từ vài phút đến hàng giờ ở nhiệt độ phòng, 37°C hoặc các nhiệt độ khác không ảnh hưởng đến độ ổn định của mẫu và thuốc thử. Các giếng vi đĩa được rửa nhiều bằng dung dịch đệm thích hợp và sau đó, 100 μ l hỗn hợp phát triển dung dịch đệm được thêm vào mỗi giếng. Hỗn hợp phát triển chứa enzym liên hợp streptavidin như peroxidaza hoặc phosphataza kiềm. Các giếng vi đĩa được niêm phong và cho phép phản ứng trong một khoảng thời gian ở khoảng thời gian thích hợp từ vài phút tới hàng giờ ở nhiệt độ phòng, 37°C hoặc các nhiệt độ khác không ảnh hưởng đến độ ổn định của mẫu và thuốc thử. Các phản ứng thu được sau đó được theo dõi bằng đầu đọc vi đĩa ở bước sóng nanomet thích hợp đối với độ hấp thụ hoặc huỳnh quang của thuốc thử được tạo ra.

4.2. Bắt giữ IL-18 tự do với kháng thể kháng IL-18

Các giếng vi đĩa được phủ dung dịch muối đệm phosphat thể tích thích hợp chứa kháng thể X. Các tấm được ủ trong một khoảng thời gian ở 4°C và sau đó được ổn định bằng đệm chặn chứa albumin huyết thanh bò hoặc các chất chặn thích hợp khác. Khi phản ứng kết thúc, các vi đĩa được niêm phong và bảo quản

ở 4°C cho đến khi được sử dụng để phát hiện IL-18 tự do. Vi đĩa cũng có thể được làm khô trong dung dịch ổn định cho phép bảo quản ở nhiệt độ phòng và sau đó được hoàn nguyên bằng cách hydrat hóa khi cần cho xét nghiệm.

Như một ví dụ, đối với thể tích phản ứng cuối cùng là 100 μ l, phân phối 80 μ l liên hợp kháng thể/biotin đầu tiên. Các mẫu hoặc dịch sinh học chứa IL-18 tự do được thử nghiệm với vi mẫu phủ IL-18BP. Sau đó, thể tích mẫu 20 μ l chứa dịch sinh học hoặc chất chuẩn được phân phối vào mỗi giếng vi đĩa. Dịch sinh học pha loãng hoặc không pha loãng có thể là, nhưng không chỉ giới hạn ở huyết thanh, nước tiểu, nước mắt, nước bọt, mật, mồ hôi, hơi thở hoặc thở ra, đờm, dịch phế quản phế nang, bã nhờn, tế bào, tuyến, niêm mạc hoặc mô tiết, sinh thiết, mô đồng nhất. Nồng độ chuẩn IL-18 tự do nằm trong khoảng giữa 4,2 pg/ml đến 3000 pg/ml. Tiêu chuẩn và nồng độ được chuẩn bị từ IL-18 tái tổ hợp của người có sẵn trên thị trường. Các tấm được niêm phong và sau đó được ủ trong điều kiện lắc nhẹ để bắt giữ IL-18 tự do. Cho phép một khoảng thời gian thích hợp cho phản ứng từ vài phút đến hàng giờ ở nhiệt độ phòng, 37°C hoặc các nhiệt độ khác không ảnh hưởng đến độ ổn định của mẫu và thuốc thử. Các giếng vi đĩa được rửa nhiều lần bằng dung dịch đệm thích hợp và sau đó, 100 μ l hỗn hợp phát triển dung dịch đệm được thêm vào mỗi giếng. Hỗn hợp phát triển chứa enzym liên hợp streptavidin như peroxidaza hoặc phosphataza kiềm. Các giếng vi đĩa được niêm phong và cho phép phản ứng trong một khoảng thời gian ở một khoảng thời gian thích hợp từ vài phút đến hàng giờ ở nhiệt độ phòng, 37°C hoặc các nhiệt độ khác không ảnh hưởng đến độ ổn định của mẫu và thuốc thử. Các phản ứng thu được sau đó được theo dõi bằng đầu đọc vi đĩa ở bước sóng nanomet thích hợp cho độ hấp thụ hoặc huỳnh quang.

4.3. Chuẩn độ IL-18 tự do như một chức năng của mức IL-18BP

Số lượng không đổi của IL-18 tái tổ hợp được chuẩn độ như là một chức năng của số lượng IL-18BP khác nhau và được xác định rõ để hiểu khi nào IL-18 tự do không thể phát hiện được hơn. Dung dịch PBS 400 pg/mL IL-18 được bổ sung bởi BSA 5% được tăng vọt với số lượng IL-18BP xác định nằm trong

khoảng từ 0 đến 10000 pg/mL. Tỷ lệ mol được tính theo trọng lượng phân tử tương ứng của IL-18 và IL-18BP. Việc phát hiện IL-18 tự do được thực hiện với ELISA sử dụng IL-18BP cho IL-18 như được mô tả ở trên. Dữ liệu thu thập được trình bày trong Fig. 1 chỉ ra rằng sự phát hiện IL-18 400 pg/mL ở gần mức phát hiện nền khi nồng độ IL-18BP bằng hoặc cao hơn 6000 pg/mL đại diện cho tỷ lệ mol IL-18BP/ IL-18 cao hơn gấp ~15 lần IL-18BP. Ngược lại, khi tỷ lệ mol thấp hơn 15, IL-18 tự do có thể dễ dàng phát hiện được.

4.4. Tính toán sửa đổi của hằng số phân ly (K_D) giữa IL-18 và IL-18BP của người

4.4.1 Tính toán K_D bằng chuẩn độ

K_D 400 pM được báo cáo trong tài liệu dựa trên các phép đo BIAcore (Kim et al 2000⁸). Tuy nhiên, do các kết quả trên, K_D đã được xem xét lại với thiết lập ELISA ở trên. Chuẩn độ 10 pM IL-18 được thực hiện với các nồng độ IL-18BP tăng (60 pM - 3 nM) trong a) huyết thanh tình nguyện khỏe mạnh đã cạn kiệt trong IL-18BP nội sinh hoặc b) PBS được bổ sung BSA 5%. ELISA IL-18 tự do ngoài các xét nghiệm có sẵn trên thị trường cho IL-18 tổng số và IL-18BP tổng số cho phép xác định K_D trong dung dịch sẽ phản ánh tốt hơn ái lực của IL-18 với protein liên kết của nó trong dịch cơ thể so với dữ liệu từ phương pháp BIAcore pha rắn. Ví dụ về các kết quả được trình bày trong Bảng 10.

Bảng 10: Chuẩn độ IL-18 trong huyết thanh hoặc dung dịch BSA 5% chứa 1,87 nM IL-18BP						
Đường chuẩn			Chuẩn độ IL-18			
pg/mL IL-18	OD450 nm		IL-18 cuối cùng tăng vọt ng/mL	IL-18 tăng vọt vào huyết thanh OD450 nm	IL-18 tăng vọt thành BSA 5% OD450 nm	nM IL-18BP
2000	2,894		24	0,474	1,151	1,3953
666,7	2,292		20	0,342	0,897	1,1628
222,2	0,875		16	0,286	0,735	0,9302
74,1	0,303		12	0,200	0,511	0,6977
24,7	0,114		8	0,157	0,348	0,4651

8,2	0,061		4	0,091	0,188	0,2326	1,87
2,7	0,042		2	0,065	0,155	0,1163	1,87
0	0,039		0	0,040	0,037	0	1,87

K_D được tính dựa trên công thức sau:

$$K_D = [\text{IL-18 tự do}] \times [\text{IL-18BP tự do}] / [\text{phức hợp IL-18/IL-18BP}]$$

$$[\text{IL-18 BP tự do}] = [\text{IL-18BP tổng số}] - [\text{IL-18 tự do}]$$

$$[\text{phức hợp IL-18/IL-18BP}] = [\text{IL-18 tổng số}] - [\text{IL-18 tự do}]$$

Kết quả: $K_D = 50 \text{ pM}$ (chất pha loãng huyết thanh); 35 pM (5% chất pha loãng BSA)

Kết quả chuẩn độ cho thấy K_D tương ứng là 50 pM trong chất pha loãng huyết thanh và 35 pM trong PBS được bổ sung BSA 5%. Ngược lại với các ước tính trước đây về K_D giữa IL-18BP và IL-18 của người, K_D mới được tính chỉ ra rằng các ước tính trước đây về IL-18 tự do dựa trên K_D là 400 pM do Kim và cộng sự 2000 báo cáo là không chính xác.

4.4.2 Ước tính K_D theo BIAcore

Theo kết quả K_D ở trên thu được bằng cách chuẩn độ, chúng tôi đã kiểm tra ái lực liên kết của IL-18BP với IL-18 bằng thiết lập BIAcore đơn giản hơn bao gồm liên kết IL-18BP với chip BIAcore và sau đó kiểm tra ái lực của nó với IL-18. Thiết lập phương pháp trái ngược với Kim và cộng sự 2000⁸, người đã gắn IL-18 vào chip BIAcore bằng kháng thể đơn dòng và sau đó kiểm tra ái lực của kháng thể phức hợp-IL-18 với IL-18BP. Điều quan trọng là, thiết lập BIAcore mới đã thu thập dữ liệu được sắp hàng hoàn toàn với các phát hiện chuẩn độ ở trên, tức là K_D nằm trong khoảng giữa 20 và 30 pM. Dữ liệu được trình bày trong Bảng 11 dưới đây.

<u>Bảng 11:</u> Ước tính BIAcore mới về ái lực IL-18BP của người với IL-18 của người		
$K_a (10^{+5} / \text{Ms})$	$K_d (10^{-6} 1/\text{s})$	$K_D (10^{-11} \text{M})$
$5,3 \pm 1,2$	$13,3 \pm 2,7$	$25,9 \pm 4,8$

4.5. Chuẩn độ IL-18 tăng vọt trong huyết thanh hoặc dung dịch BSA 5% chứa IL-18BP

Huyết thanh của người chứa mức độ đáng kể chất nội sinh cũng như phức hợp IL-18 với IL-18BP, tương ứng với mức ng/mL và pg/mL. Cả hai đều có thể phát hiện được bằng các kháng thể có sẵn trên thị trường. Tuy nhiên, không có thử nghiệm có sẵn trên thị trường nào sẵn có để phát hiện IL-18 tự do. Để xác minh thiết lập ELISA ở trên để phát hiện IL-18 tự do, chúng tôi đã tăng vọt IL-18 tái tổ hợp của người trong huyết thanh người để tìm mức độ phát hiện. Đối với điều này, nanogram IL-18 được tăng đột biến trong huyết thanh chứa 35 ng/mL IL-18BP nội sinh hoặc dung dịch PBS được bổ sung BSA 5% và 35 ng/mL IL-18BP. IL-18 tự do tạo thành được theo dõi bằng quy trình ELISA được mô tả ở trên. Kết quả được trình bày trong Bảng 12 dưới đây.

Bảng 12: Phát hiện IL-18 tăng vọt trong huyết thanh hoặc BSA 5% chứa 35 ng/ml IL-18BP

Đường chuẩn		Chuẩn độ IL-18		
pg/mL IL-18	OD450 nm	IL-18 cuối cùng tăng vọt ng/mL	IL-18 tăng vọt vào huyết thanh OD450 nm	IL-18 tăng vọt vào BSA 5% OD450 nm
2000	3,171	100	3,5	3,5
666,7	1,388	80	3,5	3,5
222,2	0,477	70	2,37	3,5
74,1	0,183	60	0,99	3,37
24,7	0,085	50	0,68	2,05
8,2	0,050	40	0,46	1,17
2,7	0,043	30	0,298	0,75
0	0,043	20	0,185	0,44
		10	0,11	0,16
		5	0,06	0,09
		2	0,05	0,07
		0	0,04	0,04

5. Phát hiện IL-18 tự do ở bệnh nhân

5.1. Phát hiện IL-18 tự do trong huyết thanh và dịch khớp từ những bệnh nhân mắc các bệnh viêm khác nhau

Các mẫu lấy từ các bệnh nhân mắc các bệnh viêm khác nhau được thử nghiệm bằng ELISA được mô tả ở trên. Đối với điều này, chúng tôi đã lựa chọn các bệnh và tình trạng căng thẳng khác nhau được báo cáo với mức IL-18 cao hơn như viêm khớp dạng thấp, bệnh vẩy nến, Lupus Erythematosus hệ thống và phòng chăm sóc đặc biệt. Theo hiểu biết của chúng tôi, không có IL-18 tự do được xác định ở những bệnh nhân đó, chỉ bằng cách tính toán với Định luật tác dụng khối lượng và K_D là 400 pM do Kim và cộng sự báo cáo năm 2000. Theo dữ liệu trên, dự kiến rằng mức độ có thể của IL-18 tự do sẽ khó phát hiện do tổng mức IL-18 trong huyết thanh thấp hơn hoặc gần 1000 pg/mL như được báo cáo trong các ấn phẩm khoa học. Hơn nữa, chúng tôi đã thử nghiệm các mẫu từ các đối chứng phù hợp với lứa tuổi khỏe mạnh để xác minh hiệu suất của thiết lập ELISA của chúng tôi. Đúng như dự đoán và trái với các ước tính của Định luật tác dụng khối lượng đã báo cáo, mức IL-18 tự do không phát hiện được trong huyết thanh cũng như dịch khớp trong khi IL-18 tổng số và IL-18BP thì có (xem Bảng 13).

Bảng 13: Phát hiện IL-18 tự do ở bệnh nhân từ phòng chăm sóc đặc biệt, bị bệnh vẩy nến, lupus và viêm khớp dạng thấp						
Bệnh nhân #	Tình trạng / bệnh của bệnh nhân	Dịch sinh học	IL-18 tổng số pg/ml	IL-18 tự do pg/ml	IL-18 tự do được tính pg/ml $K_D = 4 \times 10^{-10} M$	IL-18BP ng/ml
1	Khỏe mạnh	Huyết thanh	209,7	-	40,4	29,7
2	Khỏe mạnh	Huyết thanh	125,5	-	24,7	28,9
3	Khỏe mạnh	Huyết thanh	189,7	-	28,2	40,6
4	Khỏe mạnh	Huyết thanh	284,7	-	65,9	23,6
5	Khỏe mạnh	Huyết thanh	227,2	-	55,5	22,0

6	Khỏe mạnh	Huyết thanh	319,7	-	56,4	33,2
7	Khỏe mạnh	Huyết thanh	145,5	-	26,4	32,0
8	Khỏe mạnh	Huyết thanh	206,3	-	59,4	17,6
9	Khỏe mạnh	Huyết thanh	323,0	-	56,5	33,5
10	Khỏe mạnh	Huyết thanh	208,0	-	49,6	22,7
11	Chăm sóc đặc biệt**	Huyết thanh	1158,8	-	52	151,3
12	Chăm sóc đặc biệt**	Huyết thanh	3769,0	-	170,9	151,9
13	Chăm sóc đặc biệt**	Huyết thanh	623,8	-	27,9	151,3
14	Chăm sóc đặc biệt**	Huyết thanh	1978,8	-	104,7	128,0
15	Chăm sóc đặc biệt	Huyết thanh	611,3	-	66,9	57,9
16	Chăm sóc đặc biệt	Huyết thanh	434,7	-	34,3	82,7
17	Huyết thanh bệnh viêm khớp vảy nến	Huyết thanh	713,8	-	70,6	64,9
17	Dịch khớp bệnh viêm khớp vảy nến	Dịch khớp	533,0	-	78,1	41,5
18	Huyết thanh lupus	Huyết thanh	510,5	-	123,4	22,5
18	Dịch khớp lupus	Dịch khớp	820,5	-	158,9	30,0
19	Huyết thanh lupus	Huyết thanh	503,8	-	66,4	46,9
19	Dịch khớp lupus	Dịch khớp	236,3	-	24,9	60,1

20	Viêm khớp dạng thấp	Huyết tương	416,3	-	39,9	66,8
21	Viêm khớp dạng thấp	Huyết thanh	281,3	-	67,5	22,6
22	Viêm khớp dạng thấp	Huyết thanh	490,5	-	42,7	74,4
23	Viêm khớp dạng thấp	Huyết thanh	337,2	-	52,2	38,8
24	Viêm khớp dạng thấp	Huyết thanh	342,2	-	53,5	38,3
25	Viêm khớp dạng thấp	Huyết thanh	677,2	-	90,6	46,2
26	Viêm khớp dạng thấp	Huyết thanh	238,8	-	41	34,2
27	Viêm khớp dạng thấp	Huyết thanh	183,8	-	41	24,7
28	Viêm khớp dạng thấp	Huyết thanh	385,5	-	41,6	58,6
29	Viêm khớp dạng thấp	Huyết thanh	345,5	-	42,5	50,6

- : không thể phát hiện, các mức có thể so sánh với tín hiệu nền

**: Mức IL-18BP cao không nằm trong đường chuẩn

5.2. Phát hiện IL-18 tự do trong huyết thanh từ những bệnh nhân mắc bệnh Still ở người trưởng thành

Theo kết quả và ngược với các chỉ định trên có mức IL-18 tổng số thấp hợp lý, chúng tôi đã xét nghiệm các mẫu của bệnh nhân mắc bệnh Still ở người trưởng thành được biết đến với mức IL-18 tổng số tăng cao trong huyết thanh (Kawashima et al 2001 và Chen et al 2004). Như được mô tả bởi Kawashima và cộng sự 2001 và những nơi khác, các mức huyết thanh IL-18 tổng số tăng cao tương quan với hoạt động của bệnh Still ở người trưởng thành, chẳng hạn như a) sốt, đau khớp, viêm khớp, tổn thương sụn, b) các mức Ferritin cao hơn và c) men gan (LDH). Nhờ thiết lập ELISA ở trên, lần đầu tiên chúng tôi báo cáo mức

IL-18 tự do ở bệnh nhân mắc bệnh Still ở người trưởng thành (xem Bảng 14). Đối với các chỉ định được thử nghiệm khác, mức IL-18 tự do được tính không tương ứng với mức IL-18 tự do được phát hiện. Dữ liệu thu thập được cho thấy ít nhất 70% bệnh nhân dương tính với IL-18 tự do.

Bảng 14: Phát hiện IL-18 tự do trong huyết thanh và dịch khớp của bệnh nhân ASD						
Số bệnh nhân	Ngày thu thập mẫu	Dịch sinh học	IL-18 tổng số pg/ml	IL-18 tự do pg/ml	pg/ml $K_D = 4 \times 10^{-10} M$	IL-18BP ng/ml
1		Huyết thanh	6699	9,6	1366,5	32,6
1		Dịch khớp	439	15,8	439	-
2		Huyết thanh	713	22,5	564,3	2,0
3		Huyết thanh	106026	3,2*	59030	50,4
4		Huyết thanh	225456	24,9	157207	68,1
5		Huyết thanh	175589	23,6	139614	36,1
6		Huyết thanh	35045	2,5*	8908	45,6
7		Huyết thanh	17714	22,4	634,8	206,0
7		Dịch khớp	133325	21,3	11162	193,6
8		Huyết thanh	25020	21,1	1277,4	153,7
9		Huyết thanh	3625	24,9	394,7	60,8
10	17.02.2006	Huyết thanh	11401	7,7	6062	11,3
10	11.06.2007	Huyết thanh	79942	31,6	62035	19,1
10	06.04.2009	Huyết thanh	37372	18,9	22252	19,2
10	06.08.2010	Huyết thanh	185157	12,1	10566	282,9
10	06.06.2012	Huyết thanh	131561	11,2	4091	341,2
11	03.01.2006	Huyết thanh	150669	34,3	114012	37,2
11	04.04.2007	Huyết thanh	106026	26,2	63543	45,2
11	20.10.2008	Huyết thanh	225456	23,6	70633	163,0
11	21.04.2010	Huyết thanh	175589	23,3	116583	59,8
12	02.06.2009	Huyết thanh	3625	8,0	1633	10,5

13	10.03.2010	Huyết thanh	439	4,8**	151,2	13,7
14	17.07.2009	Huyết thanh	133325	19,3	21118	144,4
15	24.07.2006	Huyết thanh	35045	14,3	14628	29,3
16	25.04.2007	Huyết thanh	17714	8,0	4075	36,6
16	10.06.2010	Huyết thanh	25020	6,4	2592	82,4

* : Mức có thể so sánh với tín hiệu nền

** : Mức có thể so sánh với giới hạn phát hiện dưới

- : không thể phát hiện, mức tương đương với tín hiệu nền

6. Kết luận

Dữ liệu trong cả hai ấn phẩm và thiết lập thí nghiệm ở trên chứng minh rằng các kháng thể đơn dòng có sẵn trên thị trường phát hiện IL-18 tổng số chứ không phải IL-18 tự do. Hơn nữa, các kháng thể được sử dụng phổ biến nhất để định lượng IL-18, cụ thể là 125-2H và 159-12B, cũng được xác nhận trong việc phát hiện IL-18 tổng số.

Việc ước tính IL-18 tự do sử dụng Định luật tác dụng khối lượng là phương pháp tiếp cận thú vị. Tuy nhiên, các thanh sai số lớn thu được không hỗ trợ việc sử dụng nó trong việc theo dõi lâm sàng. Hơn nữa, các kháng thể kháng IL-18BP phát hiện IL-18BP tổng số chứ không phải dạng tự do. Do đó, việc tính toán IL-18 tự do sử dụng nồng độ IL-18BP thiếu chính xác.

Các phương pháp tiếp cận được đề xuất để định lượng IL-18 tự do bằng cách hướng đích vị trí liên kết của IL-18 với IL-18BP có vẻ thích hợp hơn và lần đầu tiên được chứng minh là chính xác hơn so với các định lượng ngoại suy bằng Định luật tác dụng khối lượng. Ngoài ra, ái lực của IL-18BP cao hơn so với báo cáo của Kim và cộng sự 2000 với K_D dao động gần 50 pM trong huyết thanh và 20-30 pM với thiết lập BIAcore mới.

Cuối cùng, bệnh nhân mắc bệnh Still khởi phát ở người trưởng thành lần đầu tiên được chẩn đoán dương tính với IL-18 tự do bằng phương pháp tiếp cận ELISA và một cách thiết lập được trình bày trong sáng chế. Dữ liệu hỗ trợ các

phát hiện trước đó về IL-18 tổng số đối với bệnh Still khởi phát ở người trưởng thành như được báo cáo bởi Kawashima và cộng sự 2001 và Chen và cộng sự 2004 báo cáo mức IL-18 tổng số cao. Lần đầu tiên, phương pháp ELISA mới được trình bày trong ứng dụng này chứng minh sự có mặt của IL-18 gây viêm tự do, không phức hợp và có hoạt tính sinh học ở bệnh nhân mắc bệnh Still ở người trưởng thành.

B. Hiệu quả IL-18BP trong mô hình chuột đợt cấp COPD

Mục đích của nghiên cứu là xác định tác dụng của IL-18BP, được sử dụng ở ba mức liều, theo đường tiêm dưới da, đối với đợt cấp do trên Polyinosinic: đợt cấp do axit polycytidylic gây ra đối với bệnh viêm phổi do khói thuốc, ở chuột C57BL/6J. Dexamethasone với liều lượng cao, dùng đường uống, được đưa vào nghiên cứu như một chất tham khảo.

1. Phương pháp chung: Mô hình chuột có đợt kịch phát/khói thuốc lá trong 4 ngày

Chuột nhận một trong hai tá dược lỏng (PBS) hoặc IL-18BP. IL-18BP được tiêm dưới da cho 3 nhóm động vật tương ứng với mức 1, 3 hoặc 10 mg/kg 2 giờ trước khi tiếp xúc với khói thuốc lá ban đầu từ Ngày 1 đến Ngày 4. Chuột được uống tá dược lỏng hoặc dexamethasone (10mg/kg) 1 giờ trước đó cho mỗi lần tiếp xúc hai lần mỗi ngày. Chuột nhận được bằng đường mũi họng tá dược lỏng hoặc Polyinosinic: axit polycytidylic (2mg/kg) 2 giờ trước khi tiếp xúc với không khí hoặc khói thuốc lá ban đầu vào Ngày 4 để gây ra đợt cấp viêm phổi. Tiếp xúc với khói thuốc lá được thực hiện vào suốt buổi sáng và buổi chiều như sau: Ngày 1 trong 15 phút, Ngày 2 trong 25 phút, Ngày 3 trong 30 phút và Ngày 4 trong 30 phút.

Các nhóm động vật và chế độ điều trị tương ứng của chúng được tóm tắt trong Bảng 1.

Bảng 15: Các chế độ điều trị cho mô hình chuột khối thuốc lá

Phơi nhiễm	Điều trị s.c. / uống	Mã điều trị	n	Liều mg/kg	Thử thách	Tần suất
Không khí	Veh/ Veh	A	10	-/-	Veh	Dưới da 2 giờ trước khi tiếp xúc TS ban đầu mỗi ngày
TS	Veh/ Veh	B	10	-/-	Veh	
Không khí	Veh/ Veh	C	10	-/-	p[I:C] 2mg/kg	
TS	Veh/ Veh	D	10	-/-	p[I:C] 2mg/kg	Uống 1 giờ trước mỗi lần tiếp xúc TS mỗi ngày
TS	IL-18BP/ Veh	E	10	1/-	p[I:C] 2mg/kg	
TS	IL-18BP/ Veh	F	10	3/-	p[I:C] 2mg/kg	
TS	IL-18BP/ Veh	G	10	10/-	p[I:C] 2mg/kg	p[I:C] xông mũi 2 giờ trước khi tiếp xúc TS vào ngày thứ 4
TS	Veh/ Dex	H	10	-/10	p[I:C] 2mg/kg	

TS: Khối thuốc lá;

Veh: Tá dược lỏng;

Dex: Dexamethasone,

p[I:C]: Polyinosinic: axit polycytidylic

Sau các phương pháp điều trị trên, động vật được gây mê giai đoạn cuối vào ngày thứ 5. Sau đó, mẫu máu được lấy qua động mạch phụ (huyết tương) và động vật được rửa phế quản bằng 3 X 0,4ml PBS để tiếp tục tạo tế bào và phân tích xytokin/chất trung gian. Dịch rửa phế quản phế nang được bảo quản ở nhiệt độ -80°C để phân tích xytokin/chất trung gian. Các tế bào được phục hồi từ BALF được đếm bằng cách sử dụng bộ đếm tế bào Sysmex. Cuối cùng, dữ liệu

thu thập được đã được phân tích thống kê bởi Students t-test và ANOVA (Sidak's được sử dụng trong trường hợp dữ liệu đã vượt qua bài kiểm tra chuẩn hoặc bài kiểm tra Kruskal Wallis nếu dữ liệu không vượt qua bài kiểm tra chuẩn).

2. Xác nhận sự kích hoạt đường IL-18 trong mô hình chuột khối thuốc lá/ đợt cấp bốn ngày

IL-18 của chuột đã được thử nghiệm trong BAL bằng cách sử dụng ELISA thương mại để xác nhận mô hình chuột kích hoạt đường IL-18. Dữ liệu thu thập được cho thấy sự cảm ứng rõ ràng của IL-18 trong không gian đường thở phổi (xem Fig. 5). Không thể phát hiện IL-18 trong điều khiển (chỉ không khí). Điều thú vị là IL-18 được biểu hiện khi tiếp xúc với khói nhưng không gây ra đáng kể khi chỉ có poly[I:C] (dưới giới hạn phát hiện dưới). Ngược lại và như mong đợi, sự kết hợp của khói và poly[I:C] làm tăng đáng kể IL-18 lên mức BAL cao hơn nhiều so với khói hoặc poly[I:C] đơn thuần.

3. Giảm thiểu tình trạng viêm trầm trọng nhờ IL-18BP trong mô hình chuột đợt cấp/ khối thuốc lá

3.1. Ước chế sự xâm nhập toàn bộ tế bào và làm trầm trọng thêm tình trạng viêm trong không gian đường thở phổi bởi IL-18BP

Những con chuột được điều trị bằng IL-18BP đã giảm đáng kể sự xâm nhập toàn bộ tế bào vào phổi gây ra tình trạng viêm cấp. Liều lượng 3 và 10 mg/kg cho thấy hiệu quả có giá trị thống kê so với dexamethasone đối chứng dương tính (xem Fig. 5). Điều quan trọng cần lưu ý là dexamethasone không có dấu hiệu hiệu quả ở liều lượng 3 mg/kg trên mô hình chuột (dữ liệu không được hiển thị), cho thấy rằng liều dexamethasone cao 10 mg/kg có khả năng gây chết theo chương trình ở một số loại tế bào như đại thực bào, bạch cầu ái toan và tế bào lympho (dữ liệu không được hiển thị). Quan sát tương tự được thực hiện với Roflumilast [3-(xyclopropylmethoxy)-N-(3,5-dichloropyridin-4-yl)-4-(difluoromethoxy) benzamit] trên mô hình chuột, nơi không có dấu hiệu ức chế xâm nhập tế bào được quan sát với liều lượng 2,5 mg/kg (dữ liệu không được

hiển thị). Fig. 6 cho thấy hiệu quả rõ và có liên quan về mặt thống kê của IL-18BP ở mức 10 mg/kg trong việc ức chế viêm trầm trọng trên mô hình chuột hiện tại.

3.2. Ức chế sự xâm nhập của bạch cầu trung tính trong không gian đường thở phổi bởi IL-18BP

Sự xâm nhập của bạch cầu trung tính bị ức chế bởi IL-18BP ở phổi bị làm trầm trọng do khối thuốc lá. Liều lượng 3 và 10 mg/kg IL-18BP cho thấy hiệu quả có giá trị thống kê so với dexamethasone đối chứng dương tính (xem Fig. 7). Trong điều kiện mô hình chuột hiện tại, liều lượng IL-18BP 10 mg/kg dường như có hiệu quả thống kê tốt nhất (xem Fig. 8).

3.3. Ức chế con đường của yếu tố kích thích quần thể bạch cầu hạt (G-CSF) trong không gian đường thở phổi bằng IL-18BP

G-CSF được thừa nhận là xytokin quan trọng kích thích sự tồn tại, tăng sinh, biệt hóa và chức năng của tiền thân bạch cầu trung tính và bạch cầu trung tính trưởng thành. Do đó, việc giảm thiểu đường G-CSF do khối -p[I:C] là một yếu tố đáng kể chứng tỏ tác dụng của IL-18BP đối với việc tuyển chọn bạch cầu trung tính trong không gian đường thở ở phổi chuột. Sự có mặt của G-CSF trong BALF được theo dõi bằng kit ELISA có sẵn trên thị trường. Fig. 9 chứng minh rằng việc sử dụng IL-18BP làm giảm sự giải phóng G-CSF trong đường thở phổi, do đó xác nhận sự ức chế sự xâm nhập của bạch cầu trung tính. Ba liều IL-18BP được thử nghiệm có tác dụng có liên quan về mặt thống kê trên mô hình chuột.

3.4. An toàn IL-18BP: Tác dụng lên việc giảm cân ở mô hình chuột có đợt cấp/ khối thuốc lá

Việc sử dụng IL-18BP dường như được dung nạp tốt trên mô hình chuột có đợt kịch phát/ khối thuốc lá. Ví dụ, việc giảm cân được IL-18BP giảm thiểu mặc dù cả phân tích thống kê Students t-test và ANOVA đều không có ý nghĩa (xem Fig. 10). Phần lớn những con chuột nhận IL-18BP 3 và 10 mg/kg đã giảm tương ứng 6-7% trọng lượng khi đối chứng tiếp xúc với khối thuốc lá và p[I:C] mất

khoảng 9%. Do đó, dữ liệu giảm nhẹ sự giảm cân cho thấy IL-18BP không gây thêm căng thẳng cho mô hình động vật. Điều thú vị là những con chuột chỉ nhận p[I:C] không giảm cân so với những con chuột nhận sự kết hợp của p[I:C] và khối thuốc lá [xem Fig. 8, điều trị 3) và 4)].

C. Tạo ra kháng thể đơn dòng kháng IL-18

1. Tiêm chủng chuột và sàng lọc kháng thể đơn dòng

Những con chuột đã được tiêm vắc xin chống lại interleukin-18 của người bằng cách sử dụng công nghệ cho phép chủng ngừa với các protein được gấp lại đúng cách. Trước khi được chủng ngừa, những con chuột biến đổi gen đã được chọn tương hợp mô chính được cho là nhạy cảm với các epitop diện tích bề mặt IL-18 liên kết với IL-18BP. Sau khi được chủng ngừa, tế bào B được phân lập từ lá lách và được lai theo công nghệ hybridoma tiêu chuẩn. Hybridoma được phân loại vào các vi đĩa và sau đó được kiểm tra sự biểu hiện của các kháng thể đơn dòng kháng IL-18 hướng đích vào các epitop IL-18 có trong vị trí liên kết IL-18BP. Việc sàng lọc được thực hiện theo 3 bước tuần tự và chọn lọc:

Bước thứ nhất. Nỗ lực sàng lọc kháng thể dương tính được thực hiện với IL-18 gắn vào hạt Luminex xác nhận tế bào biểu hiện các kháng thể đơn dòng kháng-IL-18.

Bước thứ hai. Các kháng thể tiềm năng hướng đích vào IL-18 trên vị trí liên kết IL-18BP đã được sàng lọc lại để cạnh tranh với IL-18BP. Vì vậy, các kháng thể đơn dòng được liên kết với các hạt Luminex mang IL-18. Sau đó, phức hợp này được tiếp xúc với IL-18BP được đánh dấu biotin để xác định nhiễu đối với các kháng thể kháng IL-18 đã được xác định trước đó (xem Bảng 1, Cột #2). Lần sàng lọc thứ hai có hơn 300 ứng cử viên có kháng thể dương tính (xem Bảng 1, Cột #3). Số lượng ứng cử viên dương tính cao một cách đáng ngạc nhiên cho thấy khả năng chủng ngừa chuột vượt trội vào vùng epitop được hướng đích. Tuy nhiên, sự ức chế không đủ do các tín hiệu huỳnh quang giảm dần nhưng vẫn tồn tại, do đó cho thấy sự liên kết IL-18BP với IL-18 kháng thể phức hợp. Tuy nhiên và quan trọng là phương pháp sàng lọc tiêu chuẩn được

báo cáo ở những nơi khác không tính đến khả năng cản trở không gian tiềm năng của phân tử kháng thể lớn (khoảng 160 kDa) chống lại IL-18BP nhỏ hơn nhiều (chỉ khoảng 18 kDa, peptit).

Bước thứ ba. Chương trình sàng lọc thứ ba được thực hiện với các hạt Luminex liên kết IL-18BP và sau đó được tạo phức thành interleukin-18, đảm bảo sự trình bày IL-18 tái tổ hợp đã được gấp nếp thích hợp cho các ứng cử viên kháng thể dương tính. Kết quả sàng lọc chọn lọc hơn đáng kể vì hầu hết các kháng thể nêu trên vẫn liên kết với các hạt Luminex-IL-18, do đó cho thấy tác dụng ức chế IL-18BP trước đây của chúng là do cản trở về không gian. Cuối cùng, tổng số 12 kháng thể cuối cùng đã được coi là hướng đích IL-18 trên protein IL-18BP do tín hiệu huỳnh quang rất thấp của chúng sau khi liên kết của IL-18 với sự có mặt của IL-18BP, cụ thể là dòng vô tính # 107C6, 108F8, 109A6, 111A6, 129C3, 131B4, 131E8, 131H1, 132C12, 132H4, 133A6 và 134B2 (xem Bảng 16, Cột #4, các dòng vô tính được chọn đại diện cho công cụ ức chế gấp hơn 500 lần so với Cột #2). Các kháng thể dương tính so với một tập hợp các âm tính được trình bày trong Bảng 16 dưới đây.

Dữ liệu thu thập được từ bước sàng lọc thứ ba (Bảng 16, Cột #4) đã thúc đẩy thêm trình tự mARN và việc pha loãng dòng vô tính để làm giàu các tế bào đơn dòng dương tính từ # 107C6, 108F8, 109A6, 111A6, 129C3, 131B4, 131E8, 131H1, 132C12, 132H4, 133A6 và 134B2. Tất cả các kháng thể đơn dòng này đã được xác nhận là liên kết với IL-18 trên vị trí liên kết IL-18BP.

Bảng 16: Sàng lọc các kháng thể đơn dòng hướng đích IL-18 trên vị trí liên kết IL-18BP			
Tên dòng vô tính	Cột #1 Các kháng thể đơn dòng liên kết trên IL-18	Cột #2 IL-18BP liên kết trên IL-18 trước đây đã tạo phức với kháng thể đơn dòng	Cột #3 Kháng thể đơn dòng liên kết trên IL-18 trước đây đã tạo phức với IL-18BP
	Cường độ huỳnh quang		
Ví dụ về các kháng thể âm tính không tuân theo các tiêu chí lựa chọn			
101D2	26 963	1 226	1 544

104H10	26 508	1 199	2 499
105A2	21 528	1 886	1 840
106H1	27 178	1 011	1 324
108F3	23 496	1 964	2 383
108G6	25 652	1 137	2 507
115E6	25 752	1 604	2 649
119E9	25 420	1 307	2 931
Các kháng thể dương tính tuân theo các tiêu chí lựa chọn			
107C6	26 250	1 389	33
108F8	25 126	1 292	45
109A6	25 848	913	33
111A6	25 855	1 398	42
131B4	24 838	1 656	41
131E8	25 411	1 389	36
131H1	24 806	1 026	24
132C12	24 541	1 515	48
132H4	23 839	1 488	28
133A6	23 273	1 631	25
134B2	24 278	1 261	48
129C3	25 412	760	44

Tài liệu tham khảo

Argiriadi MA, Xiang T, Wu C, Ghayur T and Borhani DW. Unusual water-mediated antigenic recognition of proinflammatory cytokine interleukin-18. *J Biol Chem* 2009;284(36)24478-24489.

Azoulay E, Eddahibi S, Marcos E, Levame M, Harf A, Schlemmer B, Adnot S and Delclaux C. Granulocyte colony-stimulating factor enhances alpha-naphthylthiourea-induced pulmonary hypertension. *J Appl Physiol* 2003;94:2027-2033.

Baron R M, Choi AJS, Owen CA and Choi AMK. Genetically manipulated mouse models of lung disease: potential and pitfalls. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2012;L485-L497.

Chen DY, Lan JL, Lin FJ and Hsieh TY. Proinflammatory cytokine profiles in sera and pathological tissues of patients with active untreated adult onset Still's disease. *J Rheumatol* 2004;31:2189-2198.

Chen DY, Lan JL, Lin FJ, Hsieh TY and Wen MC. Predominance of Th1 cytokine in peripheral blood and pathological tissues of patients with active untreated adult onset Still's disease. *Ann Rheum Dis* 2004;63(10):1300-1306.

Cunningham RE. Tissue disaggregation. *Methods Mol Biol* 1994;34:225-228.

Daley E, Emson C, Guignabert C, de Waal Malefyt R, Louten J, Kurup VP, Hogaboam C, Taraseviciene-Stewart L, Voelkel NF, Rabinovitch M, et al. Pulmonary arterial remodeling induced by a Th2 immune response. *J Exp Med* 2008;205:361-372.

Elias JA, Kang MJ, Crothers K et al. Mechanistic divergence in chronic obstructive pulmonary disease: insights from transgenic mice. *Proc Am Thorac Soc* 2006;494-498.

Eltom S, Stevenson CS and Rastrick J. P2X7 Receptor and Caspase - 1 Activation Are Central to Airway Inflammation Observed after Exposure to Tobacco Smoke *PLoS ONE* 2011;6(9):e24097.

Hackett BP, Shimizu N and Gitlin JD. Clara cell secretory protein gene expression in bronchiolar epithelium. *Am J Physiol* 1992;262:L399-L404.

Halbower AC, Mason RJ, Abman SH and Tudor RM. Agarose infiltration improves morphology of cryostat sections of lung. *Lab Invest* 1994;71: 149-153.

Hautamaki RD, Kobayashi DK, Senior RM and Shapiro SD. Requirement for macrophage elastase for cigarette smoke-induced emphysema in mice. *Science* 1997;277: 2002-2004.

Hoshino T, Kawase Y, Okamoto M et al. IL-18-transgenic mice: in vivo evidence of a broad role for IL-18 in modulating immune function. *J Immunol* 2001;7014-7018.

Hoshino T, Kato S, Oka N et al. Pulmonary inflammation and emphysema: role of cytokines IL-18 and IL-13. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;49-62.

Helmut Fenner. Targeting IL-18 in Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Background and rationale. March 22, 2013 CONFIDENTIAL Page 19.

Hou S, Li B, Wang L, Qian W, Zhang D, Hong X, Wang H, Guo Y (July 2008). "Humanization of an anti-CD34 monoclonal antibody by complementarity-determining region grafting based on computer-assisted molecular modeling.". *J Biochem* 144 (1): 115-20

Imaoka H, Hoshino T, Takei S, Kinoshita T et al. Interleukin-18 production and pulmonary function in COPD. *Eur Respir J* 2008;287-97.

Jaatinen T, Laine J. Isolation of mononuclear cells from human cord blood by Ficoll-Paque density gradient. *Curr Protoc Stem Cell Biol* 2007;Chapter 2:Unit 2A.1.

Kang MJ, Lee CG, Lee JY, Dela Cruz CS, Chen ZJ, Enelow R, Elias JA. Cigarette smoke selectively enhances viral PAMP- and virus-induced pulmonary innate immune and remodeling responses in mice. *J Clin Invest* 2008;118:2771-2784.

Kang MJ, Homer RJ, Gallo A et al. IL-18 is induced and IL-18 receptor alpha plays a critical role in pathogenesis of cigarette smoke-induced pulmonary emphysema and inflammation. *J Immunol* 2007;1948-1959.

Kang MJ, Choi JM, Kim BH et al. IL-18 induces emphysema and airway and vascular remodeling via IFN γ , IL-17A, and IL-13. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;1205-1217.

Kashmiri SV, De Pascalis R, Gonzales NR, Schlom J. (May 2005). "SDR grafting-a new approach to antibody humanization.". *Methods* 36 (1): 25-34

Kawashima, M. et al. Levels of interleukin-18 and its binding inhibitors in blood circulation of patients with adult-onset Still's disease. *Arthritis Rheum* 2001;44(3):550-560.

Kim, S. H. et al. Structural requirements of six naturally occurring isoforms of IL-18 binding protein to inhibit IL-18. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(3):1190-1195.

Kratzer A, Salys J, Nold-Petry EI al. Role of IL-18 in second hand smoke-induced emphysema. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2013;48(6):725-32.

Lee CG, Link H, Baluk P, Homer RJ, Chapoval S, Bhandari V, Kang MJ, Cohn L, Kim YK, McDonald DM, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces remodeling and enhances TH2- mediated sensitization and inflammation in lung. *Nat Med* 2004;10:1095-1103.

Lee CG, Hartl D, Lee GR, Koller B, Matsuura H, Da Silva CA, Sohn MH, Cohn L, Homer RJ, Kozhich AA, et al. Role of breast regression protein 39 (BRP-39)/chitinase 3-like-1 in Th2 and IL-13-induced tissue responses and apoptosis. *J Exp Med* 2009;206:1149-1166.

Liu J et al. Requirement for tumor necrosis factor-receptor 2 in alveolar chemokine expression depends upon form of ligand. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005;33:463-469.

Londhe VA, Maisonet TM, Lopez B, Jeng JM, Li C, Minoo P. A subset of epithelial cells with CCSP promoter activity participates in alveolar development. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011;44:804-812.

Loza MJ, Watt R, Baribaud F, Barnathan ES and Rennard SI. Systemic inflammatory profile and response to anti-tumor necrosis factor therapy in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Res* 2012;13:12.

Ma B, Kang MJ, Lee CG, Chapoval S, Liu W, Chen Q, Coyle AJ, Lora JM, Picarella D, Homer RJ and Elias JA. Role of CCR5 in IFN- γ -induced and cigarette smoke-induced emphysema. *J Clin Invest* 2005;115:3460-3472.

Nakajima T and Owen C. Interleukin-18: Master Regulator Driving Destructive and Remodeling Processes in Lungs of Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease? *Am J Respir Crit Care Med* 2012;1137-1138.

Novick D et al. A novel IL-18BP ELISA shows elevated serum IL-18BP in sepsis and extensive decrease of free IL-18. *Cytokine* 2001;14, 334-342.

Novick D et al. High circulating levels of free interleukin-18 in patients with active SLE in presence of elevated levels of interleukin-18 binding protein. *J Autoimmun* 2010;34, 121-126.

Park MC, Park YB and Lee SK. Elevated interleukin-18 levels correlated with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 2004;23, 225-229.

Petersen AMW, Penkowa M and Iversen M. Elevated Levels of IL-18 in Plasma and Skeletal Muscle in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Lung* 2007;161-171.

Queen C, Schneider WP, Selick HE, Payne PW, Landolfi NF, Duncan JF, Avdalovic NM, Levitt M, Junghans RP, Waldmann TA. (Dec 1989). "A humanized antibody that binds to interleukin 2 receptor.". *Proc Natl Acad Sci U S A*. 86 (24): 10029–33

Rastrick JMD, Stevenson CS, Eltom S, Grace M, Davies M, et al. Cigarette Smoke Induced Airway Inflammation Is Independent of NF- κ B Signalling. *PLoS ONE* 2013;8(1):e54128.

Ray P, Tang W, Wang P, Homer R, Kuhn C III, Flavell RA and Elias JA. Regulated overexpression of interleukin 11 in lung: use to dissociate development-dependent and -independent phenotypes. *J Clin Invest* 1997;100:2501-2511.

Reed LJ and Muench H. A simple method of estimating 50% endpoints. *Am J Hyg* 1938;27:493-497.

Riechmann L, Clark M, Waldmann H, Winter G (1988). "Reshaping human antibodies for therapy". *Nature* **332** (6162): 332–323

Rovina N, Dima E and Gerassimou C. Interleukin-18 in induced sputum: Association with lung function in chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory Medicine* 2009;1056-1062.

Shapiro DS. Transgenic and gene-targeted mice as models for chronic obstructive pulmonary disease. *Eur J Respir* 2007;375-378.

Taniguchi, M. et al. Characterization of anti-human interleukin-18 (IL-18)/interferon-gamma-inducing factor (IGIF) monoclonal antibodies and their application in measurement of human IL-18 by ELISA. *J Immunol Methods* 1997;206, 107-113.

Wang Z, Zheng, Zhu TZ, Homer RJ, Riese RJ, Chapman HA, Shapiro SD, and Elias JA. Interferon γ induction of pulmonary emphysema in adult murine lung. *J Exp Med* 2000;192: 1587-1600.

Wright J L, Cosio M and Churg A. Animal models of chronic obstructive disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008;L1-L15.

Wong CK, Li EK, Ho CY and Lam CW. Elevation of plasma interleukin-18 concentration is correlated with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2000;39:1078-1081.

Zhang J, Dong Z, Zhou R, Luo D, Wei H and Tian Z. Isolation of lymphocytes and their innate immune characterizations from liver, intestine, lung and uterus. *Cell Mol Immunol* 2005;2:271-280.

Zheng T, Zhu Z, Wang Z, Homer RJ, Ma B, Riese R, Chapman H, Shapiro SD and Elias JA. Inducible targeting of IL-13 to adult lung causes matrix metalloproteinase- and cathepsin-dependent emphysema. *J Clin Invest* 2000;106:1081-1093.

Zheng T et al. Role of cathepsin S-dependent epithelial cell apoptosis in IFN-gamma-induced alveolar remodeling and pulmonary emphysema. *J Immunol* 2005;174:8106-8115.

Các phương án khác của sáng chế:

1. Chất ức chế IL-18 để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 ở đối tượng được chẩn đoán là có mức IL-18 tự do bất thường và/hoặc tỷ lệ IL-18/IL-18BP tự do bất thường trong dịch cơ thể so với mức trong dịch cơ thể của đối tượng đối chứng khỏe mạnh.
2. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo phương án 1, trong đó mức IL-18 tự do bất thường nêu trên trong dịch cơ thể vượt quá mức trong dịch cơ thể của đối tượng đối chứng khỏe mạnh là 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, hoặc hơn 100%.
3. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên, trong đó đối tượng được điều trị thuộc nhóm đối tượng đã được xác định là có mức IL-18 tự do tăng cao và/hoặc tỷ lệ IL-18/IL-18BP tự do bất thường (IL-18BP) trong dịch cơ thể, đặc biệt là huyết thanh, đờm, dịch rửa phế quản - phế nang (BALF), dịch khớp và/hoặc tuần hoàn so với mức trong dịch cơ thể của đối tượng khỏe mạnh.
4. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo phương án 2 hoặc 3, trong mức tăng cao của IL-18 tự do trong huyết thanh nằm trong khoảng từ 5 đến 10000 pg/mL, trong khi lượng IL-18 tự do trong huyết thanh của đối tượng khỏe mạnh, đặc biệt là người khỏe mạnh là ≤ 4 pg/mL.
5. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 nêu trên được chọn từ nhóm bao gồm bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), chấn thương phổi liên quan đến truyền máu, loạn sản phế quản phổi (BPD), hội chứng suy hô hấp cấp tiến triển (ARDS), bệnh Still ở người trưởng thành, bệnh Still ở trẻ vị thành niên, bệnh phổi kẽ (ILD), xơ phổi vô căn, xơ nang, tăng áp động mạch phổi, hen suyễn, giãn phế quản, suy tim, xơ cứng cột bên teo cơ (ALS), bệnh khô mắt (DED), viêm giác mạc, loét và mài mòn giác mạc, tân mạch giác mạc, tân mạch nội nhãn bệnh lý, bệnh viêm móng mắt, bệnh tăng nhãn áp, thoái hóa điểm vàng, hội chứng Sjögren, viêm màng bồ đào tự miễn, bệnh Behçet, viêm kết mạc,

viêm kết mạc dị ứng, viêm da mí mắt, bệnh tiểu đường typ 2, viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD), viêm gan nhiễm mỡ, cấy ghép nội tạng rắn và huyết học, chấn thương tái tưới máu do thiếu máu cục bộ, sốt Địa Trung Hải có tính gia đình, hội chứng chu kỳ liên quan đến thụ thể yếu tố hoại tử khối u 1, hội chứng sốt chu kỳ liên quan đến cryopyrin, hội chứng tăng IgD, bệnh gút, hội chứng Schnitzler, bệnh u hạt của Wegener còn gọi là bệnh u hạt với viêm đa mạch (GPA), viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh Crohn, viêm loét đại tràng, các bệnh liên quan đến liệu pháp tế bào gốc và globulin miễn dịch-4 (IgG4).

6. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 nêu trên do hút thuốc hoặc tiếp xúc với khói thuốc thụ động, đặc biệt là tiếp xúc với khói thuốc lá.

7. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 nêu trên do nhiễm virus.

8. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó bệnh hoặc rối loạn liên quan đến IL-18 nêu trên là biểu hiện toàn thân do IL-18 của chứng viêm và các bệnh đi kèm được chọn từ nhóm bao gồm khí phế thũng, viêm mô, phá hủy mô, cắt bỏ phổi, biến mất mạch máu, chết tế bào theo chương trình của tế bào nội mô, chuyển sản niêm mạc, phì đại tim, giảm VEGF trong mô phổi, mất mạch phổi, cơ mạch hóa, tái định dạng mạch, lắng đọng collagen, các lớp đàn hồi không ổn định trong phổi, tái định dạng đường thở bằng sợi xơ, mở rộng khoảng không, tái định dạng mãn tính đường thở và mạch phổi và giảm chức năng phổi.

9. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên, trong đó việc điều trị bao gồm phòng ngừa, ngăn chặn, giảm nhẹ hoặc đảo ngược các triệu chứng liên quan đến bệnh hoặc rối loạn nêu trên.

10. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên, trong đó liên kết IL-18 bị hạn chế hoặc bị ức chế, đặc biệt là liên kết IL-18 tự do với IL-18R, nhưng đặc biệt là liên kết IL-18 tự do với IL-18R α .

11. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên, trong đó đường tín hiệu xuôi dòng phụ thuộc IL-18 được sửa đổi, đặc biệt là bị ức chế.
12. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên, trong đó sự biểu hiện tăng của IFN γ , IL-13 hoặc IL-17A được sửa đổi, đặc biệt là bị ức chế, so với đối tượng không được điều trị mắc bệnh hoặc rối loạn nêu trên.
13. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên, trong đó chất ức chế IL-18 bù đắp sự mất cân bằng IL-18/IL-18BP bằng cách giữ lại và trung hòa mức IL-18 tự do vượt quá trong mô và tuần hoàn.
14. Kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó, trong đó kháng thể hoặc một phần của nó liên kết với IL-18 tại vị trí liên kết IL-18BP hoặc trong vùng lân cận vị trí liên kết IL-18BP.
15. Kháng thể đặc hiệu IL-18 này bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó theo phương án 14, trong đó kháng thể này có một phần liên kết với protein của IL-18 tự do, nhưng không liên kết với phức hợp IL-18/IL-18BP.
16. Kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó theo phương án 14 hoặc phương án 15, trong đó kháng thể này hoặc một phần của nó cản trở không gian hoặc ngăn cản liên kết IL-18BP với IL-18.
17. Kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó theo các phương án từ 14 đến 16, trong đó kháng thể này hoặc một phần của nó liên kết đặc hiệu với một epitop duy nhất, sự kết hợp của hai epitop hoặc sự kết hợp của ba epitop bao gồm theo trình tự được chọn từ nhóm trình tự được nêu trong SEQ ID NO.1, SEQ ID NO: 2 và SEQ ID NO: 3.

18. Kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó theo phương án 17, trong đó epitop nêu trên có trình tự mà độ đồng nhất trình tự là 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% so với trình tự được chọn từ nhóm trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 và SEQ ID NO: 6.

19. Kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó theo phương án 18, trong đó epitop nêu trên được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 và SEQ ID NO: 6.

20. Kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó kháng thể này hoặc một phần của nó là kháng thể đơn dòng hoặc kháng thể đa dòng.

21. Kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó kháng thể này hoặc một phần của nó là kháng thể dạng khảm, chuỗi đơn, đặc hiệu kép, được mô phỏng hóa, của người và được làm tương thích với người.

22. Kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó kháng thể này hoặc một phần của nó liên kết với IL-18 của người.

23. Kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó liên kết của IL-18 với thụ thể IL-18, đặc biệt là liên kết với IL-18R α giảm ít nhất 5%, đặc biệt là ít nhất 10%, đặc biệt là ít nhất 15%, đặc biệt là ít nhất 20%, đặc biệt là ít nhất 25%, đặc biệt là ít nhất 30%, đặc biệt là ít nhất 40%, đặc biệt là ít nhất 45%, đặc biệt là ít nhất 50%, đặc biệt là ít nhất 55%, đặc biệt là ít nhất 60%, đặc biệt là ít nhất 65%, đặc biệt là ít nhất 70%, đặc biệt là ít nhất 75%, đặc biệt là ít nhất 80%, đặc biệt là ít nhất 85%, đặc biệt là ít nhất 90%, đặc biệt là ít nhất 95%, đặc biệt là bằng 100%.

24. Kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó kháng thể này hoặc một phần của nó trung hòa IL-18 tự do bằng cách hạn chế hoặc ngăn chặn liên kết của IL-18 với thụ thể IL-18 (IL-18R), đặc biệt là liên kết IL-18 tự do với IL-18R α .

25. Kháng thể đặc hiệu IL-18 bao gồm kháng thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó kháng thể này hoặc các phần của nó:

- a) liên kết đặc hiệu với một epitop duy nhất, sự kết hợp của hai epitop hoặc sự kết hợp của ba epitop bao gồm trong trình tự được chọn từ nhóm trình tự được nêu trong SEQ ID NO:1, SEQ ID NO: 2 và SEQ ID NO: 3; và/hoặc
- b) liên kết đặc hiệu với epitop có độ đồng nhất trình tự 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO:5 hoặc SEQ ID NO: 6; và
- c) liên kết đặc hiệu với IL-18 tại vị trí liên kết IL-18BP hoặc trong vùng lân cận vị trí liên kết IL-18BP; và
- d) liên kết đặc hiệu với protein IL-18 tự do, nhưng không liên kết với phức hợp IL-18/IL-18BP; và
- e) cản trở không gian liên kết IL-18BP với IL-18; và
- f) giảm liên kết của IL-18 với thụ thể IL-18, đặc biệt là liên kết với IL-18R α ít nhất 5%, đặc biệt là ít nhất 10%, đặc biệt là ít nhất 15%, đặc biệt là ít nhất 20%, đặc biệt là ít nhất 25%, đặc biệt là ít nhất 30%, đặc biệt là ít nhất 40%, đặc biệt là ít nhất 45%, đặc biệt là ít nhất 50%, đặc biệt là ít nhất 55%, đặc biệt là ít nhất 60%, đặc biệt là ít nhất 65%, đặc biệt là ít nhất 70%, đặc biệt là ít nhất 75%, đặc biệt là ít nhất 80%, đặc biệt là ít nhất 85%, đặc biệt là ít nhất 90%, đặc biệt là ít nhất 95%, đặc biệt là bằng 100%.

26. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13, trong đó chất ức chế là kháng thể, đặc biệt là kháng thể đặc hiệu cho

IL-18 tự do, đặc biệt là kháng thể đối kháng, kháng thể này ngăn cản liên kết IL-18 tự do với thụ thể IL-18, đặc biệt là liên kết IL-18 tự do với IL-18R α .

27. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo phương án 26, trong đó kháng thể này là kháng thể theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 14 đến 25.

28. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13, trong đó mức IL-18 tự do bất thường trong dịch cơ thể được xác định bằng cách sử dụng kháng thể theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 14 đến 25.

29. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13, trong đó chất ức chế là IL-18BP, đặc biệt là IL-18BP của người (hIL-18BP), đặc biệt là IL-18BP bao gồm tương đương về mặt chức năng bất kỳ hoặc các phần của nó, đặc biệt là IL-18BP như được nêu trong SEQ ID NO: 7.

30. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo các phương án từ 26 đến 29, là protein có chiều dài đầy đủ hoặc protein đột biến, dẫn xuất chức năng, mảnh chức năng, peptit có hoạt tính sinh học, phân đoạn, dẫn xuất hoán vị vòng tròn, protein dung hợp, đồng phân hoặc muối của nó.

31. IL-18BP để sử dụng trong điều trị bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), bệnh tim mạch, bệnh khô mắt và/hoặc bệnh tiểu đường typ II.

32. IL-18BP để sử dụng theo phương án 31 để điều trị bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD).

33. IL-18BP để sử dụng theo phương án 31 để điều trị bệnh tim mạch.

34. IL-18BP để sử dụng theo phương án 31 để điều trị bệnh khô mắt.

35. IL-18BP để sử dụng theo phương án 31 để điều trị bệnh tiểu đường typ II.

36. IL-18BP để sử dụng theo các phương án từ 31 đến 35, trong đó bệnh hoặc rối loạn nêu trên là do hút thuốc hoặc tiếp xúc với khói thuốc thụ động, cụ thể là tiếp xúc với khói thuốc lá.

37. IL-18BP để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó bệnh hoặc rối loạn này do nhiễm virut.

38. IL-18BP để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó bệnh hoặc rối loạn nêu trên là biểu hiện toàn thân do IL-18 của chứng viêm và các bệnh đi kèm được chọn từ nhóm bao gồm khí phế thũng, viêm mô, phá hủy mô, cắt bỏ phổi, biến mất mạch máu, chuyển sản niêm mạc, phì đại tim, giảm VEGF trong mô phổi, mất mạch phổi, cơ mạch hóa, lắng đọng collagen, các lớp đàn hồi không ổn định trong phổi, tái định dạng đường thở bằng sợi xơ, mở rộng khoảng không, tái định dạng mãn tính đường thở và mạch phổi và giảm chức năng phổi.

39. IL-18BP để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó liên kết IL-18 bị hạn chế hoặc bị ức chế, đặc biệt là liên kết IL-18 tự do với IL-18R, nhưng đặc biệt là liên kết IL-18 tự do với IL-18R α .

40. IL-18BP để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó đường dẫn tín hiệu xuôi dòng phụ thuộc IL-18 được sửa đổi, đặc biệt là bị ức chế.

41. IL-18BP để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó sự biểu hiện tăng của IFN γ , IL-13 hoặc IL-17A được sửa đổi, đặc biệt là bị ức chế, so với những đối tượng không được điều trị mắc bệnh hoặc rối loạn nêu trên.

42. IL-18BP để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó chất ức chế IL-18 bù đắp sự mất cân bằng IL-18/IL-18BP bằng cách giữ lại lượng IL-18 tự do dư thừa trong mô và tuần hoàn.

43. IL-18BP để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong đó việc điều trị bao gồm phòng ngừa, ngăn chặn, giảm nhẹ hoặc đảo ngược các triệu chứng liên quan đến bệnh hoặc rối loạn nêu trên.

44. Chế phẩm dược để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 ở đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như vậy hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13, trong đó chế phẩm này bao gồm chất ức chế IL-18 theo phương

án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 30, đặc biệt là với lượng có hiệu quả dự phòng và/hoặc điều trị.

45. Chế phẩm được theo phương án 44, trong đó chế phẩm này tùy ý cung cấp thêm chất ức chế khác của xytokin gây viêm hoặc mảnh chức năng của nó, hoặc yếu tố điều tiết, gây ra sự biểu hiện *in situ* của chất ức chế xytokin gây viêm hoặc mảnh chức năng của nó, các chất đồng điều trị như kháng viêm, giãn phế quản, kháng histamin, thuốc thông mũi hoặc thuốc chống ho.

46. Chế phẩm được theo phương án 44 hoặc 45, bao gồm chất mang và/hoặc tá dược được dụng.

47. Chế phẩm được để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 31 đến 43 ở đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như vậy hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 31 đến 43, trong đó chế phẩm này bao gồm IL-18BP theo các phương án từ 31 đến 43, đặc biệt là với lượng có hiệu quả dự phòng và/hoặc điều trị.

48. Chế phẩm được theo phương án 47, trong đó chế phẩm này tùy ý cung cấp thêm chất ức chế khác của xytokin gây viêm hoặc mảnh chức năng của nó, hoặc yếu tố điều tiết, gây ra sự biểu hiện *in situ* của chất ức chế này của xytokin gây viêm hoặc mảnh chức năng của nó, các chất đồng điều trị như kháng viêm, giãn phế quản, kháng histamin, thuốc thông mũi hoặc thuốc chống ho.

49. Chế phẩm được theo phương án 47 hoặc 48, bao gồm chất mang và/hoặc tá dược được dụng.

50. Vectơ biểu hiện bao gồm trình tự mã hóa của chất ức chế IL-18 theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 30, khi sử dụng cho đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy như được xác định trong các phương án nêu trên dẫn đến sự biểu hiện *in situ* của chất ức chế IL-18 để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13.

51. Vector biểu hiện bao gồm vector biểu hiện đối mã IL-18, mà khi sử dụng cho đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy như được xác định trong các phương án từ 1 đến 13, dẫn đến sự ức chế *in situ* sự biểu hiện của IL-18 để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13.

52. Vector biểu hiện của phương án 50 hoặc 51 để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 43, trong đó vector biểu hiện nêu trên được sử dụng cho đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn, hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy, đơn lẻ hoặc kết hợp với chất ức chế IL-18 theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 30, IL-18BP theo các phương án từ 31 đến 43 hoặc chế phẩm được theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 49.

53. Vector biểu hiện bao gồm trình tự mã hóa IL-18BP theo các phương án từ 31 đến 43, khi sử dụng cho đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy như được xác định trong các phương án nêu trên, dẫn đến sự biểu hiện *in situ* của IL-18BP để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 31 đến 43.

54. Vector biểu hiện theo phương án 53 để sử dụng trong điều trị bệnh hoặc rối loạn như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 43, trong đó vector biểu hiện nêu trên được sử dụng cho đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn, hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy, đơn lẻ hoặc kết hợp với chất ức chế IL-18 theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 30, IL-18BP theo các phương án từ 31 đến 43 hoặc chế phẩm được theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 49.

55. Chất ức chế IL-18 để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 30, IL-18BP để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số

các phương án từ 31 đến 43, chế phẩm được để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 49 hoặc vector biểu hiện để sử dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 50 đến 54, bao gồm việc sử dụng cho các đối tượng cần dùng lượng có hiệu quả dự phòng và/hoặc điều trị chất ức chế IL-18 nêu trên, IL-18BP, chế phẩm được hoặc vector biểu hiện, đặc biệt là theo đường toàn thân, trong mũi, đường miệng, uống, qua niêm mạc, nội khí quản, tiêm tĩnh mạch, tiêm dưới da, đường nội mạch, trong âm đạo, dưới lưỡi, trong phế quản, trong phổi, qua da hoặc tiêm bắp, đặc biệt là dùng qua phế quản- phổi.

56. Chất ức chế IL-18, IL-18BP, chế phẩm được hoặc vector biểu hiện để sử dụng theo phương án 55, trong đó đối tượng này là động vật có vú, đặc biệt đối tượng này là người.

57. Phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 43 ở đối tượng mắc bệnh hoặc rối loạn như vậy, hoặc có khuynh hướng phát triển bệnh hoặc rối loạn như vậy, bao gồm việc sử dụng cho đối tượng này một lượng chất ức chế IL-18 có hiệu quả điều trị hoặc dự phòng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 30, IL-18BP theo các phương án từ 31 đến 43 hoặc chế phẩm được theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 44 đến 49 và/hoặc vector biểu hiện theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 50 đến 54, đặc biệt bằng cách sử dụng toàn thân, trong mũi, đường miệng, uống, qua niêm mạc, nội khí quản, tiêm tĩnh mạch, tiêm dưới da, đường nội mạch, trong âm đạo, dưới lưỡi, trong phế quản, trong phổi, qua da hoặc tiêm bắp, đặc biệt là dùng qua phế quản- phổi.

58. Phương pháp chẩn đoán bệnh hoặc rối loạn như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 43, để chẩn đoán khuynh hướng bệnh hoặc rối loạn như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 43, theo dõi bệnh tồn lưu tối thiểu ở đối tượng, hoặc để dự đoán khả năng đáp ứng của đối tượng đối với việc

điều trị bằng chất ức chế IL-18 theo các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 30, IL-18BP theo các phương án từ 31 đến 43 hoặc chế phẩm được chứa chất ức chế IL-18 theo các phương án từ 44 đến 49, bao gồm các bước:

- a) thu mẫu dịch cơ thể, đặc biệt là huyết thanh từ đối tượng;
- b) thử nghiệm mẫu nêu trên với sự có mặt của IL-18 tự do bằng cách sử dụng kháng thể IL-18 theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 14 đến 25 hoặc IL-18BP theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 31 đến 43 làm phân tử bắt giữ và/hoặc thử nghiệm mẫu nêu trên với sự có mặt của IL-18BP tự do bằng cách sử dụng kháng thể bắt giữ đặc hiệu IL-18BP đơn dòng đầu tiên và kháng thể phát hiện đặc hiệu IL-18BP, kháng thể này liên kết với vị trí khác của IL-18BP với kháng thể bắt giữ, đặc biệt là một trong các kháng thể đặc hiệu này liên kết với vị trí liên kết IL-18 của IL-18BP;
- c) xác định lượng IL-18 tự do và/hoặc IL-18BP tự do liên kết với phân tử bắt giữ trong mẫu;
- d) so sánh lượng IL-18 tự do và/hoặc IL-18BP tự do trong mẫu của đối tượng mắc bệnh với lượng trong mẫu của đối tượng khỏe mạnh.

59. Phương pháp chẩn đoán bệnh hoặc rối loạn như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 43, để chẩn đoán khuynh hướng bệnh hoặc rối loạn như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 43, theo dõi bệnh tồn lưu tối thiểu ở đối tượng, hoặc để dự đoán khả năng đáp ứng của đối tượng đối với việc điều trị bằng chất ức chế IL-18 theo các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 30, IL-18BP theo các phương án từ 31 đến 43 hoặc chế phẩm được chứa chất ức chế IL-18 theo các phương án từ 44 đến 49 và chất mang và/hoặc tá dược được dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, bao gồm các bước:

- a) thu mẫu dịch cơ thể, đặc biệt là đờm và huyết thanh từ đối tượng;
- b) thử nghiệm mẫu nêu trên với sự có mặt của IL-18 tự do bằng cách sử dụng kháng thể IL-18 theo các phương án từ 14 đến 25 hoặc IL-18BP làm phân tử bắt giữ và/hoặc thử nghiệm mẫu nêu trên với sự có mặt của IL-18BP tự do bằng

cách sử dụng kháng thể bắt giữ đặc hiệu IL-18BP đơn dòng đầu tiên và kháng thể phát hiện đặc hiệu IL-18BP, kháng thể này liên kết với vị trí khác của IL-18BP với kháng thể bắt giữ, đặc biệt là một trong các kháng thể đặc hiệu IL-18BP này liên kết với vị trí liên kết IL-18 của IL-18BP;

c) thử nghiệm mẫu nêu trên với sự có mặt của IL-18 tổng số và/hoặc IL-18BP tổng số bằng cách sử dụng kháng thể đặc hiệu đơn dòng IL-18BP đầu tiên không liên kết với vị trí liên kết IL-18 của IL-18BP và kháng thể đặc hiệu IL-18 thứ hai, không liên kết với vị trí liên kết IL-18BP của IL-18;

d) xác định lượng IL-18 tự do và tổng số và/hoặc IL-18BP tự do và tổng số liên kết với phân tử bắt giữ trong mẫu;

e) so sánh lượng IL-18 tự do và/hoặc tổng số và/hoặc IL-18BP tự do và/hoặc tổng số trong mẫu của đối tượng mắc bệnh như vậy với lượng trong mẫu của đối tượng khỏe mạnh.

60. Phương pháp chẩn đoán theo một trong các phương án bất kỳ nêu trên, trong đó lượng IL-18 tự do trong huyết thanh phân lập của đối tượng, đặc biệt là người, mắc bệnh nêu trên nằm trong khoảng từ 5 đến 10000 pg/mL, trong khi lượng IL-18 tự do trong huyết thanh của đối tượng khỏe mạnh, đặc biệt là người khỏe mạnh là ≤ 4 pg/mL.

61. Tập hợp các dấu ấn sinh học để sử dụng trong chẩn đoán bệnh hoặc rối loạn như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 43, để sử dụng trong chẩn đoán khuynh hướng mắc các bệnh hoặc rối loạn như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 43 hoặc để sử dụng trong việc theo dõi bệnh tồn dư tối thiểu ở đối tượng, hoặc để dự đoán khả năng đáp ứng của đối tượng đối với việc điều trị bằng chất ức chế IL-18 theo các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 30, IL-18BP theo các phương án từ 31 đến 43 hoặc chế phẩm được chứa chất ức chế IL-18 theo các phương án từ 44 đến 49.

62. Phương pháp chẩn đoán bệnh hoặc rối loạn như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 43, để chẩn

đoán khuynh hướng mắc các bệnh hoặc rối loạn như được định nghĩa theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 43 hoặc để theo dõi bệnh tồn lưu tối thiểu ở đối tượng, hoặc để dự đoán khả năng đáp ứng của đối tượng đối với việc điều trị bằng chất ức chế IL-18 theo các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 30, IL-18BP theo các phương án từ 31 đến 43 hoặc chế phẩm dược chứa chất ức chế IL-18 theo các phương án từ 44 đến 49, bao gồm các bước:

- e) thu thập hồ sơ dấu ấn sinh học của đối tượng được kiểm tra bằng cách lấy mẫu của dịch cơ thể từ đối tượng đó;
- f) thu thập hồ sơ dấu ấn sinh học của quần thể tham chiếu khỏe mạnh;
- g) thu thập hồ sơ dấu ấn sinh học từ quần thể mắc bệnh hoặc rối loạn nêu trên và
- h) so sánh hồ sơ dấu ấn sinh học thu được trong bước a) với hồ sơ thu được trong bước b) và bước c).

63. Kit dược phẩm bao gồm chất ức chế IL-18 theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 13 và từ 26 đến 30, IL-18BP theo các phương án từ 31-43 hoặc chế phẩm dược chứa chất ức chế IL-18 theo các phương án từ 44 đến 49 và chất mang và/hoặc tá dược được dụng theo sáng chế ở các dạng liều lượng đơn vị riêng biệt, các dạng này thích hợp để sử dụng với lượng hữu hiệu.

64. Kit chẩn đoán để phát hiện IL-18 tự do, bao gồm kháng thể đặc hiệu IL-18 theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 14 đến 25 làm kháng thể bắt giữ hoặc IL-18BP làm phân tử bắt giữ thay thế, và kháng thể phát hiện đặc hiệu IL-18 thứ hai hoặc kháng thể đặc hiệu IL-18 theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 14 đến 25 làm kháng thể phát hiện và kháng thể bắt giữ đặc hiệu IL-18 thứ hai, trong đó kháng thể phát hiện liên kết với các vị trí khác của IL-18 so với phân tử bắt giữ.

65. Kit chẩn đoán để phát hiện IL-18 tổng số hoặc IL-18BP tổng số, bao gồm kháng thể đặc hiệu IL-18BP đơn dòng đầu tiên không liên kết với vị trí liên kết IL-18 của IL-18BP và kháng thể đặc hiệu IL-18 thứ hai, không liên kết với vị trí liên kết IL-18BP của IL-18.

66. Kit chẩn đoán để phát hiện IL-18BP tự do, bao gồm kháng thể bắt giữ đặc hiệu IL-18BP đơn dòng đầu tiên và kháng thể phát hiện đặc hiệu IL-18BP, kháng thể này liên kết với vị trí khác của IL-18BP với kháng thể bắt giữ.
67. Kit chẩn đoán, bao gồm tất cả kit chẩn đoán theo các phương án từ 64 đến 66.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp xác định lượng IL-18 tự do trong mẫu bao gồm việc phát hiện liên kết đặc hiệu của protein liên kết IL-18 (IL-18BP) với protein IL-18 tự do trong mẫu, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

a) đưa mẫu nghi ngờ chứa IL-18 tự do tiếp xúc với IL-18BP, mà liên kết đặc hiệu với IL-18 tự do, nhưng không liên kết với IL-18 trong một phức hợp và có chức năng như phân tử bắt giữ IL-18 tự do;

b) cho phép IL-18BP liên kết với IL-18 tự do;

c) phát hiện sự liên kết của IL-18 với IL-18BP bằng phương pháp xét nghiệm miễn dịch để phát hiện và xác định lượng IL-18 tự do trong mẫu.

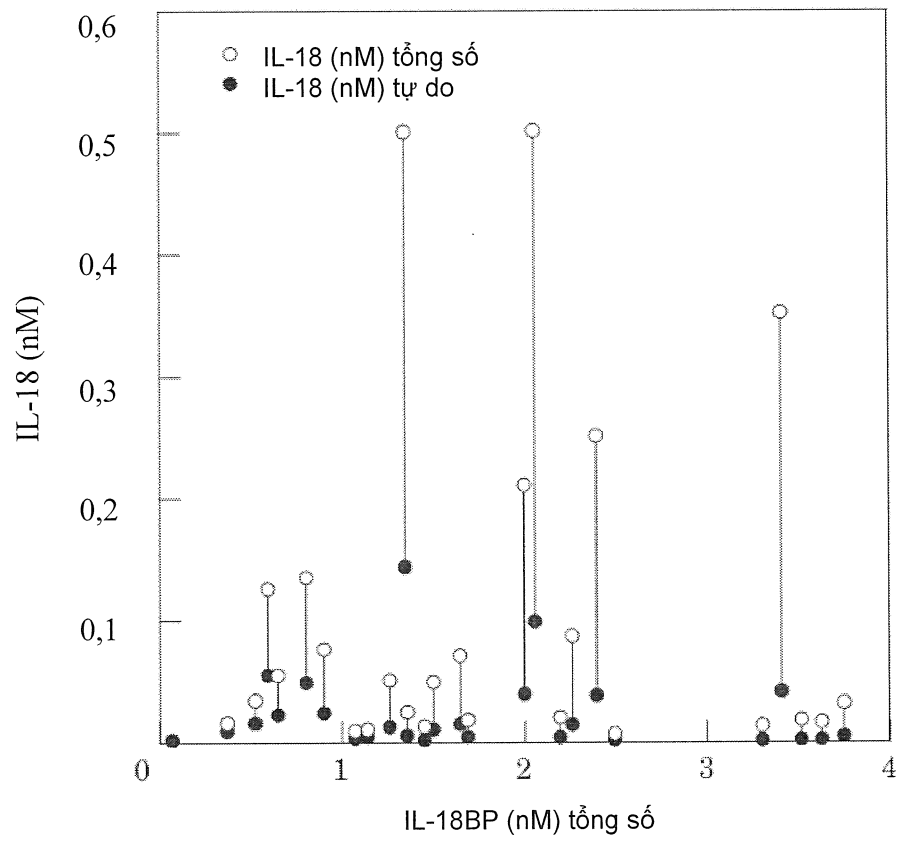
2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó IL-18BP là IL-18BP của người (hIL-18BP).

3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó IL-18BP là IL-18BP, có độ đồng nhất trình tự 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 7, hoặc mảnh chức năng của nó.

4. Kit chẩn đoán để phát hiện IL-18 tự do, trong đó kit này bao gồm phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 (IL-18BP) làm phân tử bắt giữ và phân tử liên kết đặc hiệu IL-18 thứ hai làm phân tử phát hiện, trong đó phân tử phát hiện này là kháng nguyên, kháng thể hoặc thuốc thử thứ cấp được đánh dấu để phát hiện, mà chúng liên kết với các vị trí khác trên IL-18 so với phân tử bắt giữ và tùy ý, phân tử bắt giữ đặc hiệu IL-18 thứ hai, trong đó phân tử phát hiện này liên kết với các vị trí khác trên IL-18 so với phân tử bắt giữ.

5. Kit chẩn đoán theo điểm 4, trong đó IL-18BP là IL-18BP của người (hIL-18BP).

6. Kit chẩn đoán theo điểm 4 hoặc 5, trong đó IL-18BP là IL-18BP, có độ đồng nhất trình tự 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% so với trình tự được nêu trong SEQ ID NO: 7, hoặc mảnh chức năng của nó.

**Fig. 1**

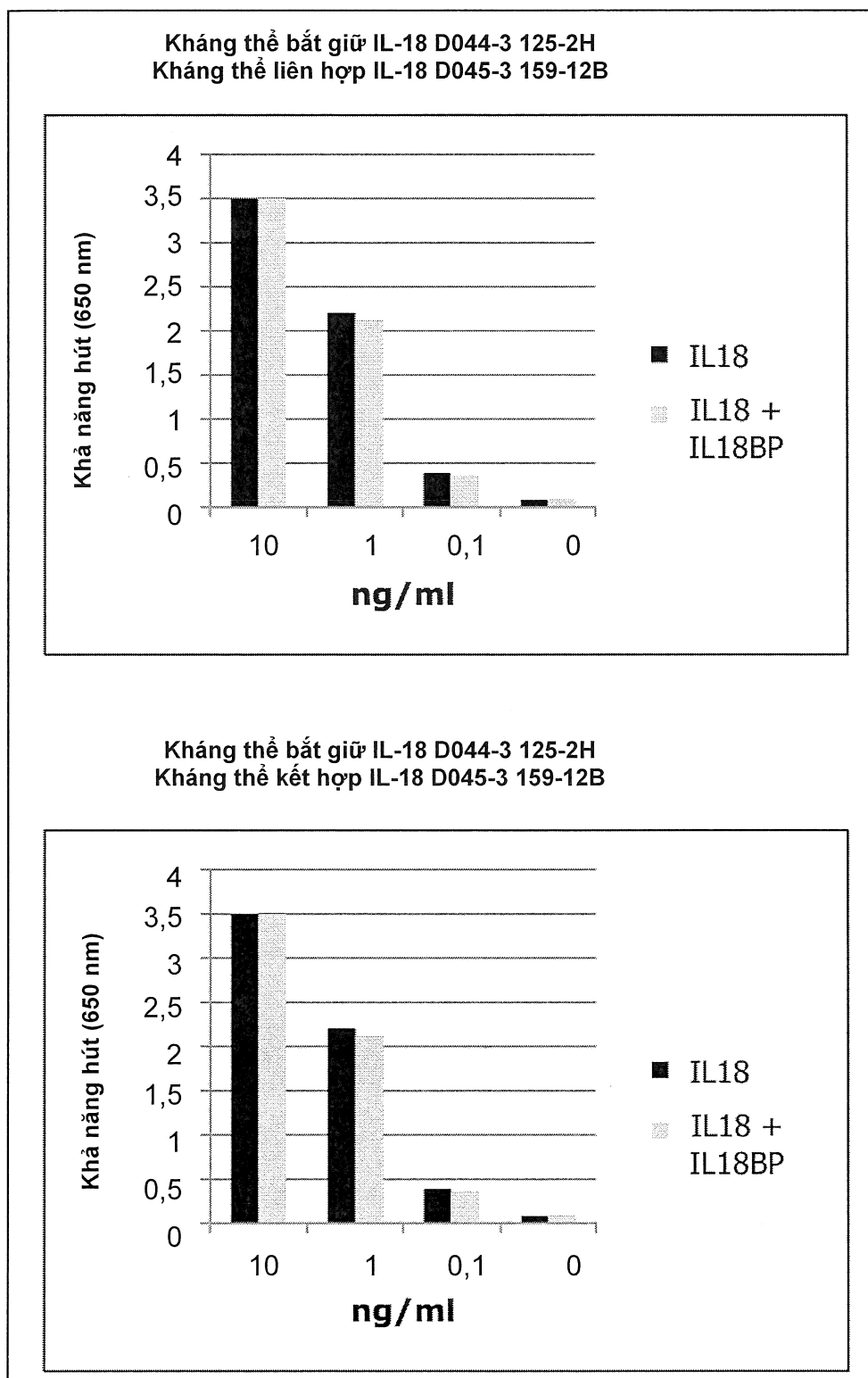


Fig. 2

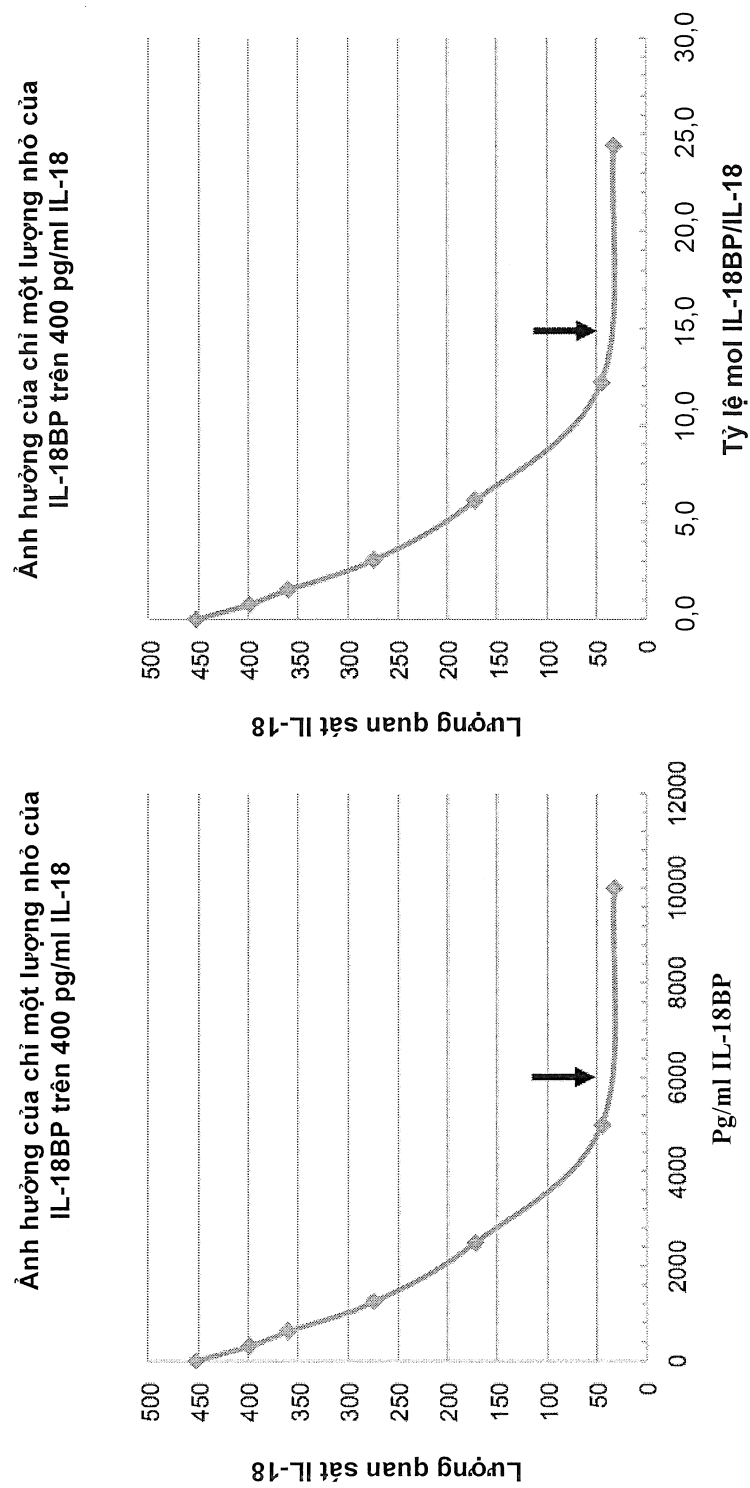


Fig. 3

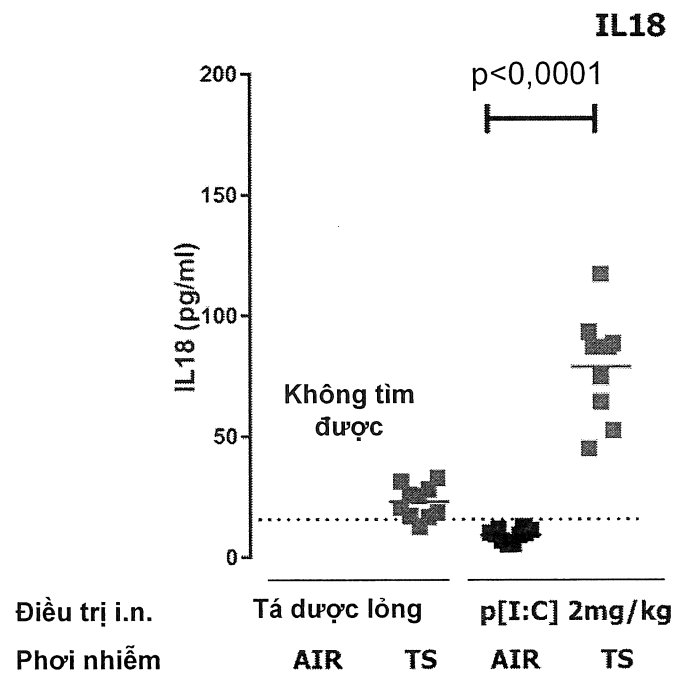


Fig. 4

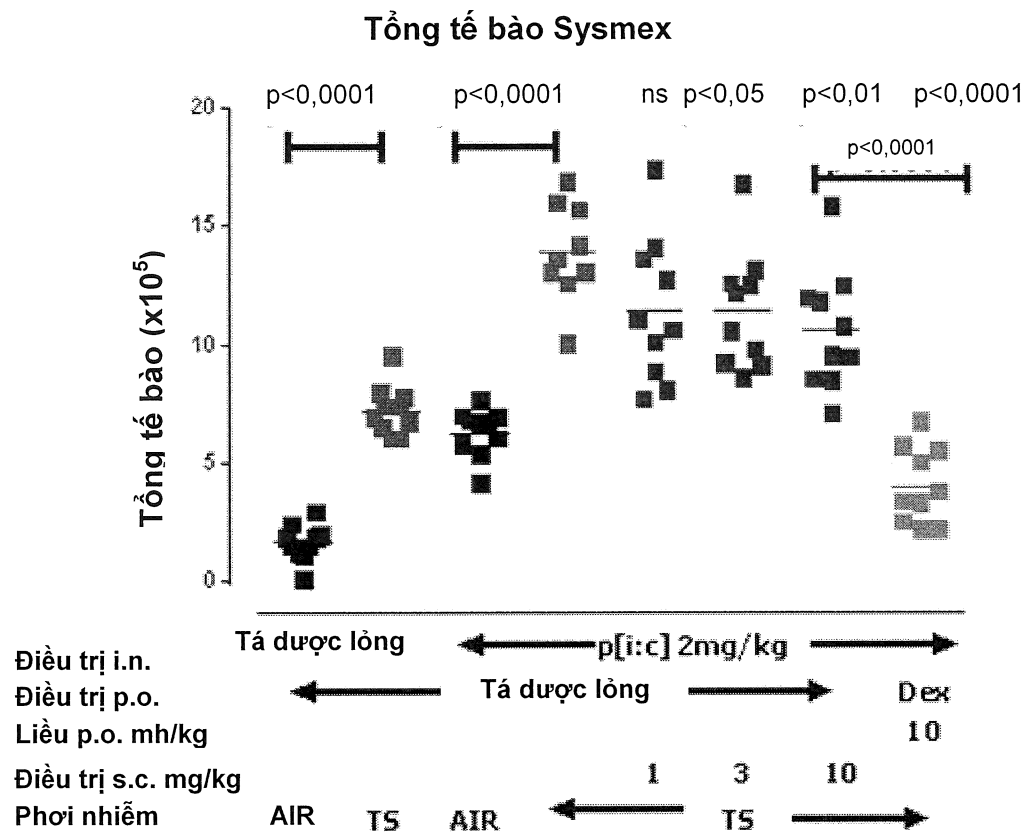


Fig. 5

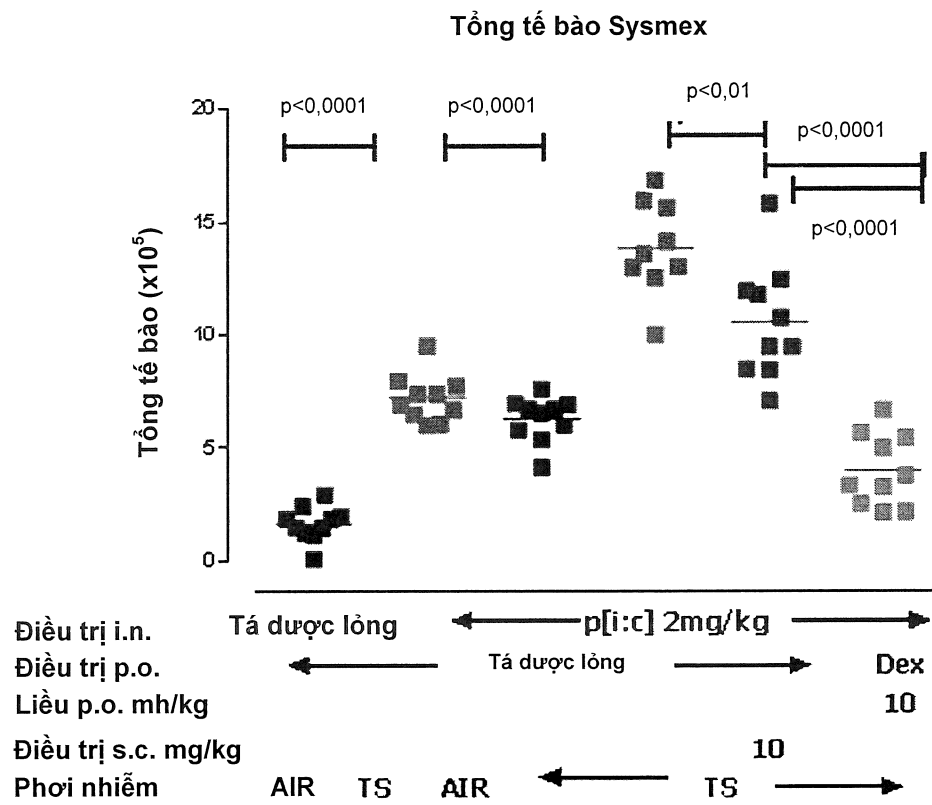


Fig. 6

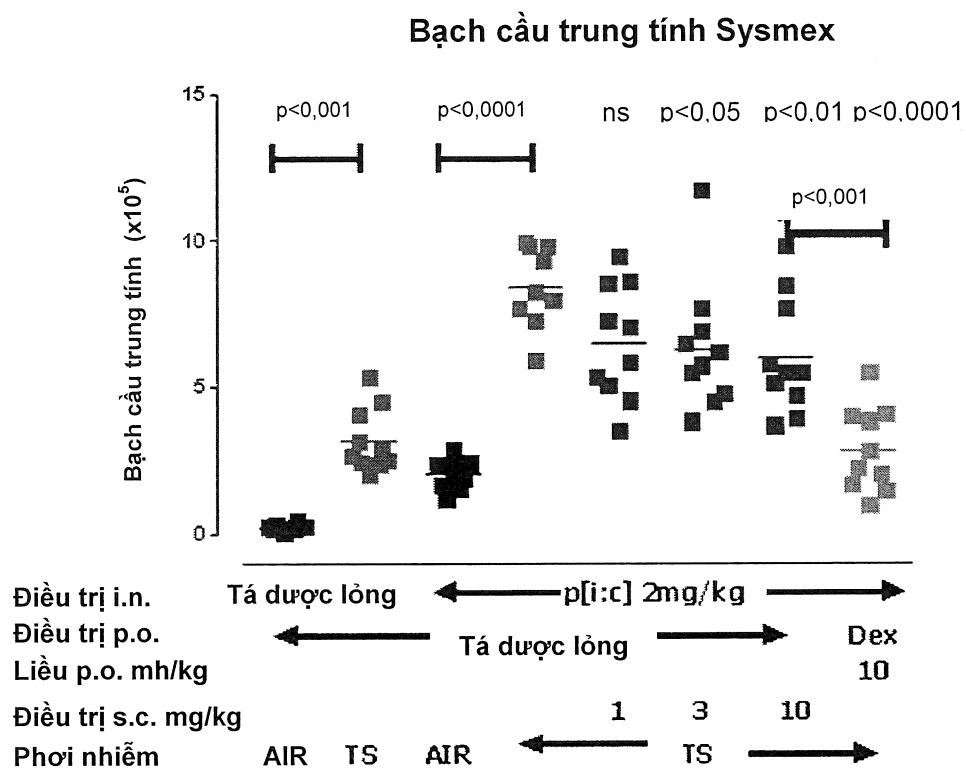


Fig. 7

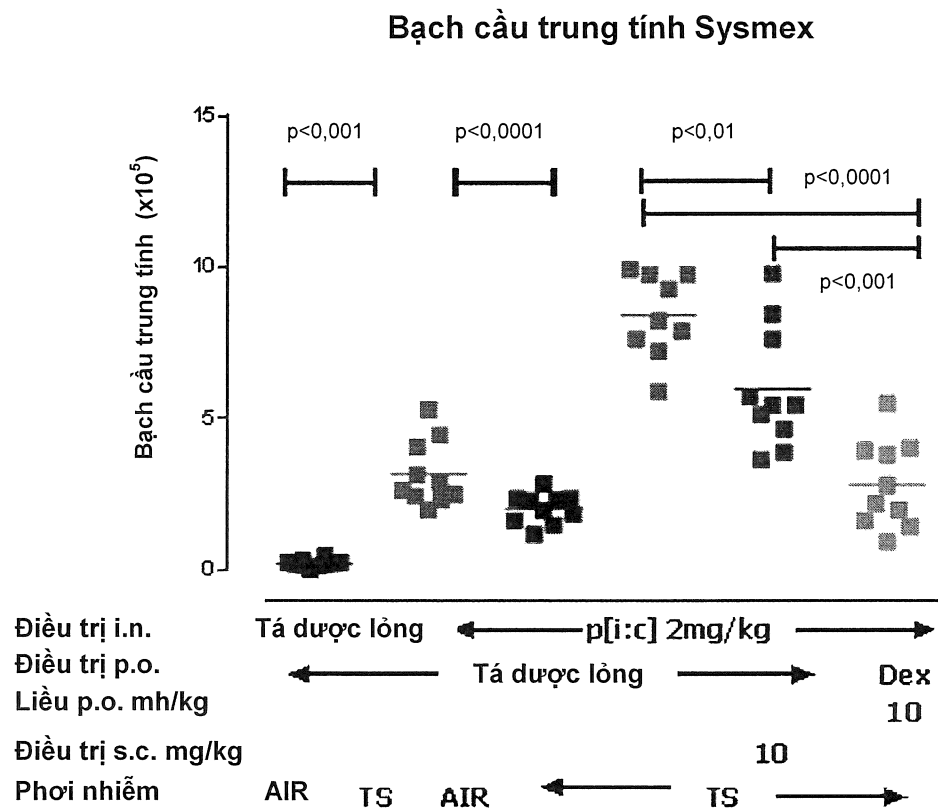


Fig. 8

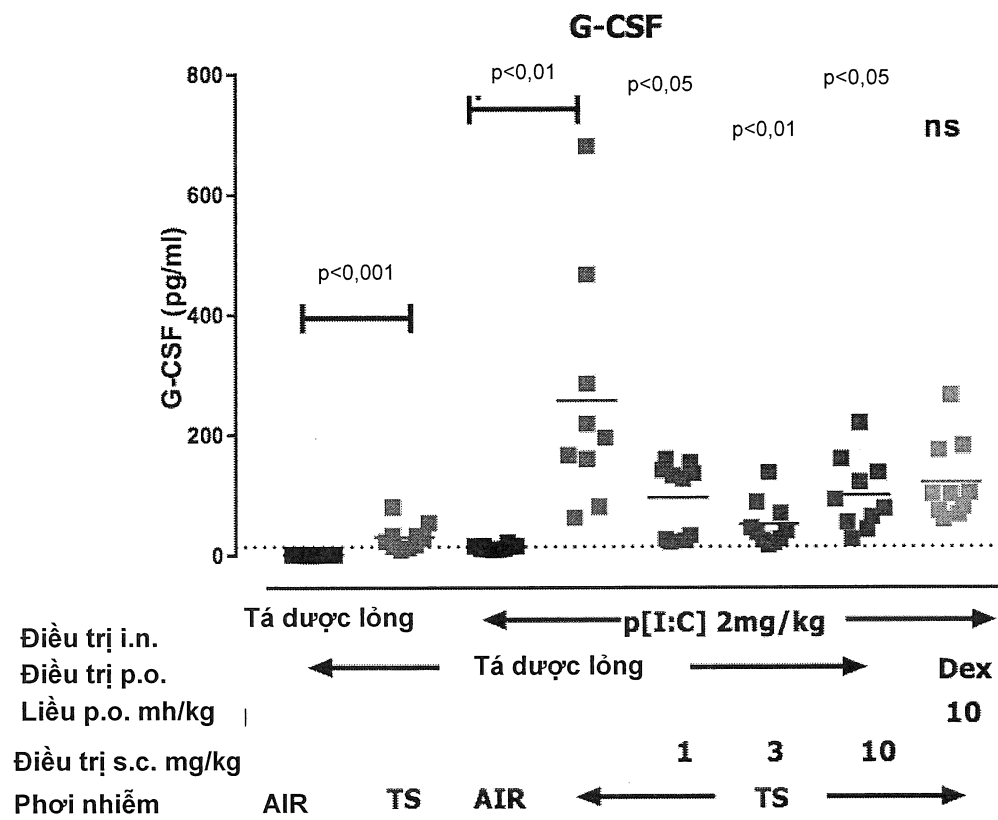


Fig. 9.

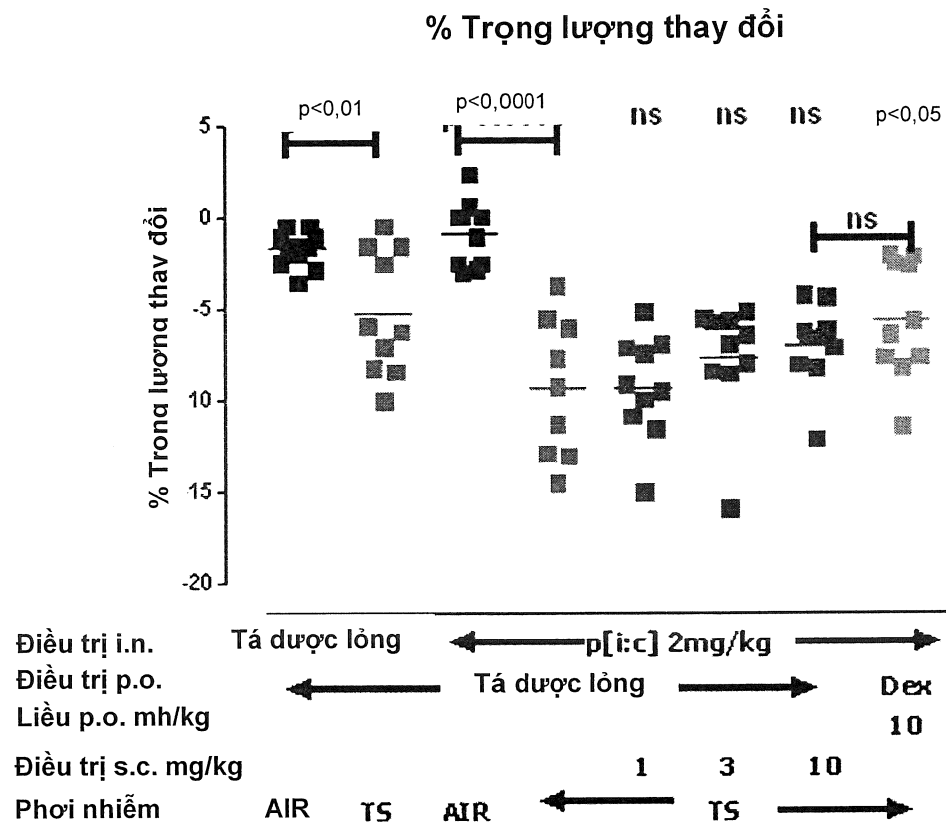


Fig. 10

107C6

Trình tự ADN VH:

ATGGGTTGGGTGTGGACCTTGCCATTCTGATGGCAGCTGCCCAAAGTATCCAAGC
 ACAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGTCCTGAACTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGC
 TCTCCTGCAGGGCTTCTGGATATACATTCACAACTATGGAATGAACTGGGTGAAGCAGG
 CTCCAGGAAAGGGTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACTCTGGAGTGCCAACAT
 ATGCTGATGACTTCAAGGGACAGTTTGCCTTCTCTTTGGAAACCTCTGCCGCCACTGCCTT
 TTTGCAGATCAACAACCTCAAAGATGAGGACACGGCTACATATTTTGTGCAAGAGAGGG
 ATATAGTACTACCAGGTCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTC
 AGCCAAAACGACACCCCCATCTGTCTATCCACTGGCC (SEQ ID NO: 81)

Trình tự axit amin VH:

MGWVWTLPLMAAAQSIQAQIQLVQSGPELKKPGETVKLSCRASGYTFTNYGMN
 WVKQAPGKGLKWMGWINTYSGVPTYADDFKQQAFAFSLTSAATAFLQINNLIKDEDTAT
 YFCAREGYSTTRSM DYWGQGT SVTVSSAKTTPPSVYPLA

(SEQ ID NO: 82; SEQ ID NO: 9 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 27-29 (trình tự gạch dưới))

Trình tự ADN VK:

ATGGAGTCACAGTCTCAGGTTCTTATATTGCTGCTGCTATGGGTATCTGGTACCTGT
 GGGGACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTCCCTGGCTGTGTCAGCAGGAGAGAAGGTC
 ACTATGAGCTGCAAATCCAGTCAGAGTCTGCTCGACAGTAGAACCCGAAAGAACTACTTG
 GTTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGTCTCCTAAACTGCTGATCTACTGGGCATCCACT
 AGGGGATCTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC
 ACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGCAAACAATCTTATAAT
 CTTCGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAACGGGCTGATGCTGCACCAACT
 GTATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCT
 TCTTGAACAATTCTACCCCAA (SEQ ID NO: 83)

Trình tự axit amin VK:

MESQSQVLILLLLWVSGTCGDIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSL LDSRTRKN
 YLVWYQQKPGQSPKLLIYWASTRSGSGVPDRFTGSGSGTDFLTISVQAEDLAVYYCKQ
 SYNLRTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK (SEQ ID NO:

84; SEQ ID NO: 10 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 30-32 (trình tự gạch dưới))

Fig. 11-1

108F8

Trình tự ADN VH:

ATGGGTTGGGTGTGGACCTTGCTATTCCTGATGGCAGCTGCCCAAAGTATCCAATC
 ACAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGTCTGATTCGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGCT
 CTCCTGCAGGGCTTCTGGATATACATTCACAACTATGGAATGAACTGGGTGAAGCAGGC
 TCCAGGAAAGGGTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACTCTGGAGTGCCAACAT
 ATGCTGATGACTTCAAGGGACAGTTTGCCTTCTCTTTGGAAACCTCTGCCGCCACTGCCTT
 TTTGCAGATCAACAACCTCAAAGATGAGGACACGGCTACATATTTTTGTGCAAGAGAGGG
 ATATAGTACTACCAGGTCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTC
 AGCCAAAACGACACCCCCATCTGTCTTCCCCCTGGCACCT (SEQ ID NO: 85)

Trình tự axit amin VH:

MGWVWTLFLMAAAQSIQSQIQLVQSGPDSKKPGETVKLSCRASGYTFTNYGMNW
 VKQAPGKGLKWMGWINTYSGVPTYADDFKGQFAFSLETSAAATAFLQINNPKDEDTATY
 FCAREGYSTTRSMIDYWGQTSVTVSSAKTTPPSVFPLAP

(SEQ ID NO: 86; SEQ ID NO: 11 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 33-35 (trình tự gạch dưới))

Trình tự ADN VK:

ATGGGCTTCAAGATGAAGTCAGTCGACCTGGTTCTTATATTGCTGCTGCTATGGGTA
 TCTGGTACCTGTGGGGACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTCCCTGGCTGTGTCAGCAG
 GAGAGAAGGTCAGTATGAGCTGCAAATCCAGTCAGAGTCTGCTCGACAGTAGAACCCGA
 AAGAACTACTTGGTTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGTCTCCTAAACTGCTGATCTAC
 TGGGCATCCACTAGGGGATCTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACA
 GATTTCACTCTCACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGCAAA
 CAATCTTATAATCTTCGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAACGGGCTGAT
 GCTGCACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAGC-
 AGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGAACAACCTTCTACCCC

(SEQ ID NO: 87)

Trình tự axit amin VK:

MGFKMKSVDLVLILLWVSGTCGDIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLLDSR
 TRKNYLVWYQQKPGQSPKLLIWASTRSGVDPDRFTGSGSGTDFLTISVQAEDLAVY
 YCKQSYNLRFTGGGKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYP (SEQ
 ID NO: 88; SEQ ID NO: 12 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 36-38 (trình tự gạch dưới))

Fig. 11-2

109A6Trình tự ADN VH:

ATGAAATGCAGCTGGATTATGTTCTTCCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTC
 AGAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCAGAACTTGTGAAGCCAGGGGCCTCAGTCAAGT
 TGTCTGCACAGCTTCTGGCTTCAAAATTAAAGACACCTATATACACTGGGTGATCCAGA
 GGCCTGCACAGGGCCTGGAATGGATTGGAAGGATTGATCCTGCGAATGGTAATACTATTT
 ATGGCTCAAAGTTCCAGGGCAAGGCCACTCTAACAGCGGACACATCATCCAACACAGCCT
 ACATTCACCTCAGCAGCCTGACATCTGGGGACTCTGCCGTCTATTACTGTGCGGGCTACGT
 TTGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCAGCTACAACAACAGC
 CCCATCCGTCTTCCCCCTGGCACCA (SEQ ID NO: 89)

Trình tự axit amin VH:

MKCSWIMFFLMMAVVTGVNSEVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFKIKDTYIHW
 VIQRPAQGLEWIGRIDPANGNTIYGSKFQGKATLTADTSSNTAYIHLSSLTSGDSAVYYCA
GYVWFAYWGQGLTVTSAATTTAPSVFPLAP (SEQ ID NO: 90)

(SEQ ID NO: 90; SEQ ID NO: 13 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 39-41 (trình tự gạch dưới))

Trình tự ADN VK:

ATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCTGATGTTCTGGATTCCCTGCCTCCAGCAGT
 GATGTTGTGATGACCCAAGTTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCA
 TCTCTTGACAGATCTAGTCAGAGACTTGTGCACAGTAATGGAAACACCTATTTACATTGGTT
 CTTACAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACACAGTTTCCAACCGATTTTCT
 GGGGTCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCAG
 CAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCTCAAAGTACACTTGTTCGGTG
 GACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGTAT
 CCATCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTT
 GAACAACTTCTACCCAAAG (SEQ ID NO: 91)

Trình tự axit amin VK:

MKLPVRLLVLMFWIPASSSDVVMQTQVPLSLPVSLGDQASISCRSSQRLVHSNGNTYL
 HWFLQKPGQSPKLLIYTVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTL
VPWTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK

(SEQ ID NO: 92; SEQ ID NO: 14 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 42-44 (trình tự gạch dưới))

Fig. 11-3

111A6Trình tự ADN VH:

ATGAAATGCAGCTGGGTTATGTTCTTCCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTC
 AGAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCAGAACTTGTGAAGCCAGGGGCCTCAGTCAAGT
 TGTCTGCACAGCTTCTGGCTTCAAAATTAAAGACACCTATATACACTGGGTGATCCAGA
 GGCCTGCACAGGGCCTGGAATGGATTGGAAGGATTGATCCTGCGAATGGTAATACTATTT
 ATGGCTCAAAGTTCCAGGGCAAGGCCACTCTAACAGCGGACACATCATCCAACACAGCCT
 ACATTCACCTCAGCAGCCTGACATCTGGGGACTCTGCCGTCTATTACTGTGCGGGCTACGT
 TTGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCAGCTACAACAACAGC
 CCCATCCGTCTTCCCCCTGGCACCA (SEQ ID NO: 93)

Trình tự axit amin VH:

MKCSWVMFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASSGFKIKDTYIHW
 VIQRPAQGLEWIGRIDPANGNTIYGSKFQGKATLTADTSSNTAYIHLSSLTSGDSAVYYCA
GYVWFAYWGQGLTVSAATTTAPSVFPLAP (SEQ ID NO: 94; SEQ ID NO: 15 (trình tự in
 đậm); (SEQ ID NO: 45-47 (trình tự gạch dưới))

Trình tự ADN VKI

ATGGATTTTCAGGTGCAGATTTTCAGCTTCTTGCTAATCAGTGCCTCAGTTGCAATG
 TCCAGAGGAGAAAATGTGCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCTTCTCCAGGGGAG
 AAGGTCACCATGACCTGCAGGGCCAGGTCAAGTGTAAGTTCCAGTTACTTGCACTGGTAC
 CAGCAGAAGTCAGGTGCCTCCCCCAAACCTCTGGATTTATAGCACATCCAACCTGGCTTCT
 GGAGTCCCTACTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATCAGCA
 GTGTGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAGTACAGTGGTTACCCACTCA
 CGTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCCA
 TCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGAA
 CAACTTCTACCCCAAG (SEQ ID NO: 95)

Trình tự axit amin VK:

MDFQVQIFSLLISASVAMSRGENVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRARSSVSSSYLH
 WYQQKSGASPKLWIYSTSNLASGVPTRFSGSGSGTSYSLTISSVEAEDAATYYCQOYSGY
PLTFGAGTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK (SEQ ID NO: 96; SEQ
 ID NO: 16 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 48-50 (trình tự gạch dưới))

Fig. 11-4

Trình tự ADN VK 2

ATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCTGATGTTCTGGATTCCTGCCTCCAGCAGT
 GATGTTGTGATGACCCAAGTTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCA
 TCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGACTTGTGCACAGTAATGGAAACACCTATTTACATTGGTT
 CTTACAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACACAGTTTCCAACCGATTTTCT
 GGGGTCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCAG
 CAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCTCAAAGTACACTTGTTCCGTG
 GACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGTAT
 CCATCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTT
 GAACAACTTCTACCCCAAAG (SEQ ID NO: 97)

Trình tự axit amin VK 2:

MKLPVRLLVLMFWIPASSSDVVM**TQVPLSLPVS**LG**DQASISCRSSQRLVHSNGNTYL**
HWFLQKPGQSPKLLIYTVSNRFS**GV**PDR**FS**GS**GS**GT**DF**TL**KISR**VE**AED**LG**VY**FC**SQSTL**
VPWTFGGG**TKLEIK**RADAAPT**VS**IFPP**SE**QLTSGGAS**VVC**FLNNFY**PK**(SEQ ID NO: 98;
 SEQ ID NO: 17 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 51-53 (trình tự gạch dưới))

131B4Trình tự ADN VH:

ATGAAATGCAGCTGGATTATGTTCTTCCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTC
 AGAGGTTTCAGGTGCAGCAGTCTGGGGCAGAGCTTGTGAAGCCAGGGGCCTCAGTCAAGT
 TGTCTGCACAGCTTCTGGCTTCAAATTAAGGACACCTATATACACTGGTTAAACAGA
 GGCCTGAACAGGGCCTGGAATGGATTGGAAGGATTGATCCTGCGAATGGTAATACTATAT
 ATGGCTCAAAGTTCCAGGGCAAGGCCACTATAACAGCAGACACATCATCCAACACAGCC
 TACATTCAACTCAGCAGCCTGACATCTGGGGACACTGCCGTCTATTTTGTGCGGGCTACG
 TTTGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCAGCCAAAACGACAC
 CCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCC (SEQ ID NO: 99)

Trình tự axit amin VH:

MKCSWIMFFLMAVVTGVN**SEVQVQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFKIKD**TY**IHW**
LKQRPEQGLEWIGRIDPANGNTIYGSK**FQ**GKATITADTSSNTAY**IQ**LS**SLTSGD**TA**VY**FC**A**
GYVWFAYWGQGLVTVSAAKTTPPSVF**PLA** (SEQ ID NO: 100; SEQ ID NO: 18 (trình tự
 in đậm); (SEQ ID NO: 54-56 (trình tự gạch dưới))

Fig. 11-5

Trình tự ADN VH 2:

ATGGCTGTCTTGGGGCTGCTCTTCTGCCTGGTGACATTCCCAAGCTGTGTCCTGTCC
 CAGGTGCAGCTGAAGCAGTCAGGACCTAGCCTAGTGCAGCCCTCACAGAGCCTGTCCATA
 ACCTGCACAGTCTCTGGTTTCTCATTAACTAGCTATGGTGTACACTGGGTTCGCCAGTCTC
 CAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTGATATGGAGAGGTGGAAGCACAGACTACAAT
 GCAGCTTTCATGTCCAGACTGAGCATCACCAAGGACAACCTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTT
 AAAATGAACAGTCTGCAAGCTGATGACACTGCCATATACTACTGTGCCAAAAATTGGGAG
 TATGATGGTTACTGGGGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA
 GAGAGTCAGTCCTTCCCAAATGTCTTCCCCCTCGAA (SEQ ID NO: 101)

Trình tự axit amin VH 2:

MAVLGLLFLCLVTFPSCVLSQVQLKQSGPSLVQPSQSL SITCTVSGFSLTSYG VHWVR
 QSPGKGLEWLGV IWRGGSTDYNAAFMSRLSITKDNSKSQVFFKMNSLQADDTAIYYCA
 KNWEYDGYWGFAYWGQGT LVTVSAESQSFPNVFPLE

(SEQ ID NO: 102; SEQ ID NO: 103 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 104-106 (trình tự gạch dưới))

Trình tự ADN VH 3:

ATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCAGAGGTT CAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGA
 GCTTGTGAGGCCAGGGGCCTCAGTCAAGTTGTCCTGCACAGCTTCTGGCTTTAACATTAA
 AGACGACTATATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGAA
 GGATTGATCCTGCGAATGGTAATACTAAATATGCCCCGAAGTTCCAGGACAAGGCCACTA
 TAACTGCAGACACATCCTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGG
 AACTGCCGTCTATTACTGTGCTAGAAGCTATGATGGTTCTCTGGGGGACTACTGGGGCC
 AAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGAGAGTCAGTCCTTCCCAAATGTCTTCCCCCTCGA
 G

(SEQ ID NO: 107)

Trình tự axit amin VH 3:

MAVVTGVNSEVQLQQSGAELVRPGASVKLSCTASGFNIKDDYMHVWKQRPEQGL
 EWIGRIDPANGNTKYAPKFQDKATITADTSSNTAYLQLSSLTSED TAVYYCARSYDGSLG
 DYWGQGTTLTVSSESQSFPNVFPLE (SEQ ID NO: 108; SEQ ID NO: 109 (trình tự in đậm);

(SEQ ID NO: 110-112 (trình tự gạch dưới))

Fig. 11-6

Trình tự ADN VK:

ATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCTGATGTTCTGGATTCCTGCTTCCAGCAGT
 GATGCTGTGTTGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCA
 TCTCTTGACATCTAGTCAGAGCCTTGACACAGTAATGGAAACACCTATTTACATTGGTA
 CCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCGACCGATTTTC
 TGGGGTCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGAACAGATTTCACTCATGATCAC
 CAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCTCAAAGTTCACTTGTTCCGTGG
 ACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAGTCAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCC
 ATCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGA
 ACAACTTCTACCCCAA (SEQ ID NO: 113)

Trình tự axit amin VK:

MKLPVRLLVLMFWIPASSSDAVLTQTPLSLPVSLGDQASISCTSSQSLVHSNGNTYLH
 WYLQKPGQSPKLLIYKVSDRFSGVDPDRFSGSGSTDFTLMITRVEAEDLG VYFCSSQLV
 PWTFFGGGTKLEVKRADAAPT VSI FPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PK
 (SEQ ID NO: 114; SEQ ID NO: 19 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 57-59 (trình tự gạch dưới))

131E8Trình tự ADN VH 1:

ATGGCTGTTTTGGGGCTGCTCTTCTGCCTGGTGACATTCCCAAGCTGTGTCCTATCC
 CAGGTGCAGCTGAAGCAGTCAAGACCTGGCCCAGTGCAGCCCTCACAGAGCCTGTCCATC
 ACCTGCACAGTCTCTGGTTTCTCATTACCTAACTATGGTGTACACTGGGTTCGCCAGCCTC
 CAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTGATATGGAGTGGTGGAAAGCACAGACTATAAT
 GCAGCTTTCAAATCCAGACTGAGCATCAGCAAGGACAACCTCCAAGAGCCAAGTTTCTTT
 AAAATGAACAGTCTGCAAGCTGATGACACAGCCATATACTACTGTGCCAGAAATTTTAT
 AGTAAGTACGACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
 GCCAAAACAACACCCCCCATCCGTCTTCCCCCTGGC (SEQ ID NO: 115)

Trình tự axit amin VH 1:

MAVLGLLFCLVTFPSCVLSQVQLKQSRPGPVQPSQSL SITCTVSGFSLPNYGVHWVR
 QPPGKGLEWLGVIWSGGSTDYNAAFKSRLSISKDNSKSQVFFKMNSLQADDTAIYYCAR
 NFYSKYDYAMDYWGQTSVTVSSAKTTPPSVFPL (SEQ ID NO: 116; SEQ ID NO: 20
 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 60-62 (trình tự gạch dưới))

Fig. 11-7

Trình tự ADN VH 2:

ATGTTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCAGGTCCAACTGCAGCA
GCCTGGGTCTGTGCTGGTGAGGCCTGGAGCTTCAGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCTTCTGG
CTACACATTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCGGGACAAGGCCTTG
AGTGGATTGAAAATATTAATCCTAATAGTGGTAGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGG
GCAAGGCCACACTGACTGTAGACACATCCTCCAGCACAGCCTACATGGATCTCAGCAGCC
TGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGACTGGGTGACTACTGGGGCCAAG
GCACCACTCTCACAGTCTCCTCAAAGAGTCAGTCCTCCCCATCCGTCTTCCCCCTG (SEQ
ID NO: 117)

Trình tự axit amin VH 2:

MFFLVATATGVHSQVQLQQPGSVLVVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRP
GQGLEWIGNINPNSGSTNYNEKFKGKATLTVDTSSSTAYMDLSSLTSEDSAVYYCARLGD
YWGQGTTTLTVSSKSQSSPSVFPL (SEQ ID NO: 118; SEQ ID NO: 21 (trình tự in đậm); (SEQ ID
NO: 63-65 (trình tự gạch dưới))

Trình tự ADN VH 3:

GCTGTCTTGGGGCTGCTCTTCTGCCTGGTTGCATTTCCAAGCTGTGTCCTGTCCCAG
GTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCATCACT
TGCACTGTCTCTGGGTTTTTCATTAACCAGCTATGGTGTACACTGGGTTCGCCAGCCTCCAG
GAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGCTGGTGGAAGCACAAATTATAATTCTG
GCTCTCATGTCCAGACTGAGCATCAGCAAAGACAACCTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAA
ATGAACAGTCTGCAAAGTATGACACAGCCATGTACTACTGTGCCAGAGATAGTAACTAC
TTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCAGAGAGTCAGTCCTTCCCA
AATGTCTTCCCCCTCGTA (SEQ ID NO: 119)

Trình tự axit amin VH 3:

AVLGLLFCLVAFPSCVLSQVQLKESGPGLVAPSQSLTCTVSGFSLTSYGVHWVRQ
PPGKGLEWLGVIWAGGSTNYNSALMSRLSISKDNSKSQVFLKMNSLQTDDETAMYYCAR
DSNYFDYWGQGTTTLTVSSESQSPNVFPLV (SEQ ID NO: 120; SEQ ID NO: 121 (trình tự
in đậm); (SEQ ID NO: 122-124 (trình tự gạch dưới))

Fig. 11-8

Trình tự ADN VK:

ATGGATTTTCAGGTGCAGATTTTCAGCTTCCTGCTAATCAGTGCCTCAGTCATAATG
 TCCAGAGGAGAAAATGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAGGGGAA
 AAGGTCACCATGACCTGCAGTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGCACTGGTACCAGCAG
 AAGTCAAGCACCTCCCCAAACTCTGGATTTATGACACATCCAAACTGGCTTCTGGAGTC
 CCAGGTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAAACTCTTACTCTCTCACGATCAGCAGCATG
 GAGGCTGAAGATGTTGCCACTTATTACTGTTTTTCAGGGGAGTGGGTACCCACTCACGTTC
 GGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCCATCTTC
 CCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGAACAAC
 TTCTACCCCAA (SEQ ID NO: 125)

Trình tự axit amin VK:

MDFQVQIFSLLISASVIMSRGENVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQ
 QKSSTSPKLWIYDTSKLASGVPGRFSGSGSGNSYSLTISSMEAEDVATYYCFQSGGYPLTF
 GSGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK
 (SEQ ID NO: 126; SEQ ID NO: 22 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 66-68 (trình tự gạch dưới))

131H1Trình tự ADN VH:

ATGGCTGTCTTGGGGCTGCTCTTCTGCCTGGTGACATTCCCAAGCTGTGTCCTATCC
 CAGGTGCAGCTGAAGCAGTCAGGACCTGGCCTAGTGCAGCCCTCACAGAGCCTGTCCATC
 ACCTGCACAGTCTCTGGTTTCTCATTAAGTCTATGGTGTACACTGGGTTCGCCAGTCTC
 CAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTGATATGGAGTGGTGGAAGCACAGACTATAAT
 GCAGCTTTCATATCCAGACTGAGCATCAGCAAGGACAATTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTT
 AAAATGAACAGTCTGCAAGCTGATGACACAGCCATATATTACTGTGCCAGATCTTATGAT
 TACGACGGGAGGGGTTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA
 GAGAGTCAGTCCTTCCCAAATGTCTTCCCCCTCGTA (SEQ ID NO: 127)

Trình tự axit amin VH:

MAVLGLLFCLVTFPSCVLSQVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTSYGVHWVR
 QSPGKGLEWLGVIWSGGSTDYNAAFISRLSISKDNSKSQVFFKMNSLQADDTAIYYCARS
 YDYDGRGYFDYWGGQTTLTVSSESQSFPNVFPLV
 (SEQ ID NO: 128; SEQ ID NO: 129 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 130-132 (trình tự gạch dưới))

Fig. 11-9

Trình tự ADN VK 1:

ATGAGTGTGCTCACTCAGGTCCTGGGGTTGCTGCTGCTGTGGCTTACAGGTGCCAG
 ATGTGACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCCTCCCTGTCTGCATCTGTGGGAGAACTGT
 CACCATCACATGTCTGAGCAAGTGAGAATGTTTACAGATATTTAGCATGGTATCAGCAGAG
 ACAGGGAAAATCTCCTCAGCTCCTGGTCTATAGTGCAAAAACCTTAGCAGAAGGTGTGCC
 ATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACACAGTTTTCTCTGAAGATCAACACCCTGCA
 GCCTGAAGATTTTGGGACTTATTACTGTCAACATCATTATAATACTCCTCTCACGTTCCGGT
 GCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCCATCTTCCCA
 CCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGAACAACTTCT
 ACCCCAAA (SEQ ID NO: 133)

Trình tự axit amin VK 1:

MSVLTQVLGLLLLWLTGARCDIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENVYRYLAWY
 QQRQKGKSPQLLVYSAKTLAEGVPSRFSGSGSGTQFSLKINTLQPEDFGTYYCQHYYNTP
 LTFGAGTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK

(SEQ ID NO: 134; SEQ ID NO: 135 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 136-138 (trình tự gạch dưới))

Trình tự ADN VK 2:

ATGGTTCTTATATGGCTCCTGCTATGGGTATCTGGTACCTGTGGGGACATTGTGATG
 TCACAGTCTCCATCCTCCCTGGCTGTGTCAGCAGGAGAGAAGGTCACTATGAGCTGCAAA
 TCCAGTCAGAGTCTGTTCAACAGTAAAACCCGAAAGAACTACTTGGCTTGGTTTCAGCAA
 AAACCAGGGCAGTCTCCTGAACTGCTGATCTACTGGGCATCCACTAGGAAATCTGGGGTC
 CCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTGTG
 CAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGCAAGCAATCTTATAATCTGTGGACGTTCCGGC
 GGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCCATCTTCCCA
 CCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGAACAACTTCT
 ACCCCAAA (SEQ ID NO: 139)

Trình tự axit amin VK 2:

MVLIWLLLWVSGTCGDIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLFNSKTRKNYLAW
 FQQKPGQSPELLIYWASTRKSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCKQSYNL
 WTFGGGKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK

(SEQ ID NO: 140; SEQ ID NO: 141 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 142-144 (trình tự gạch dưới))

Fig. 11-10

132H4*Trình tự ADN VH:*

TGAGCTGGGTTTTCTTGTCTTATTTTAAAAGGTGTCCAGTGTGAAGTGAAGCTGG
 TGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCT
 CTGGATTCACTTTCAGTAACTATGCCATGTCTTGGGTTCGCCAGAATCCGGCGAAGAGGC
 TGGAGTGGGTTCGCAACCATTAGTAGTGGTGGTGCTAATATTTACTATCCAGACAGTGTGA
 AGGGCCGATTCATCATCTCCAGAGACAATGCCAGGAACACCCTGTACCTGCAAATGAGCA
 GTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCATGTATTACTGTGCAAGAGGCGACTATTTTAACCACT
 TCTGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTTGTCAGTGTCTCTGCAGCCAAAACAACAG
 CCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA (SEQ ID NO: 145)

Trình tự axit amin VH:

SWVFLVLILKGVQCEVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASSGFTFSNYAMSWVRQNP
 AKRLEWVATISSGGANIYYPDSVKGRFIISRDNARNTLYLQMSSLRSEDTAMYYCARGDY
FNHFWFAYWGQTLVTVSAAKTTAPSVFPLA

(SEQ ID NO: 146; SEQ ID NO: 23 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 69-71 (trình tự gạch dưới))

(thiếu A ở phần bắt đầu của trình tự, có thể là MSWVF)

Fig. 11-11

Trình tự ADN VK:

ATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCTGATGTTCTGGATTCCTGCTTCCAGCAGT
 GATGTTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCA
 TCTCTTGTAGATCGAGTCAGAGCATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATTTAGAATGGT
 ACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCAAAGTTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTT
 CAGGGGTCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAAGATC
 AACAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAATTTATTACTGCTTTCAGGGTTCACATGTTCCG
 TGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGT
 ATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTC
 TTGA

(SEQ ID NO: 147)

Trình tự axit amin VK:

MKLPVRLLVLMFWIPASSSDVLMTQTPLSLPVS LGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLE
 WYLQKPGQSPKFLIYKVS NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKINRVEAEDLGIYYCFQGS HV
 PWTFGGG TKLEIKRADAAPT VSI FPPSSEQLTSGGASVVCFL

(SEQ ID NO: 148; SEQ ID NO: 24 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 72-74 (trình tự gạch dưới))

(thiếu 6 axit amin cuối thường là NNFYPK hoặc NNFYPR)

133A6Trình tự ADN VH:

ATGAACTTTGGGTTGAGATTGGTTTTCTTGTCCTTGTTTTAAAAGGTGTCCAGTGT
 GAGGTGAAGCTAGTGGAGTCTGGAGGAGGCTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAACT
 CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTCAGTAACTATGCCATGTCTTGGGTTCCGCCAGACT
 CCGGCGAAGAGGCTGGAGTGGGTCACAACCATTAGTAGTGGTGGTGGTAACATCTACTAT
 ACAGACAGTGTGAAGGGCCGATTCACCGTCTCCAGAGACAATGCCAGGAACACCCTGTA
 CCTGCAAATGAGCAGTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCATGTATTACTGTGCAAGAGGCG
 ACTATAGTAACTACTTCTGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCTCTGTCTCTGA
 AGCCAAAACAACAGCCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCT (SEQ ID NO: 149)

Trình tự axit amin VH:

MNFGRLVLVFLVLKGVQCEVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTE SNYAMSW
 VRQTPAKRLEWVTTISSGGGNIYYTDSVKGRFTVSRDNARNTLYLQMSSLRSEDTAMYY
 CARGDYSNYFWFAYWGQGLVSVSEAKTTAPSVFPLAP

(SEQ ID NO: 150; SEQ ID NO: 25 (trình tự in đậm); (SEQ ID NO: 75-77 (trình tự gạch dưới))

Fig. 11-12

Trình tự ADN VK:

ATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCTGATGTTCTGGATTCCCTGCTTCCAGCAGT
 GATGTTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCA
 TCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATTTAGAATGGT
 ACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTT
 CTGGGGTCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCA
 GCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTACTGCTTTCAAGGTTACATGTTCCGT
 GGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGTA
 TCCATCTTCCCACCATCCAGGGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCT
 TGAACAACCTTCTACCCAAAA (SEQ ID NO: 151)

Trình tự axit amin VK:

MKLPVRLLVLMFWIPASSSDVLMTQTPLSLPVS LGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLE
 WYLQKPGQSPKLLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGS HV
 PWTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSREQLTSGGASVVCFLNNFY PK (SEQ ID NO: 152;
 SEQ ID NO: 26 (trình tự in đậm in đậm); (SEQ ID NO: 78-80 (trình tự gạch dưới))

Fig. 11-13

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> AB2 Bio SA

<120> Phương pháp xác định lượng IL-18 tự do trong mẫu và kit chẩn đoán để phát hiện IL-18 tự do

<130> W1568 PCT BS

<150> EP13 18 3193.5

<151> 2013-09-05

<160> 152

<170> BiSSAP 1.3

<210> 1

<211> 14

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Epitop

<400> 1

Tyr Phe Gly Lys Leu Glu Ser Lys Leu Ser Val Ile Arg Asn
1 5 10

<210> 2

<211> 22

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Epitop

<400> 2

Phe Ile Ile Ser Met Tyr Lys Asp Ser Gln Pro Arg Gly Met Ala Val
1 5 10 15
Thr Thr Ile Ser Val Lys
20

<210> 3

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Epitop

<400> 3

Glu Met Asn Pro Pro Asp Asn Ile Lys Asp Thr Lys Ser Asp Ile Ile
1 5 10 15
Phe

<210> 4
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Epitop

<400> 4
 Tyr Phe Gly Lys Leu Glu Ser
 1 5

<210> 5
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Epitop

<400> 5
 Tyr Lys Asp Ser Gln Pro Arg Gly Met Ala
 1 5 10

<210> 6
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Epitop

<400> 6
 Asp Asn Ile Lys Asp Thr Lys
 1 5

<210> 7
 <211> 164
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Protein liên kết IL-18

<400> 7
 Thr Pro Val Ser Gln Thr Thr Thr Ala Ala Thr Ala Ser Val Arg Ser
 1 5 10 15
 Thr Lys Asp Pro Cys Pro Ser Gln Pro Pro Val Phe Pro Ala Ala Lys
 20 25 30
 Gln Cys Pro Ala Leu Glu Val Thr Trp Pro Glu Val Glu Val Pro Leu
 35 40 45
 Asn Gly Thr Leu Ser Leu Ser Cys Val Ala Cys Ser Arg Phe Pro Asn
 50 55 60
 Phe Ser Ile Leu Tyr Trp Leu Gly Asn Gly Ser Phe Ile Glu His Leu
 65 70 75 80
 Pro Gly Arg Leu Trp Glu Gly Ser Thr Ser Arg Glu Arg Gly Ser Thr
 85 90 95
 Gly Thr Gln Leu Cys Lys Ala Leu Val Leu Glu Gln Leu Thr Pro Ala
 100 105 110

Leu His Ser Thr Asn Phe Ser Cys Val Leu Val Asp Pro Glu Gln Val
 115 120 125
 Val Gln Arg His Val Val Leu Ala Gln Leu Trp Ala Gly Leu Arg Ala
 130 135 140
 Thr Leu Pro Pro Thr Gln Glu Ala Leu Pro Ser Ser His Ser Ser Pro
 145 150 155 160
 Gln Gln Gln Gly

<210> 8
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự liên kết

<400> 8
 Glu Phe Gly Ala Gly Leu Val Leu Gly Gly Gln Phe Met
 1 5 10

<210> 9
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự VH của kháng thể 107C6

<400> 9
 Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 50 55 60
 Lys Gly Gln Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ala Thr Ala Phe
 65 70 75 80
 Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asp Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Gly Tyr Ser Thr Thr Arg Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 10
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự VK của kháng thể 107C6

<400> 10
 Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

			20					25						30			
Arg	Thr	Arg	Lys	Asn	Tyr	Leu	Val	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln		
		35					40					45					
Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	Gly	Ser	Gly	Val		
	50					55					60						
Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr		
65					70					75					80		
Ile	Ser	Ser	Val	Gln	Ala	Glu	Asp	Leu	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Lys	Gln		
			85						90					95			
Ser	Tyr	Asn	Leu	Arg	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys		
			100					105					110				

<210> 11
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự VH của kháng thể 108F8

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

<210> 12
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự VK của kháng thể 108F8

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

```

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
      85          90          95
Ser Tyr Asn Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
      100          105          110

```

<210> 13
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự VH của kháng thể 109A6

```

<400> 13
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1          5          10          15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Lys Ile Lys Asp Thr
      20          25          30
Tyr Ile His Trp Val Ile Gln Arg Pro Ala Gln Gly Leu Glu Trp Ile
      35          40          45
Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Ile Tyr Gly Ser Lys Phe
      50          55          60
Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65          70          75          80
Ile His Leu Ser Ser Leu Thr Ser Gly Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
      85          90          95
Ala Gly Tyr Val Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
      100          105          110
Val Ser Ala
      115

```

<210> 14
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự VK của kháng thể 109A6

```

<400> 14
Asp Val Val Met Thr Gln Val Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1          5          10          15
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Arg Leu Val His Ser
      20          25          30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
      35          40          45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
      50          55          60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65          70          75          80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
      85          90          95
Thr Leu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
      100          105          110

```

<210> 15
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự VH của kháng thể 111A6

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

<210> 16
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự 1 VK của kháng thể 111A6

<400> 16
 Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Arg Ser Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30
 Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Ala Ser Pro Lys Leu Trp
 35 40 45
 Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Thr Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu
 65 70 75 80
 Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Gly Tyr Pro
 85 90 95
 Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105

<210> 17
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự 2 VK của kháng thể 111A6

<400> 17

```

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

```

<210> 18
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự VH của kháng thể 131B4

```

<400> 18
Glu Val Gln Val Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1      5      10      15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Lys Ile Lys Asp Thr
      20      25      30
Tyr Ile His Trp Leu Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
      35      40      45
Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Ile Tyr Gly Ser Lys Phe
      50      55      60
Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65      70      75      80
Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Gly Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
      85      90      95
Ala Gly Tyr Val Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
      100      105      110
Val Ser Ala
      115

```

<210> 19
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự VK của kháng thể 131B4

```

<400> 19
Asp Ala Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1      5      10      15
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Thr Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
      20      25      30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
      35      40      45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Val Pro

```

```

      50              55              60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Met Ile
65              70              75              80
Thr Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
      85              90              95
Ser Leu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Val Lys
      100              105              110

```

<210> 20
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự 1 VH của kháng thể 131E8

```

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

```

<210> 21
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự 2 VH của kháng thể 131E8

```

<400> 21
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ser Val Leu Val Arg Pro Gly Ala
1              5              10              15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
      20              25              30
Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
      35              40              45
Gly Asn Ile Asn Pro Asn Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
      50              55              60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65              70              75              80
Met Asp Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
      85              90              95
Ala Arg Leu Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser
      100              105              110

```

Ser

<210> 22

<211> 106

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VK của kháng thể 131E8

<400> 22

```

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

```

<210> 23

<211> 120

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VH của kháng thể 132H4

<400> 23

```

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

```

<210> 24

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VK của kháng thể 132H4

<400> 24

```

Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1          5          10          15
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20          25          30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35          40          45
Pro Lys Phe 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
Asn Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85          90          95
Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100          105          110

```

<210> 25

<211> 120

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VH của kháng thể 133A6

<400> 25

```

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

```

<210> 26

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VK của kháng thể 133A6

<400> 26

```

Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1          5          10          15
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20          25          30

```

Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	Glu	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
		35					40					45			
Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
	50					55					60				
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
65					70					75					80
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Phe	Gln	Gly
			85						90					95	
Ser	His	Val	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
			100					105					110		

<210> 27

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR1 VH của kháng thể 107C6

<400> 27

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly

1

5

<210> 28

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR2 VH của kháng thể 107C6

<400> 28

Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro

1

5

<210> 29

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR3 VH của kháng thể 107C6

<400> 29

Ala Arg Glu Gly Tyr Ser Thr Thr Arg Ser Met Asp Tyr

1

5

10

<210> 30

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR1 VK của kháng thể 107C6

<400> 30

Gln Ser Leu Leu Asp Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 31
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Trình tự CDR2 VK của kháng thể 107C6

 <400> 31
 Trp Ala Ser
 1

<210> 32
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Trình tự CDR3 VK của kháng thể 107C6

 <400> 32
 Lys Gln Ser Tyr Asn Leu Arg Thr
 1 5

<210> 33
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Trình tự CDR1 VH của kháng thể 108F8

 <400> 33
 Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly
 1 5

<210> 34
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Trình tự CDR2 VH của kháng thể 108F8

 <400> 34
 Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro
 1 5

<210> 35
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Trình tự CDR3 VH của kháng thể 108F8

 <400> 35

Ala Arg Glu Gly Tyr Ser Thr Thr Arg Ser Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 36

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR1 VK của kháng thể 108F8

<400> 36

Gln Ser Leu Leu Asp Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr
1 5 10

<210> 37

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR2 VK của kháng thể 108F8

<400> 37

Trp Ala Ser

1

<210> 38

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR3 VK của kháng thể 108F8

<400> 38

Lys Gln Ser Tyr Asn Leu Arg Thr
1 5

<210> 39

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR1 VH của kháng thể 109A6

<400> 39

Gly Phe Lys Ile Lys Asp Thr Tyr
1 5

<210> 40

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR2 VH của kháng thể 109A6

```

<400> 40
Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr
1          5

<210> 41
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự CDR3 VH của kháng thể 109A6

<400> 41
Ala Gly Tyr Val Trp Phe Ala Tyr
1          5

<210> 42
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự CDR1 VK của kháng thể 109A6

<400> 42
Gln Arg Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr
1          5          10

<210> 43
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự CDR2 VK của kháng thể 109A6

<400> 43
Thr Val Ser
1

<210> 44
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự CDR3 VK của kháng thể 109A6

<400> 44
Ser Gln Ser Thr Leu Val Pro Trp Thr
1          5

<210> 45
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự CDR1 VH của kháng thể 111A6

```

<400> 45

Gly Phe Lys Ile Lys Asp Thr Tyr
1 5

<210> 46

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR2 VH của kháng thể 111A6

<400> 46

Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr
1 5

<210> 47

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR3 VH của kháng thể 111A6

<400> 47

Ala Gly Tyr Val Trp Phe Ala Tyr
1 5

<210> 48

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 1 CDR1 VK của kháng thể 111A6

<400> 48

Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr
1 5

<210> 49

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 1 CDR2 VK của kháng thể 111A6

<400> 49

Ser Thr Ser
1

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 1 CDR3 VK của kháng thể 111A6

<400> 50

Gln Gln Tyr Ser Gly Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 51

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 CDR1 VK của kháng thể 111A6

<400> 51

Gln Arg Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr
1 5 10

<210> 52

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 CDR2 VK của kháng thể 111A6

<400> 52

Thr Val Ser
1

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 CDR2 VK của kháng thể 111A6

<400> 53

Ser Gln Ser Thr Leu Val Pro Trp Thr
1 5

<210> 54

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR1 VH của kháng thể 131B4

<400> 54

Gly Phe Lys Ile Lys Asp Thr Tyr
1 5

<210> 55

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự CDR2 VH của kháng thể 131B4

 <400> 55
 Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr
 1 5

 <210> 56
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Trình tự CDR3 VH của kháng thể 131B4

 <400> 56
 Ala Gly Tyr Val Trp Phe Ala Tyr
 1 5

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

 <220>
 <223> Trình tự CDR1 VK của kháng thể 131B4

 <400> 57
 Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr
 1 5 10

 <210> 58
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Trình tự CDR2 VK của kháng thể 131B4

 <400> 58
 Lys Val Ser
 1

 <210> 59
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Trình tự CDR3 VK của kháng thể 131B4

 <400> 59
 Ser Gln Ser Ser Leu Val Pro Trp Thr
 1 5

 <210> 60
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 1 CDR1 VH của kháng thể 131E8

<400> 60

Gly Phe Ser Leu Pro Asn Tyr Gly
1 5

<210> 61

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 1 CDR2 VH của kháng thể 131E8

<400> 61

Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 62

<211> 14

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 1 CDR3 VH của kháng thể 131E8

<400> 62

Ala Arg Asn Phe Tyr Ser Lys Tyr Asp Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 63

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 CDR1 VH của kháng thể 131E8

<400> 63

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
1 5

<210> 64

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 CDR2 VH của kháng thể 131E8

<400> 64

Ile Asn Pro Asn Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 65

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 CDR3 VH của kháng thể 131E8

<400> 65

Ala Arg Leu Gly Asp Tyr
1 5

<210> 66

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR1 VK của kháng thể 131E8

<400> 66

Ser Ser Val Ser Tyr
1 5

<210> 67

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR2 VK của kháng thể 131E8

<400> 67

Asp Thr Ser
1

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR3 VK của kháng thể 131E8

<400> 68

Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 69

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR1 VH của kháng thể 132H4

<400> 69

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala
1 5

<210> 70

<211> 8

<212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự CDR2 VH của kháng thể 132H4

<400> 70
 Ile Ser Ser Gly Gly Ala Asn Ile
 1 5

<210> 71
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự CDR3 VH của kháng thể 132H4

<400> 71
 Ala Arg Gly Asp Tyr Phe Asn His Phe Trp Phe Ala Tyr
 1 5 10

<210> 72
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự CDR1 VK của kháng thể 132H4

<400> 72
 Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr
 1 5 10

<210> 73
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự CDR2 VK của kháng thể 132H4

<400> 73
 Lys Val Ser
 1

<210> 74
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự CDR3 VK của kháng thể 132H4

<400> 74
 Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Thr
 1 5

<210> 75

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

<220>
 <223> Trình tự CDR1 VH của kháng thể 133A6

<400> 75
 Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala
 1 5

<210> 76
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự CDR2 VH của kháng thể 133A6

<400> 76
 Ile Ser Ser Gly Gly Gly Asn Ile
 1 5

<210> 77
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự CDR3 VH của kháng thể 133A6

<400> 77
 Ala Arg Gly Asp Tyr Ser Asn Tyr Phe Trp Phe Ala Tyr
 1 5 10

<210> 78
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự CDR1 VK của kháng thể 133A6

<400> 78
 Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr
 1 5 10

<210> 79
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự CDR2 VK của kháng thể 133A6

<400> 79
 Lys Val Ser
 1

<210> 80
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự CDR3 VK của kháng thể 133A6

<400> 80
 Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Thr
 1 5

<210> 81
 <211> 453
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự ADN VH của kháng thể 107C6

<400> 81
 atggggttggg tgtggacctt gccattcctg atggcagctg cccaaagtat ccaagcacag 60
 atccagttgg tgcagtctgg tcctgaactg aagaagcctg gagagacagt caagctctcc 120
 tgcaggggctt ctggatatac attcacaaac tatggaatga actgggtgaa gcaggctcca 180
 ggaaagggtt taaagtggat gggctggata aacacctact ctggagtgcc aacatatgct 240
 gatgacttca agggacagtt tgccttctct ttggaaacct ctgccgccac tgcctttttg 300
 cagatcaaca acctcaaaga tgaggacacg gctacatatt tttgtgcaag agagggatat 360
 agtactacca ggtctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctctcagcc 420
 aaaacgacac ccccatctgt ctatccactg gcc 453

<210> 82
 <211> 151
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự VH của kháng thể 107C6

<400> 82
 Met Gly Trp Val Trp Thr Leu Pro Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser
 1 5 10 15
 Ile Gln Ala Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys
 20 25 30
 Pro Gly Glu Thr Val Lys Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45
 Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Val Pro Thr Tyr Ala
 65 70 75 80
 Asp Asp Phe Lys Gly Gln Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ala
 85 90 95

Thr Ala Phe Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asp Glu Asp Thr Ala Thr
 100 105 110
 Tyr Phe Cys Ala Arg Glu Gly Tyr Ser Thr Thr Arg Ser Met Asp Tyr
 115 120 125
 Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro
 130 135 140
 Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala
 145 150

<210> 83
 <211> 501
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự ADN VK của kháng thể 107C6

<400> 83
 atggagtcac agtctcaggt tcttatattg ctgctgctat gggatatctgg tacctgtggg 60
 gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctggctgtgt cagcaggaga gaaggtcact 120
 atgagctgca aatccagtc gagtctgctc gacagtagaa cccgaaagaa ctacttggtt 180
 tgggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct aaactgctga tctactgggc atccactagg 240
 ggatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc 300
 atcagcagtg tgcaggctga agacctggca gtttattact gcaaacaatc ttataatctt 360
 cggacgttcg gtggaggcac caagctggaa atcaaacggg ctgatgctgc accaactgta 420
 tccatcttcc caccatccag tgagcagtta acatctggag gtgcctcagt cgtgtgcttc 480
 ttgaacaact tctaccccaa a 501

<210> 84
 <211> 167
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự VK của kháng thể 107C6

<400> 84
 Met Glu Ser Gln Ser Gln Val Leu Ile Leu Leu Leu Leu Trp Val Ser
 1 5 10 15
 Gly Thr Cys Gly Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala
 20 25 30
 Val Ser Ala Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
 35 40 45
 Leu Leu Asp Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Val Trp Tyr Gln Gln
 50 55 60
 Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg
 65 70 75 80
 Gly Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
 85 90 95
 Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr

[illegible]

```
<210> 85
<211> 456
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>
<223> Trình tự VH của kháng thể 108F8

<400> 85						
atggggttggg	tgtggacctt	gctattcctg	atggcagctg	cccaaagtat	ccaatcacag	60
atccagttgg	tgcagttctgg	tcctgattcg	aagaagcctg	gagagacagt	caagctctcc	120
tgcaggggctt	ctggatatac	attcacaaac	tatggaatga	actgggtgaa	gcaggctcca	180
ggaaagggtt	taaagtggat	gggctggata	aacacctact	ctggagtgcc	aacatatgct	240
gatgacttca	agggacagtt	tgctttctct	ttggaaacct	ctgccgccac	tgcttttttg	300
cagatcaaca	acctcaaaga	tgaggacacg	gctacatatt	tttgtgcaag	agagggatat	360
agtactacca	ggtctatgga	ctactggggt	caaggaacct	cagtcaccgt	ctcctcagcc	420
aaaacgacac	ccccatctgt	cttccccctg	gcacct			456

```
<210> 86
<211> 152
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>
<223> Trình tự VH của kháng thể 108F8

<400> 86															
Met	Gly	Trp	Val	Trp	Thr	Leu	Leu	Phe	Leu	Met	Ala	Ala	Ala	Gln	Ser
1				5					10					15	
Ile	Gln	Ser	Gln	Ile	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Pro	Asp	Ser	Lys	Lys
			20					25					30		
Pro	Gly	Glu	Thr	Val	Lys	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe
		35				40						45			
Thr	Asn	Tyr	Gly	Met	Asn	Trp	Val	Lys	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu
	50					55				60					
Lys	Trp	Met	Gly	Trp	Ile	Asn	Thr	Tyr	Ser	Gly	Val	Pro	Thr	Tyr	Ala
65					70					75					80
Asp	Asp	Phe	Lys	Gly	Gln	Phe	Ala	Phe	Ser	Leu	Glu	Thr	Ser	Ala	Ala
				85					90					95	
Thr	Ala	Phe	Leu	Gln	Ile	Asn	Asn	Leu	Lys	Asp	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr
			100					105					110		

Tyr Phe Cys Ala Arg Glu Gly Tyr Ser Thr Thr Arg Ser Met Asp Tyr
 115 120 125
 Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro
 130 135 140
 Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
 145 150

<210> 87
 <211> 510
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự ADN VK của kháng thể 108F8

<400> 87
 atgggcttca agatgaagtc agtcgacctg gttctttatat tgctgctgct atgggtatct 60
 ggtacctgtg gggacattgt gatgtcacag tctccatcct ccctggctgt gtcagcagga 120
 gagaagggtca ctatgagctg caaatccagt cagagtctgc tcgacagtag aacccgaaag 180
 aactacttgg tttggtacca gcagaaacca gggcagtctc ctaaactgct gatctactgg 240
 gcatccacta ggggatctgg ggtccctgat cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat 300
 ttcactctca ccatcagcag tgtgcaggct gaagacctgg cagtttatta ctgcaaacia 360
 tcttataatc ttcggacgtt cgggtggaggc accaagctgg aaatcaaacg ggctgatgct 420
 gcaccaactg tatccatctt cccaccatcc agtgagcagt taacatctgg aggtgcctca 480
 gtcgtgtgct tcttgaacia cttctacccc 510

<210> 88
 <211> 170
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự VK của kháng thể 108F8

<400> 88
 Met Gly Phe Lys Met Lys Ser Val Asp Leu Val Leu Ile Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 Leu Trp Val Ser Gly Thr Cys Gly Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro
 20 25 30
 Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys
 35 40 45
 Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Val
 50 55 60
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp
 65 70 75 80
 Ala Ser Thr Arg Gly Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly
 85 90 95
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp
 100 105 110
 Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln Ser Tyr Asn Leu Arg Thr Phe Gly

		115					120					125				
Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Ala	Asp	Ala	Ala	Pro	Thr	Val	
	130					135					140					
Ser	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu	Gln	Leu	Thr	Ser	Gly	Gly	Ala	Ser	
145					150					155					160	
Val	Val	Cys	Phe	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro							
				165					170							

```
<210> 89
<211> 441
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>
<223> Trình tự ADN VH của kháng thể 109A6

<400> 89	
atgaaatgca gctggattat gttcttcctg atggcagtggt ttacaggggt caattcagag	60
gttcagctgc agcagtctgg ggcagaactt gtgaagccag gggcctcagt caagttgtcc	120
tgcacagctt ctggcttcaa aattaaagac acctatatac actgggtgat ccagaggcct	180
gcacaggggc tggaatggat tggaaggatt gatcctgcga atggtaatac tatttatggc	240
tcaaagttcc agggcaaggc cactctaaca gcggacacat catccaacac agcctacatt	300
cacctcagca gcctgacatc tggggactct gccgtctatt actgtgcggg ctacgtttgg	360
tttgettact gggggccaagg gactctggtc actgtctctg cagctacaac aacagcccca	420
tccgtettcc ccctggcacc a	441

```
<210> 90
<211> 147
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

<220>
<223> Trình tự VH của kháng thể 109A6

<400> 90															
Met	Lys	Cys	Ser	Trp	Ile	Met	Phe	Phe	Leu	Met	Ala	Val	Val	Thr	Gly
1				5					10					15	
Val	Asn	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Lys
			20					25					30		
Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Leu	Ser	Cys	Thr	Ala	Ser	Gly	Phe	Lys	Ile
		35					40					45			
Lys	Asp	Thr	Tyr	Ile	His	Trp	Val	Ile	Gln	Arg	Pro	Ala	Gln	Gly	Leu
	50					55					60				
Glu	Trp	Ile	Gly	Arg	Ile	Asp	Pro	Ala	Asn	Gly	Asn	Thr	Ile	Tyr	Gly
65					70					75					80
Ser	Lys	Phe	Gln	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Ser	Asn
				85					90					95	
Thr	Ala	Tyr	Ile	His	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Gly	Asp	Ser	Ala	Val
			100					105					110		
Tyr	Tyr	Cys	Ala	Gly	Tyr	Val	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
		115					120					125			

Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Thr Thr Thr Ala Pro Ser Val Phe Pro
 130 135 140
 Leu Ala Pro
 145

<210> 91
 <211> 498
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự ADN VK của kháng thể 109A6

<400> 91
 atgaagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttcctgcctc cagcagtgat 60
 gttgtgatga cccaagttcc actctccctg cctgtcagtc ttggagatca agcctccatc 120
 tcttgcagat ctagtcagag acttgtgcac agtaatggaa acacctattt acattgggtc 180
 ttacagaagc caggccagtc tccaaagctc ctgatctaca cagtttccaa ccgattttct 240
 ggggtcccag acaggttcag tggcagtgga tcagggacag atttcacact caagatcagc 300
 agagtggagg ctgaggatct gggagtttat ttctgctctc aaagtacact tgttccgtgg 360
 acgttcggtg gaggcaccaa gctggaaatc aaacgggctg atgctgcacc aactgtatcc 420
 atcttccac catccagtga gcagttaaca tctggaggtg cctcagtcgt gtgcttcttg 480
 aacaacttct acccaaag 498

<210> 92
 <211> 166
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự VK của kháng thể 109A6

<400> 92
 Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ala
 1 5 10 15
 Ser Ser Ser Asp Val Val Met Thr Gln Val Pro Leu Ser Leu Pro Val
 20 25 30
 Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Arg Leu
 35 40 45
 Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Phe Leu Gln Lys Pro
 50 55 60
 Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser
 65 70 75 80
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 85 90 95
 Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys
 100 105 110
 Ser Gln Ser Thr Leu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 115 120 125
 Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro

130		135		140
Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu				
145		150		155
Asn Asn Phe Tyr Pro Lys				160
	165			

<210> 93
 <211> 441
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự ADN VH của kháng thể 111A6

<400> 93
 atgaaatgca gctgggttat gttcttcctg atggcagtgg ttacaggggt caattcagag 60
 gttcagctgc agcagtctgg ggcagaactt gtgaagccag gggcctcagt caagttgtcc 120
 tgcacagctt ctggcttcaa aattaaagac acctatatac actgggtgat ccagaggcct 180
 gcacagggcc tggaatggat tggaaggatt gatcctgcga atggtaatac tatttatggc 240
 tcaaagttcc agggcaaggc cactctaaca gcggacacat catccaacac agcctacatt 300
 cacctcagca gcctgacatc tggggactct gccgtctatt actgtgcggg ctacgttttg 360
 tttgcttact ggggccaaagg gactctggtc actgtctctg cagctacaac aacagcccca 420
 tccgtcttcc ccctggcacc a 441

<210> 94
 <211> 147
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự VH của kháng thể 111A6

<400> 94
 Met Lys Cys Ser Trp Val Met Phe Phe Leu Met Ala Val Val Thr Gly
 1 5 10 15
 Val Asn Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys
 20 25 30
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Lys Ile
 35 40 45
 Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Ile Gln Arg Pro Ala Gln Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Ile Tyr Gly
 65 70 75 80
 Ser Lys Phe Gln Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn
 85 90 95
 Thr Ala Tyr Ile His Leu Ser Ser Leu Thr Ser Gly Asp Ser Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Gly Tyr Val Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 115 120 125
 Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Thr Thr Thr Ala Pro Ser Val Phe Pro
 130 135 140

Leu Ala Pro
145

<210> 95
<211> 495
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 1 ADN VK của kháng thể 111A6

<400> 95
atggattttc aggtgcagat tttcagcttc ttgctaataca gtgcctcagt tgcaatgtcc 60
agaggagaaa atgtgctcac ccagttctcca gcaatcatgt ctgcttctcc aggggagaag 120
gtcaccatga cctgcagggc caggtcaagt gtaagttcca gttacttgca ctggtaccag 180
cagaagtcag gtgcctcccc caaactctgg atttatagca catccaactt ggcttctgga 240
gtccctactc gcttcagtggt cagtgggtct gggacctctt actctctcac aatcagcagt 300
gtggaggctg aagatgctgc cacttattac tgccagcagt acagtgggta ccactcacg 360
ttcggtgctg ggaccaagct ggagctgaaa cgggctgatg ctgcaccaac tgtatccatc 420
ttcccaccat ccagtgagca gttaacatct ggagggtgcct cagtcgtgtg cttcttgaac 480
aacttctacc ccaag 495

<210> 96
<211> 165
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự 1 VK của kháng thể 111A6

<400> 96
Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
1 5 10 15
Val Ala Met Ser Arg Gly Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile
20 25 30
Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Arg
35 40 45
Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly
50 55 60
Ala Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly
65 70 75 80
Val Pro Thr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu
85 90 95
Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
100 105 110
Gln Tyr Ser Gly Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu
115 120 125
Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser
130 135 140
Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn

145
Asn Phe Tyr Pro Lys
165

155

160

<210> 97
<211> 499
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 ADN VK của kháng thể 111A6

<400> 97

```

atgaagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttcctgcctc cagcagtgat      60
gttgtgatga cccaagttcc actctccctg cctgtcagtc ttggagatca agcctccatc      120
tcttgcagat ctagtcagag acttgtgcac agtaatggaa acacctatatt acattgggttc      180
ttacagaagc caggccagtc tccaaagctc ctgatctaca cagtttccaa ccgattttct      240
ggggtcccag acaggttcag tggcagtgga tcagggacag atttcacact caagatcagc      300
agagtggagg ctgaggatct gggagtttat ttctgctctc aaagtacact tgttccgtgg      360
acgttcggtg gaggcaccaa gctggaaatc aaacgggctg atgctgcacc aactgtatcc      420
atcttcccac catccagtga gcagttaaca tctggagggtg cctcagtcgt gtgcttcttg      480
aacaacttct accccaaag                                     499

```

<210> 98

<211> 166

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 VK của kháng thể 111A6

<400> 98

```

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ala
1          5          10          15
Ser Ser Ser Asp Val Val Met Thr Gln Val Pro Leu Ser Leu Pro Val
20          25          30
Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Arg Leu
35          40          45
Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Phe Leu Gln Lys Pro
50          55          60
Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser
65          70          75          80
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
85          90          95
Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys
100          105          110
Ser Gln Ser Thr Leu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
115          120          125
Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
130          135          140

```

Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu
 145 150 155 160
 Asn Asn Phe Tyr Pro Lys
 165

<210> 99
 <211> 438
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự 1 ADN VH của kháng thể 131B4

<400> 99
 atgaaatgca gctggattat gttcttcctg atggcagtgg ttacaggggt caattcagag 60
 gttcaggtgc agcagtctgg ggcagagcctt gtgaagccag gggcctcagt caagttgtcc 120
 tgcacagcctt ctggcttcaa aattaaggac acctatatac actggttaaa acagaggcct 180
 gaacagggcc tggaatggat tggaaggatt gatcctgcga atggtaatac tatatatggc 240
 tcaaagttcc agggcaaggc cactataaca gcagacacat catccaacac agcctacatt 300
 caactcagca gcctgacatc tggggacact gccgtctatt tttgtgcggg ctacgttttg 360
 tttgcttact ggggccaaagg gactctggtc actgtctctg cagccaaaac gacaccccca 420
 tccgtcttcc ccctggcc 438

<210> 100
 <211> 146
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự 1 VH của kháng thể 131B4

<400> 100
 Met Lys Cys Ser Trp Ile Met Phe Phe Leu Met Ala Val Val Thr Gly
 1 5 10 15
 Val Asn Ser Glu Val Gln Val Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys
 20 25 30
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Lys Ile
 35 40 45
 Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Leu Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Ile Tyr Gly
 65 70 75 80
 Ser Lys Phe Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn
 85 90 95
 Thr Ala Tyr Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Gly Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Phe Cys Ala Gly Tyr Val Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 115 120 125
 Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Phe Pro
 130 135 140
 Leu Ala

145

<210> 101

<211> 453

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 ADN VH của kháng thể 131B4

<400> 101

atggctgtct tggggctgct cttctgcctg gtgacattcc caagctgtgt cctgtcccag 60

gtgcagctga agcagtcagg acctagccta gtgcagccct cacagagcct gtccataacc 120

tgcacagtct ctggtttctc attaactagc tatggtgtac actgggttcg ccagtctcca 180

ggaaaggggc tggagtggct gggagtgata tggagaggtg gaagcacaga ctacaatgca 240

gctttcatgt ccagactgag catcaccaag gacaactcca agagccaagt tttctttaaa 300

atgaacagtc tgcaagctga tgacactgcc atatactact gtgccaaaaa ttgggagtat 360

gatggttact gggggtttgc ttactggggc caagggactc tggtcactgt ctctgcagag 420

agtcagtcct tcccaaattgt cttccccctc gaa 453

<210> 102

<211> 151

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 VH của kháng thể 131B4

<400> 102

Met Ala Val Leu Gly Leu Leu Phe Cys Leu Val Thr Phe Pro Ser Cys
1 5 10 15Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Ser Leu Val Gln
20 25 30Pro Ser Gln Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu
35 40 45Thr Ser Tyr Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala
65 70 75 80Ala Phe Met Ser Arg Leu Ser Ile Thr Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln
85 90 95Val Phe Phe Lys Met Asn Ser Leu Gln Ala Asp Asp Thr Ala Ile Tyr
100 105 110Tyr Cys Ala Lys Asn Trp Glu Tyr Asp Gly Tyr Trp Gly Phe Ala Tyr
115 120 125Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Glu Ser Gln Ser Phe
130 135 140Pro Asn Val Phe Pro Leu Glu
145 150

<210> 103

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

<220>

<223> Trình tự 2 vùng biến đổi VH của kháng thể 131B4

<400> 103

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

<210> 104

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 CDR1 VH của kháng thể 131B4

<400> 104

Gly	Phe	Ser	Leu	Thr	Ser	Tyr	Gly
1				5			

<210> 105

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 CDR2 VH của kháng thể 131B4

<400> 105

Ile	Trp	Arg	Gly	Gly	Ser	Thr
1				5		

<210> 106

<211> 14

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 CDR3 VH của kháng thể 131B4

<400> 106

Ala	Lys	Asn	Trp	Glu	Tyr	Asp	Gly	Tyr	Trp	Gly	Phe	Ala	Tyr
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

1

5

10

<210> 107

<211> 417

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 3 ADN VH của kháng thể 131B4

<400> 107

atggcagtgg ttacaggggt caattcagag gttcagctgc agcagtctgg ggctgagctt 60

gtgaggccag gggcctcagt caagttgtcc tgcacagctt ctggctttaa cattaagac 120

gactatatgc actgggtgaa gcagaggcct gaacagggcc tggagtggat tggaaggatt 180

gatcctgcga atggtaatac taaatatgcc ccgaagttcc aggacaaggc cactataact 240

gcagacacat cctccaacac agcctacctg cagctcagca gcctgacatc tgaggacact 300

gccgtctatt actgtgctag aagctatgat ggttctctgg gggactactg gggccaaggc 360

accactctca cagtctcctc agagagtcag tccttcccaa atgtcttccc cctcgag 417

<210> 108

<211> 139

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 3 VH của kháng thể 131B4

<400> 108

Met Ala Val Val Thr Gly Val Asn Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser
1 5 10 15Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr
20 25 30Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp Tyr Met His Trp Val Lys Gln
35 40 45Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn
50 55 60Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe Gln Asp Lys Ala Thr Ile Thr
65 70 75 80Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr
85 90 95Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Tyr Asp Gly Ser
100 105 110Leu Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Glu
115 120 125Ser Gln Ser Phe Pro Asn Val Phe Pro Leu Glu
130 135

<210> 109

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 3 vùng biến đổi VH của kháng thể 131B4

<400> 109

```

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

```

<210> 110

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 3 CDR1 VH của kháng thể 131B4

<400> 110

```

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Asp Tyr
1          5

```

<210> 111

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 3 CDR2 VH của kháng thể 131B4

<400> 111

```

Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr
1          5

```

<210> 112

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 3 CDR3 VH của kháng thể 131B4

<400> 112

```

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

```

<210> 113

<211> 498

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự ADN VK của kháng thể 131B4

<400> 113

```

atgaagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttcctgcttc cagcagtgat      60
gctgtgttga cccaaactcc actctccctg cctgtcagtc ttggagatca agcctccatc      120
tcttgcacat ctagtcagag ccttgtacac agtaatggaa acacctatctt acattggtac      180
ctgcagaagc caggccagtc tccaaagctc ctgatctaca aagtttccga ccgattttct      240
ggggtcccag acaggttcag tggcagtgga tcaggaacag atttcacact catgatcacc      300
agagtggagg ctgaggatct gggagtttat ttctgctctc aaagttcact tgttccgtgg      360
acgttcgggtg gaggcaccaa gctggaagtc aaacgggctg atgctgcacc aactgtatcc      420
atcttcccac catccagtga gcagttaaca tctggagggtg cctcagtcgt gtgcttcttg      480
aacaacttct accccaaa                                     498

```

<210> 114

<211> 166

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VK của kháng thể 131B4

<400> 114

```

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ala
1          5          10          15
Ser Ser Ser Asp Ala Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val
          20          25          30
Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Thr Ser Ser Gln Ser Leu
          35          40          45
Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
          50          55          60
Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asp Arg Phe Ser
65          70          75          80
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
          85          90          95
Leu Met Ile Thr Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys
          100          105          110
Ser Gln Ser Ser Leu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
          115          120          125
Glu Val Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
          130          135          140
Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu
145          150          155          160
Asn Asn Phe Tyr Pro Lys
          165

```

<210> 115

<211> 452
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự 1 ADN VH của kháng thể 131E8

<400> 115
 atggctgttt tggggctgct cttctgcctg gtgacattcc caagctgtgt cctatcccag 60
 gtgcagctga agcagtcaag acctggccca gtgcagccct cacagagcct gtccatcacc 120
 tgcacagtct ctggtttctc attacctaac tatggtgtac actgggttcg ccagcctcca 180
 ggaaagggtc tggagtggct gggagtgata tggagtgggtg gaagcacaga ctataatgca 240
 gctttcaaatt ccagactgag catcagcaag gacaactcca agagccaagt tttctttaaa 300
 atgaacagtc tgcaagctga tgacacagcc atatactact gtgccagaaa tttttatagt 360
 aagtacgact atgctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcctcagcc 420
 aaaacaacac ccccatccgt cttccccctg gc 452

<210> 116
 <211> 150
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự 1 VH của kháng thể 131E8

<400> 116
 Met Ala Val Leu Gly Leu Leu Phe Cys Leu Val Thr Phe Pro Ser Cys
 1 5 10 15
 Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Arg Pro Gly Pro Val Gln
 20 25 30
 Pro Ser Gln Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu
 35 40 45
 Pro Asn Tyr Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala
 65 70 75 80
 Ala Phe Lys Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln
 85 90 95
 Val Phe Phe Lys Met Asn Ser Leu Gln Ala Asp Asp Thr Ala Ile Tyr
 100 105 110
 Tyr Cys Ala Arg Asn Phe Tyr Ser Lys Tyr Asp Tyr Ala Met Asp Tyr
 115 120 125
 Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro
 130 135 140
 Pro Ser Val Phe Pro Leu
 145 150

<210> 117
 <211> 411
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 ADN VH của kháng thể 131E8

<400> 117

```

atgtttcttct tggtagcaac agctacaggt gtccactccc aggtccaact gcagcagcct      60
gggtctgtgc tggtagggcc tggagcttca gtgaagctgt cctgcaaggc ttctggctac      120
acattcacca gctactggat gcactgggtg aagcagaggc cgggacaagg ccttgagtgg      180
attggaaata ttaatcctaa tagtggtagt actaactaca atgagaagtt caagggcaag      240
gccacactga ctgtagacac atcctccagc acagcctaca tggatctcag cagcctgaca      300
tctgaggact ctgcggtcta ttactgtgca agactgggtg actactgggg ccaaggcacc      360
actctcacag tctcctcaaa gagtcagtcc tccccatccg tcttccccct g              411

```

<210> 118

<211> 137

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 VH của kháng thể 131E8

<400> 118

```

Met Phe Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly Val His Ser Gln Val Gln
1          5          10          15
Leu Gln Gln Pro Gly Ser Val Leu Val Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys
20          25          30
Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met His
35          40          45
Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asn Ile
50          55          60
Asn Pro Asn Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys
65          70          75          80
Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Asp Leu
85          90          95
Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu
100          105          110
Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Lys Ser
115          120          125
Gln Ser Ser Pro Ser Val Phe Pro Leu
130          135

```

<210> 119

<211> 435

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 3 ADN VH của kháng thể 131E8

<400> 119

```

gctgtcttgg ggctgctctt ctgcctgggt gcatttccaa gctgtgtcct gtcccagggtg      60

```

```

cagctgaagg agtcaggacc tggcctggtg gcgccctcac agagcctgtc catcacttgc      120
actgtctctg ggttttcatt aaccagctat ggtgtacact gggttcgcca gcctccagga      180
aagggctctgg agtggctggg agtaatatgg gctggtggaa gcacaaatta taattcggct      240
ctcatgtcca gactgagcat cagcaaagac aactccaaga gccaagtttt cttaaaaatg      300
aacagtctgc aaactgatga cacagccatg tactactgtg ccagagatag taactacttt      360
gactactggg gccaaaggcac cactctcaca gtctcctcag agagtcagtc cttcccaaatt      420
gttttcccc tcgta                                                         435

```

<210> 120

<211> 145

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 3 VH của kháng thể 131E8

<400> 120

```

Ala Val Leu Gly Leu Leu Phe Cys Leu Val Ala Phe Pro Ser Cys Val
1          5          10          15
Leu Ser Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro
20          25          30
Ser Gln Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr
35          40          45
Ser Tyr Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
50          55          60
Trp Leu Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Ser Ala
65          70          75          80
Leu Met Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val
85          90          95
Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr
100         105         110
Cys Ala Arg Asp Ser Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
115         120         125
Leu Thr Val Ser Ser Glu Ser Gln Ser Phe Pro Asn Val Phe Pro Leu
130         135         140
Val
145

```

<210> 121

<211> 115

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 3 vùng biến đổi VH của kháng thể 131E8

<400> 121

```

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1          5          10          15
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
20          25          30
Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

```

```

      35              40              45
Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met
      50              55              60
Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65              70              75
Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
      85              90
Arg Asp Ser Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
      100              105              110
Val Ser Ser
      115

```

<210> 122
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự 3 CDR1 VH của kháng thể 131E8

<400> 122
 Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Gly
 1 5

<210> 123
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự 3 CDR2 VH của kháng thể 131E8

<400> 123
 Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr
 1 5

<210> 124
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự 3 CDR3 VH của kháng thể 131E8

<400> 124
 Ala Arg Asp Ser Asn Tyr Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 125
 <211> 489
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự ADN VK của kháng thể 131E8

<400> 125
 atggattttc aggtgcagat tttcagcttc ctgctaataca gtgcctcagt cataatgtcc

60

```

agaggagaaa atgttctcac ccagtctcca gcaatcatgt ctgcatctcc aggggaaaag      120
gtcaccatga cctgcagtg cagctcaagt gtaagttaca tgcactggta ccagcagaag      180
tcaagcacct cccccaaact ctggatttat gacacatcca aactggcttc tggagtccca      240
ggtcgcttca gtggcagtg gtctggaaac tcttactctc tcacgatcag cagcatggag      300
gctgaagatg ttgccactta ttactgtttt caggggagtg ggtaccact caggttcggc      360
tcggggacaa agttggaaat aaaacgggct gatgctgcac caactgtatc catcttccca      420
ccatccagtg agcagttaac atctggaggt gcctcagtcg tgtgcttctt gaacaacttc      480
taccaccaaa                                489

```

<210> 126

<211> 163

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VK của kháng thể 131E8

<400> 126

```

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
1          5          10          15
Val Ile Met Ser Arg Gly Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile
          20          25          30
Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser
          35          40          45
Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser
          50          55          60
Pro Lys Leu Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro
65          70          75          80
Gly Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile
          85          90          95
Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
          100          105          110
Ser Gly Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
          115          120          125
Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu
          130          135          140
Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe
145          150          155          160
Tyr Pro Lys

```

<210> 127

<211> 453

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự ADN VH của kháng thể 131H1

<400> 127

```

atggctgtct tggggctgct cttctgcctg gtgacattcc caagctgtgt cctatcccag      60

```

```

gtgcagctga agcagtcagg acctggccta gtgcagccct cacagagcct gtccatcacc 120
tgcacagtct ctggtttctc attaactagc tatggtgtac actgggttcg ccagtctcca 180
ggaaagggtc tggagtggct gggagtgata tggagtgggtg gaagcacaga ctataatgca 240
gctttcatat ccagactgag catcagcaag gacaattcca agagccaagt tttctttaaa 300
atgaacagtc tgcaagctga tgacacagcc atatattact gtgccagatc ttatgattac 360
gacgggaggg gttactttga ctactggggc caaggcacca ctctcacagt ctcctcagag 420
agtcagtcct tcccaaagt cttccccctc gta 453

```

<210> 128

<211> 151

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VH của kháng thể 131H1

<400> 128

```

Met Ala Val Leu Gly Leu Leu Phe Cys Leu Val Thr Phe Pro Ser Cys
1          5          10          15
Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln
20          25          30
Pro Ser Gln Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu
35          40          45
Thr Ser Tyr Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu
50          55          60
Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala
65          70          75          80
Ala Phe Ile Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln
85          90          95
Val Phe Phe Lys Met Asn Ser Leu Gln Ala Asp Asp Thr Ala Ile Tyr
100         105         110
Tyr Cys Ala Arg Ser Tyr Asp Tyr Asp Gly Arg Gly Tyr Phe Asp Tyr
115         120         125
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Glu Ser Gln Ser Phe
130         135         140
Pro Asn Val Phe Pro Leu Val
145         150

```

<210> 129

<211> 120

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự vùng biến đổi VH của kháng thể 131H1

<400> 129

```

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln
1          5          10          15
Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
20          25          30

```

Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45
 Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile
 50 55 60
 Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe
 65 70 75 80
 Lys Met Asn Ser Leu Gln Ala Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Ser Tyr Asp Tyr Asp Gly Arg Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 130

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR1 VH của kháng thể 131H1

<400> 130

Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Gly
1 5

<210> 131

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR2 VH của kháng thể 131H1

<400> 131

Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 132

<211> 14

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự CDR3 VH của kháng thể 131H1

<400> 132

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

<210> 133

<211> 486

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 1 ADN VK của kháng thể 131H1

<400> 133

atgagtgtgc tcactcaggt cctgggggttg ctgctgctgt ggcttacagg tgccagatgt

60

gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 120
 atcacatgtc gagcaagtga gaatgtttac agatatttag catggtatca gcagagacag 180
 ggaaaatctc ctcagctcct ggtctatagt gcaaaaacct tagcagaagg tgtgccatca 240
 aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag ttttctctga agatcaacac cctgcagcct 300
 gaagattttg ggacttatta ctgtcaacat cattataata ctcctctcac gttcggtgct 360
 gggaccaagc tggagctgaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 420
 tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 480
 cccaaa 486

<210> 134

<211> 162

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 1 VK của kháng thể 131H1

<400> 134

Met	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Val	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Leu	Thr
1				5					10					15	
Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Ser	Leu	Ser
			20					25					30		
Ala	Ser	Val	Gly	Glu	Thr	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Glu	Asn
		35					40					45			
Val	Tyr	Arg	Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg	Gln	Gly	Lys	Ser	Pro
	50					55					60				
Gln	Leu	Leu	Val	Tyr	Ser	Ala	Lys	Thr	Leu	Ala	Glu	Gly	Val	Pro	Ser
65				70						75				80	
Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys	Ile	Asn
			85					90						95	
Thr	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	His	His	Tyr
		100					105						110		
Asn	Thr	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys	Arg
		115				120						125			
Ala	Asp	Ala	Ala	Pro	Thr	Val	Ser	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu	Gln
	130					135					140				
Leu	Thr	Ser	Gly	Gly	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Phe	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr
145					150					155					160
Pro	Lys														

<210> 135

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 1 vùng biến đổi VK của kháng thể 131H1

<400> 135

```

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

```

<210> 136

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 1 CDR1 VK của kháng thể 131H1

<400> 136

```

Glu Asn Val Tyr Arg Tyr
1          5

```

<210> 137

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 1 CDR2 VK của kháng thể 131H1

<400> 137

```

Ser Ala Lys
1

```

<210> 138

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 1 CDR3 VK của kháng thể 131H1

<400> 138

```

Gln His His Tyr Asn Thr Pro Leu Thr
1          5

```

<210> 139

<211> 486

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 ADN VK của kháng thể 131H1

<400> 139
 atggttctta tatggctcct gctatgggta tctggtacct gtggggacat tgtgatgtca 60
 cagtctccat cctccctggc tgtgtcagca ggagagaagg tcactatgag ctgcaaatcc 120
 agtcagagtc tgttcaacag taaaacccga aagaactact tggcttggtt tcagcaaaaa 180
 ccagggcagt ctctgaact gctgatctac tgggcatcca ctaggaaatc tggggtcctt 240
 gatcgcttca caggcagtgg atctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagtgtgcag 300
 gctgaagacc tggcagttta ttactgcaag caatcttata atctgtggac gttcggcgga 360
 ggcaccaagc tggaaatcaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 420
 tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 480
 cccaaa 486

<210> 140
 <211> 162
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự 2 VK của kháng thể 131H1

<400> 140
 Met Val Leu Ile Trp Leu Leu Leu Trp Val Ser Gly Thr Cys Gly Asp
 1 5 10 15
 Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly Glu
 20 25 30
 Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser Lys
 35 40 45
 Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 50 55 60
 Pro Glu Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val Pro
 65 70 75 80
 Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 85 90 95
 Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln Ser
 100 105 110
 Tyr Asn Leu Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 115 120 125
 Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
 130 135 140
 Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
 145 150 155 160
 Pro Lys

<210> 141
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự 2 vùng biến đổi VK của kháng thể 131H1

<400> 141

```

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

```

<210> 142

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 CDR1 VK của kháng thể 131H1

<400> 142

```

Gln Ser Leu Phe Asn Ser Lys Thr Arg Lys Asn Tyr
1           5           10

```

<210> 143

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 CDR2 của kháng thể 131H1

<400> 143

```

Trp Ala Ser
1

```

<210> 144

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự 2 CDR3 VK của kháng thể 131H1

<400> 144

```

Lys Gln Ser Tyr Asn Leu Trp Thr
1           5

```

<210> 145

<211> 440

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự ADN VH của kháng thể 132H4

<400> 145

```

tgagctgggt tttccttgtc cttattttaa aaggtgtcca gtgtgaagtg aagctggtgg      60
agtctggggg aggcttagtg aagcctggag ggtccctgaa actctcctgt gcagcctctg      120
gattcacttt cagtaactat gccatgtctt gggttcgcca gaatccggcg aagaggctgg      180
agtgggtcgc aaccattagt agtgggtggtg ctaatattta ctatccagac agtgtgaagg      240
gccgattcat catctccaga gacaatgcca ggaacaccct gtacctgcaa atgagcagtc      300
tgaggtctga ggacacggcc atgtattact gtgcaagagg cgactatttt aaccacttct      360
ggtttgctta ctggggccaa gggactcttg tcactgtctc tgcagccaaa acaacagccc      420
catcgggtctt ccccctggca                                     440

```

<210> 146

<211> 146

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VH của kháng thể 132H4

<400> 146

```

Ser Trp Val Phe Leu Val Leu Ile Leu Lys Gly Val Gln Cys Glu Val
1           5           10           15
Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu
20          25          30
Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met
35          40          45
Ser Trp Val Arg Gln Asn Pro Ala Lys Arg Leu Glu Trp Val Ala Thr
50          55          60
Ile Ser Ser Gly Gly Ala Asn Ile Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly
65          70          75          80
Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
85          90          95
Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg
100         105         110
Gly Asp Tyr Phe Asn His Phe Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
115        120        125
Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Phe Pro
130        135        140
Leu Ala
145

```

<210> 147

<211> 481

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự ADN VK của kháng thể 132H4

<400> 147
 atgaagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttcctgcttc cagcagtgat 60
 gttttgatga cccaaactcc actctccctg cctgtcagtc ttggagatca agcctccatc 120
 tcttgtagat cgagtcagag cattgtacat agtaatggaa acacctatctt agaatggtac 180
 ctgcagaaac caggccagtc tccaaagttc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttca 240
 ggggtcccag acaggttcag tggcagtgga tcagggacag atttcacact caagatcaac 300
 agagtggagg ctgaggatct ggggaatttat tactgctttc agggttcaca tgttccgtgg 360
 acgttcggtg gaggcaccaa gctggaaatc aaacgggctg atgctgcacc aactgtatcc 420
 atcttcccac catccagtga gcagttaaca tctggaggtg cctcagtcgt gtgcttcttg 480
 a 481

<210> 148
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Trình tự VK của kháng thể 132H4

<400> 148
 Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ala
 1 5 10 15
 Ser Ser Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val
 20 25 30
 Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile
 35 40 45
 Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 50 55 60
 Gly Gln Ser Pro Lys Phe Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 65 70 75 80
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 85 90 95
 Leu Lys Ile Asn Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr Cys
 100 105 110
 Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 115 120 125
 Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
 130 135 140
 Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu
 145 150 155 160

<210> 149
 <211> 456
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự ADN VH của kháng thể 133A6

<400> 149

```

atgaactttg ggttgagatt ggttttcctt gtccttggtt taaaaggtgt ccagtgtgag      60
gtgaagctag tggagtctgg aggaggctta gtgaagcctg gaggggtccct gaaactctcc      120
tgtgcagcct ctggattcac tttcagtaac tatgccatgt cttgggttcg ccagactccg      180
gcgaagaggc tggagtgggt cacaaccatt agtagtggtg gtggtaacat ctactataca      240
gacagtgtga agggccgatt caccgtctcc agagacaatg ccaggaacac cctgtacctg      300
caaatgagca gtctgaggtc tgaggacacg gccatgtatt actgtgcaag aggcgactat      360
agtaactact tctggtttgc ttactggggc caagggactc tgggtctctgt ctctgaagcc      420
aaaacaacag ccccatcggt cttccccctg gcacct                                456

```

<210> 150

<211> 152

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VH của kháng thể 133A6

<400> 150

```

Met Asn Phe Gly Leu Arg Leu Val Phe Leu Val Leu Val Leu Lys Gly
1          5          10          15
Val Gln Cys Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20          25          30
Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35          40          45
Ser Asn Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Ala Lys Arg Leu
50          55          60
Glu Trp Val Thr Thr Ile Ser Ser Gly Gly Gly Asn Ile Tyr Tyr Thr
65          70          75          80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn
85          90          95
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met
100         105         110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Asp Tyr Ser Asn Tyr Phe Trp Phe Ala Tyr
115         120         125
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Ser Val Ser Glu Ala Lys Thr Thr Ala
130         135         140
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
145         150

```

<210> 151

<211> 498

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự ADN VK của kháng thể 133A6

<400> 151

```

atgaagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttcctgcttc cagcagtgat      60
gttttgatga cccaaactcc actctccctg cctgtcagtc ttggagatca agcctccatc      120
tcttgcagat ctagtcagag cattgtacat agtaatggaa acacctatctt agaatggtac      180
ctgcagaaac caggccagtc tccaaagctc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct      240
ggggtcccag acaggttcag tggcagtgga tcagggacag atttcacact caagatcagc      300
agagtggagg ctgaggatct gggagtttat tactgctttc aaggttcaca tgttccgtgg      360
acgttcggtg gaggcaccaa gctggaaatc aaacgggctg atgctgcacc aactgtatcc      420
atcttcccac catccagga gacagtaaca tctggagggtg cctcagtcgt gtgcttcttg      480
aacaacttct acccaaaa                                         498

```

<210> 152

<211> 166

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự VK của kháng thể 133A6

<400> 152

```

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ala
1      5      10      15
Ser Ser Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val
      20      25      30
Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile
      35      40      45
Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
      50      55      60
Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
65      70      75      80
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
      85      90      95
Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys
      100     105     110
Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
      115     120     125
Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
      130     135     140
Ser Arg Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu
145      150      155      160
Asn Asn Phe Tyr Pro Lys
      165

```