



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

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

(11)



1-0042494

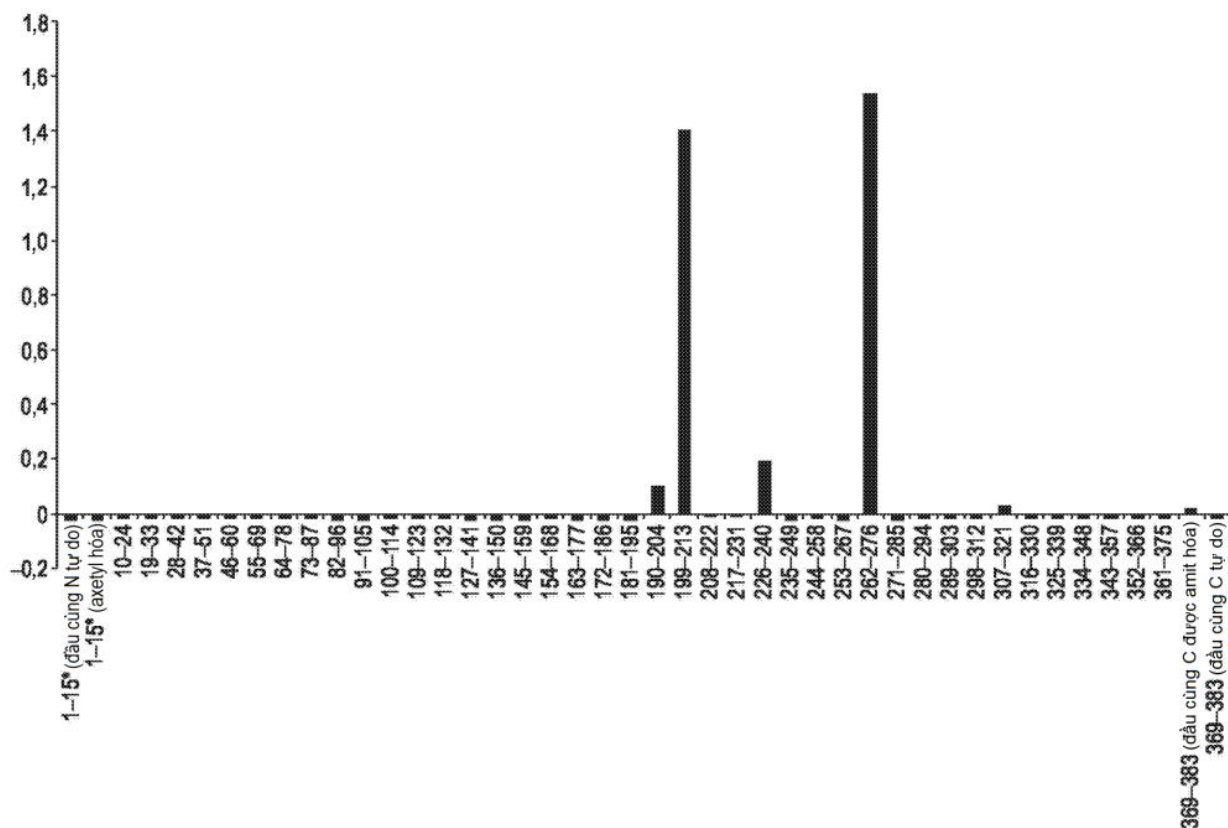
(51)^{2020.01} C07K 16/18; A61K 9/00; G01N 33/68; (13) B
C12N 15/63; A61K 45/06

-
- (21) 1-2021-05342 (22) 02/03/2020
(86) PCT/US2020/020704 02/03/2020 (87) WO2020/180819 A1 10/09/2020
(30) 62/813,126 03/03/2019 US; 62/813,137 03/03/2019 US; 62/838,159 24/04/2019 US
(45) 27/01/2025 442 (43) 25/11/2021 404
(73) PROTHENA BIOSCIENCES LIMITED (IE)
77 Sir John Rogerson' s Quay, Block C, Grand Canal Docklands, Dublin 2, D02
VK60, Ireland
(72) NIJJAR, Tarlochan, S. (US); BARBOUR, Robin (US); DOLAN, Philip, James, III
(US); LIU, Yue (CA); ALEXANDER, Svetlana (US); RENZ, Mark E. (US).
(74) Công ty TNHH Quốc tế D &N (D&N INTERNATIONAL CO.,LTD.)
-

(54) KHÁNG THỂ ĐƯỢC PHÂN LẬP LIÊN KẾT ĐẶC HIỆU VỚI TAU NGƯỜI,
ĐƯỢC PHÂN CHỨA KHÁNG THỂ VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT KHÁNG
THỂ

(21) 1-2021-05342

(57) Sáng chế đề cập đến kháng thể liên kết đặc hiệu với tau. Kháng thể này ức chế hoặc làm chậm các bệnh lý liên quan đến tau và làm giảm triệu chứng kèm theo.



Hình.1

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề xuất kháng thể liên kết đặc hiệu với tau. Kháng thể này ức chế hoặc làm chậm các bệnh lý liên quan đến tau và làm giảm triệu chứng kèm theo.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Tau là protein người đã được biết rõ có thể tồn tại ở các dạng được phosphoryl hóa (xem, ví dụ, Goedert, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:4051-4055(1988); Goedert, EMBO J. 8:393-399(1989); Lee, Neuron 2:1615-1624(1989); Goedert, Neuron 3:519-526(1989); Andreadis, Biochemistry 31:10626-10633(1992). Tau đã được báo cáo là đóng vai trò trong việc ổn định các vi ống, cụ thể là ở hệ thần kinh trung ương. Toàn bộ Tau (t-tau, nghĩa là, dạng được phosphoryl hóa và không được phosphoryl hóa) và phospho-tau (p-tau, nghĩa là, tau được phosphoryl hóa) được giải phóng bởi não đáp ứng với sự tổn thương neuron và thoái hóa thần kinh và đã được báo cáo là xảy ra với mức độ gia tăng trong CSF của bệnh nhân Alzheimer so với quần thể chung (Jack và đồng tác giả, Lancet Neurol 9: 119–28 (2010)).

Tau là thành phần chính của đám rối thần kinh, mà cùng với các mảng là dấu hiệu xác nhận bệnh Alzheimer. Các đám rối tạo thành các sợi bất thường có đường kính 10 nm xuất hiện theo cặp được cuộn theo kiểu xoắn với chu kỳ ổn định là 80 nm. Tau nằm trong các đám rối thần kinh bị phosphoryl hóa bất thường (bị tăng phosphoryl hóa) với các nhóm phosphat được gắn vào các vị trí cụ thể trên phân tử. Sự liên quan chặt chẽ của các đám rối thần kinh được quan sát thấy trong các neuron lớp II của vỏ não khứu, các vùng CA1 và vùng nền của hồi hải mã, hạch hạnh nhân, và các lớp sâu hơn (lớp III, V, và VI ở bề mặt) của vỏ não mới ở bệnh Alzheimer. Tau bị phosphoryl hóa tăng cũng được báo cáo là cản trở sự lắp ráp vi ống, điều này có thể thúc đẩy sự phá vỡ mạng neuron.

Các thể vùi Tau là một phần của bệnh học thần kinh xác định của một số bệnh thoái hóa thần kinh bao gồm bệnh Alzheimer, bệnh thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh liệt trên nhân tiến triển và bệnh Pick.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất kháng thể được phân lập liên kết đặc hiệu với tau người, bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành chứa CDR-H1 gồm SEQ ID NO:8, CDR-H2 gồm SEQ ID NO:9 hoặc SEQ ID NO:149, và CDR-H3 gồm SEQ ID NO:10, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng này đồng nhất ít nhất 90% với SEQ ID NO:18; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành chứa CDR-L1 gồm SEQ ID NO:12, CDR-L2 gồm SEQ ID NO: 150, 151, 153, 156, 158, 159, 160, 163, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173 hoặc 174, và CDR-L3 gồm SEQ ID NO:14, trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ này đồng nhất ít nhất 90% với SEQ ID NO:122.

Trong một số kháng thể, ít nhất một trong số các vị trí H12, H13, H17, H24, H40, H43, H48, H66, H67, H76, H80, H81, và H91 lần lượt có thể bị chiếm bởi V, K, T, A, R, Q, I, R, A, D, L, Q, và F, và ít nhất một trong số các vị trí L2, L12, L15, L37, L39, L45, L60 và L100 lần lượt có thể bị chiếm bởi V, P, L, Q, R, R, D và Q.

Trong một số kháng thể, CDR-L2 bao gồm SEQ ID NO: 150, 151, 163, 167, 168, hoặc 169. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:18 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO: 110, 121, 122 hoặc 123.

Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:110. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:121. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:122. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:123.

Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:146 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO: 94 hoặc 122. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:94. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:122.

Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm SEQ ID NO:18 hoặc 146 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID NO:122.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kháng thể liên kết đặc hiệu với tau người, bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành chứa các CDR H1, H2 và H3 lần lượt gồm các SEQ ID NO:8, 9, và 10, ngoại trừ là vị trí H28 có thể bị chiếm bởi N hoặc T, H54 có thể bị chiếm bởi N hoặc D, H56 có thể bị chiếm bởi D hoặc E, vị trí H58 bị chiếm bởi V hoặc I, và vị trí H60 có thể bị chiếm bởi D hoặc E, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành chứa các CDR L1, L2 và L3 lần lượt gồm các SEQ ID NO:12, 13, và 14, ngoại trừ là vị trí

L24 có thể bị chiếm bởi K hoặc R, vị trí L50 có thể bị chiếm bởi L, E, D, G, hoặc V, vị trí L52 có thể bị chiếm bởi S hoặc G, và vị trí L54 có thể bị chiếm bởi L, D, G, N, E, Q, K, R, T, V, hoặc S, trong đó ít nhất một vị trí trong số các vị trí sau đây bị chiếm bởi axit amin như được xác định: H1 bị chiếm bởi Q, H5 bị chiếm bởi Q, H11 bị chiếm bởi L, H20 bị chiếm bởi L, H23 bị chiếm bởi T, H38 bị chiếm bởi K, H75 bị chiếm bởi S, H56 bị chiếm bởi E, H58 bị chiếm bởi I, H60 bị chiếm bởi E, H82c bị chiếm bởi V, L10 bị chiếm bởi T, L17 bị chiếm bởi E, L24 bị chiếm bởi R, L37 bị chiếm bởi Q, L47 bị chiếm bởi G, N, D, E, P, T, S, hoặc A, L48 bị chiếm bởi G hoặc D, L49 bị chiếm bởi E, L50 bị chiếm bởi E, D, G, hoặc V, L52 bị chiếm bởi G, L54 bị chiếm bởi D, G, N, E, Q, K, R, T, V, hoặc S, L83 bị chiếm bởi L, L86 bị chiếm bởi H, L100 bị chiếm bởi Q, L106 bị chiếm bởi L.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kháng thể đơn dòng được phân lập mà liên kết tau người bao gồm ba CDR chuỗi nhẹ và ba CDR chuỗi nặng của kháng thể đơn dòng 3D6, trong đó 3D6 là kháng thể của chuột được đặc trưng bởi vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin gồm SEQ ID NO:7 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin gồm SEQ ID NO:11, ngoại trừ là vị trí H27 có thể bị chiếm bởi F hoặc Y, vị trí H28 có thể bị chiếm bởi N hoặc T, vị trí H29 có thể bị chiếm bởi I hoặc F, vị trí H30 có thể bị chiếm bởi K hoặc T, vị trí H51 có thể bị chiếm bởi I hoặc V, vị trí H54 có thể bị chiếm bởi N hoặc D, vị trí H60 có thể bị chiếm bởi D, A, hoặc E, vị trí H61 có thể bị chiếm bởi P hoặc E, vị trí H102 có thể bị chiếm bởi F hoặc Y, vị trí L50 có thể bị chiếm bởi L, E, D, G, hoặc V, vị trí L52 có thể bị chiếm bởi S hoặc G, và vị trí L54 có thể bị chiếm bởi L, D, G, N, E, Q, K, R, T, V, hoặc S, trong đó ít nhất một vị trí trong số các vị trí sau đây bị chiếm bởi axit amin như được xác định: L37 bị chiếm bởi Q, L47 bị chiếm bởi G, N, D, E, P, T, S, hoặc A, L48 bị chiếm bởi G hoặc D, L49 bị chiếm bởi E, L50 bị chiếm bởi E, D, G, hoặc V, L52 bị chiếm bởi G, L54 bị chiếm bởi D, G, N, E, Q, K, R, T, V, hoặc S, L100 bị chiếm bởi Q, H60 bị chiếm bởi E, H82c bị chiếm bởi V.

Trong một số kháng thể, CDR-H1 có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:86. Trong một số kháng thể, CDR-H2 có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:88, SEQ ID NO:92, hoặc SEQ ID NO:149. Trong một số kháng thể, CDR-L2 có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:150 - 175. Trong một số kháng thể, CDR-L1 có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:89. Trong một số kháng thể, CDR-H1 có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:86 và CDR-H2 có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:87. Trong một số kháng thể như vậy, CDR-H1 có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:86 và CDR-

H2 có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:88. Trong một số kháng thể, CDR-H1 có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:86 và CDR-H2 có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:92. Trong một số kháng thể, CDR-H1 có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59, hoặc SEQ ID NO:60. Trong một số kháng thể, CDR-H2 có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:64, hoặc SEQ ID NO:149. Trong một số kháng thể, CDR-H3 có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:65. Trong một số kháng thể, CDR-L2 có trình tự axit amin có chứa trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO:150 - 175.

Trong một số kháng thể, kháng thể là kháng thể được làm tương thích với người, kháng thể được ngưng trang, hoặc kháng thể khảm.

Một số kháng thể có chứa vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành được làm tương thích với người có trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 95% với trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO:76-80 và các SEQ ID NO:90-91, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành được làm tương thích với người có trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% với trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO:83-85.

Một số kháng thể có chứa vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành được làm tương thích với người có trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 95% với trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO:18 và các SEQ ID NO:146-148, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành được làm tương thích với người có trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% với trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO:93-145.

Trong một số kháng thể, ít nhất là một trong các vị trí sau đây trong vùng VH được chiếm bởi axit amin như được xác định: H93 được chiếm bởi S và H94 được chiếm bởi T. Trong một số kháng thể, các vị trí H93 và H94 lần lượt được chiếm bởi S và T. Trong một số kháng thể, vị trí H91 trong vùng VH được chiếm bởi F.

Trong một số kháng thể, ít nhất là một trong các vị trí sau đây trong vùng VH được chiếm bởi axit amin như được xác định: H1 được chiếm bởi E, H5 được chiếm bởi V, H11 được chiếm bởi V, H20 được chiếm bởi I, H23 được chiếm bởi K, H38 được chiếm bởi R, H42 được chiếm bởi G, H43 được chiếm bởi K, H66 được chiếm bởi R, H75 được chiếm bởi T, H76 được chiếm bởi D, H81 được chiếm bởi E, H108 được chiếm bởi L, H109 được chiếm bởi V. Trong một số kháng thể, các vị trí H1, H5, H11, H20, H23, H38, H42, H43,

H66, H75, H76, H81, H108, và H109 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi E, V, V, I, K, R, G, K, R, T, D, E, L, và V.

Trong một số kháng thể, ít nhất là một trong các vị trí sau đây trong vùng VH được chiếm bởi axit amin như được xác định: H17 được chiếm bởi T, H80 được chiếm bởi M, H83 được chiếm bởi R. Trong một số kháng thể, các vị trí H17, H80, và H83 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi T, M, và R.

Trong một số kháng thể, vị trí H58 trong vùng VH được chiếm bởi I.

Trong một số kháng thể, ít nhất là một trong các vị trí sau đây trong vùng VH được chiếm bởi axit amin như được xác định: H28 được chiếm bởi T, H67 được chiếm bởi V. Trong một số kháng thể, các vị trí H28 và H67 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi T và V.

Trong một số kháng thể, ít nhất là một trong các vị trí sau đây trong vùng VH được chiếm bởi axit amin như được xác định: H54 được chiếm bởi D, H56 được chiếm bởi E. Trong một số kháng thể, các vị trí H54 và H56 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi D và E.

Trong một số kháng thể, ít nhất là một trong các vị trí sau đây trong vùng VH được chiếm bởi axit amin như được xác định: H1 được chiếm bởi Q hoặc E, H5 được chiếm bởi Q hoặc V, H11 được chiếm bởi L hoặc V, H17 được chiếm bởi S hoặc T, H20 được chiếm bởi L hoặc I, H23 được chiếm bởi T hoặc K, H28 được chiếm bởi N hoặc T, H38 được chiếm bởi K hoặc R, H42 được chiếm bởi E hoặc G, H43 được chiếm bởi Q hoặc K, H54 được chiếm bởi N hoặc D, H56 được chiếm bởi D hoặc E, H58 được chiếm bởi V hoặc I, H60 được chiếm bởi D hoặc E, H66 được chiếm bởi K hoặc R, H66 được chiếm bởi K hoặc R, H67 được chiếm bởi A hoặc V, H75 được chiếm bởi S hoặc T, H76 được chiếm bởi N hoặc D, H80 được chiếm bởi L hoặc M, H81 được chiếm bởi Q hoặc E, H82c được chiếm bởi L hoặc V, H83 được chiếm bởi T hoặc R, H91 được chiếm bởi F hoặc Y, H93 được chiếm bởi S, H94 được chiếm bởi T, H108 được chiếm bởi T hoặc L, H109 được chiếm bởi L hoặc V.

Trong một số kháng thể, ít nhất một vị trí trong số các vị trí sau đây trong vùng VH bị chiếm bởi axit amin như được xác định: H10 bị chiếm bởi E hoặc D, H12 bị chiếm bởi K hoặc V, H13 bị chiếm bởi K hoặc R, H17 bị chiếm bởi T, L hoặc S, H24 bị chiếm bởi V hoặc A, H27 bị chiếm bởi F hoặc Y, H28 bị chiếm bởi N hoặc T, H29 bị chiếm bởi I hoặc

F, H30 bị chiếm bởi K hoặc T, H38 bị chiếm bởi Q hoặc R, H40 bị chiếm bởi A hoặc R, H42 bị chiếm bởi G hoặc E, H43 bị chiếm bởi K hoặc Q, H48 bị chiếm bởi M hoặc I, H51 bị chiếm bởi V hoặc I, H54 bị chiếm bởi N hoặc D, H60 bị chiếm bởi D, A, hoặc E, H61 bị chiếm bởi P hoặc E, H66 bị chiếm bởi R hoặc K, H67 bị chiếm bởi V hoặc A, H76 bị chiếm bởi D hoặc N, H80 bị chiếm bởi M hoặc L, H81 bị chiếm bởi E hoặc Q, H82a bị chiếm bởi S hoặc G, H82c bị chiếm bởi L hoặc V, H83 bị chiếm bởi T hoặc R, H91 bị chiếm bởi Y hoặc F, H93 bị chiếm bởi A hoặc S, H102 bị chiếm bởi F hoặc Y, H108 bị chiếm bởi T hoặc L, H109 bị chiếm bởi L hoặc V.

Trong một số kháng thể, các vị trí H91, H93, và H94 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi F, S, và T.

Trong một số kháng thể, các vị trí H1, H5, H11, H20, H23, H38, H42, H43, H66, H75, H76, H81, H91, H93, H94, H108, và H109 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi E, V, V, I, K, R, G, K, R, T, D, E, F, S, T, L, và V. Trong một số kháng thể, các vị trí H1, H5, H11, H17, H20, H23, H38, H42, H43, H58, H66, H75, H76, H80, H81, H83, H93, H94, H108, và H109 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi E, V, V, T, I, K, R, G, K, I, R, T, D, M, E, R, S, T, L, và V. Trong một số kháng thể, các vị trí H1, H5, H11, H17, H20, H23, H28, H38, H42, H43, H58, H66, H67, H75, H76, H80, H81, H83, H93, H94, H108, và H109 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi E, V, V, T, I, K, T, R, G, K, I, R, V, T, D, M, E, R, S, T, L, và V. Trong một số kháng thể, các vị trí H1, H5, H11, H17, H20, H23, H28, H38, H42, H43, H54, H56, H58, H66, H67, H75, H76, H80, H81, H83, H93, H94, H108, và H109 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi E, V, V, T, I, K, T, R, G, K, D, E, I, R, V, T, D, M, E, R, S, T, L, và V.

Trong một số kháng thể, các vị trí H1, H5, H11, H17, H20, H23, H28, H38, H42, H43, H54, H56, H66, H67, H75, H76, H80, H81, H83, H91, H93, H94, H108, và H109 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi E, V, V, T, I, K, T, R, G, K, D, E, R, V, T, D, M, E, R, F, S, T, L, và V. Trong một số kháng thể, các vị trí H1, H5, H11, H17, H20, H23, H28, H38, H42, H43, H54, H56, H66, H67, H75, H76, H80, H81, H83, H93, H94, H108, và H109 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi E, V, V, T, I, K, T, R, G, K, D, E, R, V, T, D, M, E, R, S, T, L, và V.

Trong một số kháng thể, vị trí H60 bị chiếm bởi E. Trong một số kháng thể, vị trí H82C bị chiếm bởi V. Trong một số kháng thể, các vị trí H60, H80, H81, H82c, và H83 lần lượt bị chiếm bởi E, M, E, V, và R.

Trong một số kháng thể, ít nhất là một trong các vị trí sau đây trong vùng VL được chiếm bởi axit amin như được xác định: L7 được chiếm bởi S, L10 được chiếm bởi S, L15 được chiếm bởi L, L83 được chiếm bởi V, L86 được chiếm bởi Y, và L106 được chiếm bởi I. Trong một số kháng thể, các vị trí L7, L10, L15, L83, L86, và L106 lần lượt được chiếm bởi S, S, L, V, Y, và Y.

Trong một số kháng thể như vậy, ít nhất là một trong các vị trí sau đây trong vùng VL được chiếm bởi axit amin như được xác định: L7 là T hoặc S, L10 là T hoặc S, L15 là I hoặc L, L17 là Q hoặc E, L24 là K hoặc R, L37 là L hoặc Q, L45 là K hoặc R, L47 là L, G, N, D, E, P, T, S, hoặc A, L48 là I, G, hoặc D, L49 là Y hoặc E, L50 là L, E, D, G, hoặc V, L52 là S hoặc G, L54 là L, D, G, N, E, Q, K, R, T, V, hoặc S, L83 là L hoặc V, L86 là H hoặc Y, L100 là A hoặc Q, L106 là L hoặc I.

Trong một số kháng thể, ít nhất một vị trí trong số các vị trí sau đây trong vùng VL bị chiếm bởi axit amin như được xác định: L2 là V hoặc I, L7 là S hoặc T, L12 là P hoặc S, L15 là L hoặc I, L36 là L, L37 là L hoặc Q, L45 là R hoặc K, L47 là L, G, N, D, E, P, T, S, hoặc A, L48 là I, G, hoặc D, L49 là Y hoặc E, L50 là L, E, D, G, hoặc V, L52 là S hoặc G, L54 là L, D, G, N, E, Q, K, R, T, V, L60 là D hoặc S, L100 là G hoặc Q.

Trong một số kháng thể, các vị trí L7, L10, L15, L83, L86, và L106 trong vùng VL lần lượt được chiếm bởi S, S, L, V, Y, và I. Trong một số kháng thể, các vị trí L7, L10, L15, L17, L24, L37, L45, L83, L86, L100, và L106 trong vùng VL lần lượt được chiếm bởi S, S, L, E, R, Q, R, V, Y, Q, và I.

Trong một số kháng thể, vị trí L54 bị chiếm bởi D. Trong một số kháng thể, vị trí L54 bị chiếm bởi G. Trong một số kháng thể, vị trí L54 bị chiếm bởi N. Trong một số kháng thể, vị trí L54 bị chiếm bởi E. Trong một số kháng thể, vị trí L50 bị chiếm bởi E. Trong một số kháng thể, vị trí L54 bị chiếm bởi Q. Trong một số kháng thể, vị trí L50 bị chiếm bởi D. Trong một số kháng thể, vị trí L54 bị chiếm bởi K. Trong một số kháng thể, vị trí L54 bị chiếm bởi R. Trong một số kháng thể, vị trí L54 bị chiếm bởi T. Trong một số kháng thể, vị trí L50 bị chiếm bởi G. Trong một số kháng thể, vị trí L48 bị chiếm bởi G. Trong một số kháng thể, vị trí L48 bị chiếm bởi D. Trong một số kháng thể, vị trí L47 bị

8

lượt bị chiếm bởi Q, D, G, và Q. Trong một số kháng thể, các vị trí L37, L50, L54, và L100 lần lượt bị chiếm bởi Q, D, R, và Q.

Trong một số kháng thể, các vị trí L37, L50, L54, và L100 lần lượt bị chiếm bởi Q, V, D, và Q. Trong một số kháng thể, vị trí L37 bị chiếm bởi Q. Trong một số kháng thể, vị trí L100 bị chiếm bởi Q.

Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO:76-80 và các SEQ ID NO:90-91 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO:83-85. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 18 và SEQ ID NO: 146-148 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong trình tự bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 93-145.

Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:76 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:83. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:76 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:84. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:76 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:85.

Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:77 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:83. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:77 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:84. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:77 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:85.

Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:78 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:83. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:78 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:84. Trong một số kháng thể, vùng biến

Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:91 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:83. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:91 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:84. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:91 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:85.

Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:18 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:122. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:18 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:123.

Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:146 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:122.

Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:18 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:121. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:18 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:110.

Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:146 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:94.

Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:18 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:103.

Ví dụ như, kháng thể có thể là kháng thể khảm, được ngẫu trang, hoặc được làm tương thích với người.

Kháng thể có thể là kháng thể nguyên vẹn, khảm, được ngẫu trang hoặc được làm tương thích với người hoặc một đoạn liên kết, đoạn Fab kháng thể đơn chuỗi, đoạn Fab'2, hoặc Fv đơn chuỗi. Một số kháng thể có isotyp IgG1 người, trong khi các kháng thể khác có thể có isotyp IgG2 hoặc IgG4 người. Một số kháng thể có vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành dung hợp với vùng hằng định chuỗi nhẹ và vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành dung hợp với vùng hằng định chuỗi nặng. Vùng hằng định chuỗi nặng của một số kháng thể là dạng đột biến của vùng hằng định chuỗi nặng người tự nhiên mà có liên kết giảm với thụ thể Fcγ tương quan với vùng hằng định chuỗi nặng người tự nhiên.

Trong một số kháng thể, vùng hằng định chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:176. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành được dung hợp với vùng hằng định chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:178. Một số kháng thể còn bao gồm peptit tín hiệu được dung hợp với vùng biến đổi chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ trưởng thành. Trong một số kháng thể, chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:180. Trong một số kháng thể, vùng hằng định chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:177. Trong một số kháng thể, vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành được dung hợp với vùng hằng định chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:179. Trong một số kháng thể, chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:181. Trong một số kháng thể, chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:178 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:179. Trong một số kháng thể, chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:180 và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:181.

Một số kháng thể có thể có ít nhất là một đột biến trong vùng hằng định, chẳng hạn như đột biến mà làm giảm sự cố định hoặc sự hoạt hóa bổ thể bởi vùng hằng định, ví dụ như, đột biến tại một hoặc nhiều vị trí trong số các vị trí 241, 264, 265, 270, 296, 297, 318, 320, 322, 329 và 331 theo cách đánh số EU. Một số kháng thể có alanin tại các vị trí 318, 320 và 322. Một số kháng thể có thể có độ tinh khiết ít nhất là 95% khối lượng/khối lượng. Kháng thể có thể được liên hợp với tác nhân trị liệu, gây độc tế bào, kim hãm tế bào, dinh dưỡng thần kinh, hoặc bảo vệ thần kinh.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả này và chất mang được dung.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất axit nucleic mã hóa chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả này, vectơ biểu hiện tái tổ hợp bao gồm axit nucleic này và tế bào chủ được biến nạp bằng vectơ biểu hiện tái tổ hợp này.

Trong một số axit nucleic, chuỗi nặng được mã hóa bởi trình tự gồm SEQ ID NO:182 và chuỗi nhẹ được mã hóa bởi trình tự gồm SEQ ID NO:183.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp sản xuất kháng thể, chẳng hạn như kháng thể được làm tương thích với người, khảm hoặc được nguy trang, ví dụ các dạng được làm tương thích với người, khảm hoặc được nguy trang của 3D6. Trong các phương pháp như

vậy, các tế bào được biến nạp bằng axit nucleic mã hóa các chuỗi nặng và nhẹ của kháng thể này được nuôi cấy để các tế bào tiết ra kháng thể. Sau đó kháng thể này có thể được tinh chế từ môi trường nuôi cấy tế bào.

Các dòng tế bào sản xuất kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả này có thể được sản xuất bằng cách đưa vector mã hóa các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể này và chỉ thị chọn lọc được vào các tế bào, nhân giống tế bào trong các điều kiện để chọn lọc tế bào có số lượng bản sao vector tăng lên, phân lập tế bào đơn lẻ từ các tế bào được chọn; và tạo ngân hàng tế bào được tách dòng từ tế bào đơn lẻ được chọn dựa trên hiệu suất của kháng thể.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất vector có chứa axit nucleic mã hóa cho vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành được liên kết có điều khiển với một hoặc nhiều trình tự điều hòa để gây ra sự biểu hiện ở tế bào động vật có vú của kháng thể bất kỳ được bộc lộ trong bản mô tả này. Trong một số vector, kháng thể được biểu hiện là scFv hoặc đoạn Fab. Trong một số vector, một hoặc nhiều trình tự điều hòa bao gồm một hoặc nhiều vùng khởi động, vùng tăng cường, vị trí liên kết ribosom, và tín hiệu kết thúc phiên mã. Trong một số vector, axit nucleic còn mã hóa cho peptit tín hiệu dung hợp với các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ trưởng thành. Trong một số vector, axit nucleic được tối ưu hóa bộ ba mã hóa để biểu hiện ở tế bào chủ. Trong một số vector, một hoặc nhiều trình tự điều hòa bao gồm vùng khởi động sinh vật nhân chuẩn. Trong một số vector, axit nucleic còn mã hóa cho gen chọn lọc được.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất phương pháp biểu hiện kháng thể ở tế bào động vật có vú bao gồm bước kết hợp các axit nucleic được bộc lộ trong bản mô tả này vào hệ gen của động vật chuyển gen, bằng cách đó kháng thể được biểu hiện.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất vector thứ nhất và thứ hai tương ứng bao gồm axit nucleic mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành, mỗi axit nucleic này liên kết chức năng với một hoặc nhiều trình tự điều hòa để đảm bảo sự biểu hiện của kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả này, và tế bào chủ bao gồm các axit nucleic này. Trong một số vector thứ nhất và thứ hai, các axit nucleic này tương ứng còn mã hóa vùng hằng định chuỗi nặng được dung hợp với vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành và vùng hằng định chuỗi nhẹ được dung hợp với vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành. Trong một số vector thứ nhất và thứ hai,

vùng hằng định chuỗi nặng có trình tự nêu trong SEQ ID NO:176 có hoặc không có lysin đầu cùng C và vùng hằng định chuỗi nhẹ có trình tự nêu trong SEQ ID NO:177.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất phương pháp biểu hiện kháng thể ở tế bào động vật có vú bao gồm bước đưa axit nucleic bất kỳ trong số các axit nucleic được bộc lộ trong bản mô tả này vào bộ gen của động vật chuyển gen, bằng cách này kháng thể được biểu hiện.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp sản xuất kháng thể, chẳng hạn như kháng thể được làm tương thích với người, kháng thể khảm, hoặc kháng thể được ngụy trang. Trong phương pháp này, các tế bào được biến nạp với các axit nucleic mã hóa cho chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả này được nuôi cấy sao cho tế bào tiết ra kháng thể. Sau đó kháng thể có thể được tinh chế từ môi trường nuôi cấy tế bào.

Các dòng tế bào sản xuất kháng thể bất kỳ được bộc lộ trong bản mô tả này có thể được sản xuất bằng cách đưa vector mã hóa cho chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể theo điểm 1 và chỉ thị chọn lọc được vào tế bào, nhân giống tế bào trong điều kiện để chọn lọc tế bào có số lượng bản sao vector tăng lên, phân lập tế bào đơn lẻ từ các tế bào được chọn; và tạo ngân hàng tế bào được tách dòng từ tế bào đơn lẻ được chọn dựa trên hiệu suất của kháng thể.

Một số tế bào có thể được nhân giống trong điều kiện chọn lọc và được sàng lọc đối với các dòng tế bào biểu hiện và tiết một cách tự nhiên ít nhất là 100 mg/l/10⁶ tế bào/24 giờ. Tế bào đơn lẻ có thể được phân lập từ các tế bào được chọn. Sau đó tế bào đã được tách dòng từ tế bào đơn lẻ có thể được tạo ngân hàng. Tế bào đơn lẻ có thể được chọn dựa trên các tính chất mong muốn, chẳng hạn như hiệu suất của kháng thể. Các dòng tế bào ví dụ là các dòng tế bào biểu hiện 3D6 hoặc các phiên bản được làm tương thích với người của 3D6.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp ức chế hoặc làm giảm sự kết tụ tau ở đối tượng có hoặc có nguy cơ phát triển bệnh thoái hóa amyloid do tau, bao gồm bước cho đối tượng dùng phác đồ hữu hiệu của kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả này, nhờ đó ức chế hoặc làm giảm sự kết tụ tau ở đối tượng. Kháng thể ví dụ bao gồm các phiên bản được làm tương thích với người của 3D6.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh liên quan đến tau ở đối tượng, bao gồm bước dùng phác đồ hữu hiệu của kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả này và nhờ đó điều trị hoặc phòng ngừa bệnh. Các ví dụ về bệnh này là bệnh Alzheimer, hội chứng Down, suy giảm nhận thức nhẹ, bệnh do protein tau liên quan đến tuổi tác nguyên phát, bệnh Parkinson sau viêm não, chứng sa sút trí tuệ sau chấn thương hoặc sa sút trí tuệ do chấn thương não, bệnh Pick, bệnh Niemann-Pick typ C, bệnh liệt trên nhân, bệnh sa sút trí tuệ trán thái dương, bệnh thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh hạt ưa bạc, bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu, phức hợp bệnh xơ cứng teo cơ một bên/bệnh sa sút trí tuệ do parkinson của Guam, bệnh thoái hóa vỏ não và hạch nền (corticobasal degeneration - CBD), chứng sa sút trí tuệ với các thể Lewy, biến thể thể Lewy của bệnh Alzheimer (Lewy body variant of Alzheimer disease - LBVAD), chứng chấn thương não mãn tính (chronic traumatic encephalopathy - CTE), bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu (globular glial tauopathy - GGT), hoặc bệnh liệt trên nhân tiến triển (progressive supranuclear palsy - PSP). Trong một số phương pháp, bệnh liên quan đến tau là bệnh Alzheimer. Trong một số phương pháp bệnh nhân là thể mang ApoE4.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp làm giảm sự vận chuyển tau bất thường bao gồm bước dùng phác đồ hữu hiệu của kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả này và nhờ đó làm giảm sự vận chuyển tau.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp cảm ứng hiện tượng thực bào tau bao gồm bước sử dụng phác đồ hữu hiệu của kháng thể được mô tả ở đây và nhờ đó cảm ứng hiện tượng thực bào tau.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp ức chế sự kết tụ hoặc lắng đọng tau bao gồm bước sử dụng phác đồ hữu hiệu của kháng thể được mô tả ở đây nhờ đó ức chế sự kết tụ hoặc lắng đọng tau.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp ức chế sự tạo thành các đám rối tau bao gồm bước sử dụng phác đồ hữu hiệu của kháng thể được mô tả ở đây.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp phát hiện lớp lắng đọng protein tau ở đối tượng mắc hoặc có nguy cơ mắc bệnh gây ra bởi sự kết tụ hoặc lắng đọng tau bao gồm bước sử dụng cho đối tượng kháng thể được mô tả ở đây, và phát hiện kháng thể đã được liên kết với tau ở đối tượng này. Các ví dụ về bệnh này là bệnh Alzheimer, hội chứng Down, suy giảm nhận thức nhẹ, bệnh do protein tau liên quan đến tuổi tác nguyên phát, bệnh Parkinson

sau viêm não, chứng sa sút trí tuệ sau chấn thương hoặc sa sút trí tuệ do chấn thương não, bệnh Pick, bệnh Niemann-Pick typ C, bệnh liệt trên nhân, bệnh sa sút trí tuệ trán thái dương, bệnh thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh hạt ưa bạc, bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu, phức hợp bệnh xơ cứng teo cơ một bên/bệnh sa sút trí tuệ do parkinson của Guam, bệnh thoái hóa vỏ não và hạch nền (corticobasal degeneration - CBD), chứng sa sút trí tuệ với các thể Lewy, biến thể thể Lewy của bệnh Alzheimer (Lewy body variant of Alzheimer disease - LBVAD), chứng chấn thương não mãn tính (chronic traumatic encephalopathy - CTE), bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu (globular glial tauopathy - GGT), hoặc bệnh liệt trên nhân tiến triển (progressive supranuclear palsy - PSP). Theo một số phương án, kháng thể được dùng bằng cách tiêm trong tĩnh mạch vào cơ thể của đối tượng. Theo một số phương án, kháng thể được dùng trực tiếp cho não của đối tượng bằng cách tiêm trong hộp sọ hoặc bằng cách khoan lỗ qua hộp sọ của đối tượng. Theo một số phương án, kháng thể được gắn nhãn. Theo một số phương án, kháng thể được gắn nhãn bằng nhãn huỳnh quang, nhãn thuận từ, hoặc nhãn có hoạt tính phóng xạ. Theo một số phương án, nhãn có hoạt tính phóng xạ được phát hiện bằng cách sử dụng chụp xạ hình cắt lớp positron (positron emission tomography - PET) hoặc chụp cắt lớp vi tính đơn photon (single-photon emission computed tomography - SPECT).

Sáng chế còn đề xuất phương pháp đo hiệu quả điều trị ở đối tượng đang được điều trị bệnh gây ra bởi sự kết tụ hoặc lắng đọng tau, bao gồm bước đo hàm lượng thứ nhất của lớp lắng đọng protein tau ở đối tượng trước khi điều trị bằng cách sử dụng cho đối tượng kháng thể được mô tả ở đây, và phát hiện lượng kháng thể thứ nhất đã liên kết với tau ở đối tượng, sử dụng phương pháp điều trị này cho đối tượng, đo hàm lượng thứ hai của lớp lắng đọng protein tau ở đối tượng này sau khi điều trị bằng cách sử dụng cho đối tượng kháng thể này, và phát hiện kháng thể đã được liên kết với Tau ở đối tượng, trong đó sự giảm mức lắng đọng protein tau thể hiện đáp ứng tích cực với điều trị.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp đo hiệu quả điều trị ở đối tượng đang được điều trị bệnh gây ra bởi sự kết tụ hoặc lắng đọng tau, bao gồm bước đo hàm lượng thứ nhất của lớp lắng đọng protein tau ở đối tượng trước khi điều trị bằng cách sử dụng cho đối tượng kháng thể được mô tả ở đây, và phát hiện lượng kháng thể thứ nhất đã liên kết với tau ở đối tượng, sử dụng phương pháp điều trị này cho đối tượng, đo hàm lượng thứ hai của lớp lắng đọng protein tau ở đối tượng này sau khi điều trị bằng cách sử dụng cho đối tượng kháng thể này, và phát hiện lượng kháng thể thứ hai đã được liên kết với tau ở đối tượng

này, trong đó sự không thay đổi mức lắng đọng protein tau hoặc sự tăng nhẹ lớp lắng đọng protein tau thể hiện đáp ứng tích cực với điều trị.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất kháng thể liên kết đặc hiệu với tau người ở epitop trong motif có công thức KXXSXXNX(K/H)H (SEQ ID NO:191) hoặc KIGSLDNITH (SEQ ID NO:194) bao gồm gây miễn dịch động vật với tau người hoặc một đoạn của nó để sản xuất kháng thể và sàng lọc đối với kháng thể của các kháng thể được sản xuất mà liên kết đặc hiệu trong motif. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất kháng thể liên kết đặc hiệu với peptit gồm có các gốc KXXSXXNX(K/H)H (SEQ ID NO:191) hoặc KIGSLDNITH (SEQ ID NO:194) bao gồm gây miễn dịch động vật với tau người hoặc một đoạn của nó để sản xuất kháng thể và sàng lọc đối với kháng thể của các kháng thể được sản xuất mà liên kết đặc hiệu với peptit này. Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất kháng thể liên kết đặc hiệu với epitop bao gồm KXXSXXNX(K/H)H (SEQ ID NO:191) bao gồm gây miễn dịch động vật với tau hoặc một đoạn của nó, và sàng lọc đối với các kháng thể liên kết đặc hiệu với epitop.

Trong một số phương pháp, động vật này được gây miễn dịch với tau người có 383 axit amin (4R0N). Trong một số phương pháp, tau người này chứa đột biến P301S. Trong một số phương pháp, tau người này có gắn đuôi His đầu cùng N tái tổ hợp.

Trong một số phương pháp, bước sàng lọc xác định liên kết đặc hiệu giữa các kháng thể và một hoặc nhiều peptit có tới 15 axit amin bao gồm KIGSTENLKH (SEQ ID NO:188), KCGSKDNIKH (SEQ ID NO:192), KCGSLGNIHH (SEQ ID NO:193) tương ứng hoặc motif liên ứng khác bất kỳ được biểu diễn bởi công thức KXXSXXNX(K/H)H (SEQ ID NO:191). Trong một số phương pháp, một hoặc nhiều peptit này bao gồm KIGSTENLKH (SEQ ID NO:188) hoặc KCGSKDNIKH (SEQ ID NO:192) hoặc KCGSLGNIHH (SEQ ID NO:193) tương ứng. Trong một số phương pháp, động vật này được gây miễn dịch với đoạn tau có tới 15 axit amin bao gồm KXXSXXNX(K/H)H (SEQ ID NO:191), được liên kết với chất mang. Trong một số phương pháp, peptit này là KIGSTENLKH (SEQ ID NO:188) hoặc KCGSKDNIKH (SEQ ID NO:192) hoặc KCGSLGNIHH (SEQ ID NO: 193).

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 minh họa các kết quả của thử nghiệm được thiết kế để lập bản đồ (các) epitop được liên kết bởi kháng thể đơn dòng 3D6 chuột nhắt.

Hình 2 minh họa sự sắp xếp thẳng hàng của các vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 chuột nhắt (SEQ ID NO:7) và các phiên bản được làm tương thích với người của kháng thể 3D6 (hu3D6VHvb1, hu3D6VHvb2, hu3D6VHvb3, hu3D6VHvb4, hu3D6VHvb5, hu3D6VHvb6, và hu3D6VHvb7) với trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng dòng mầm người IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25) và với trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng thể nhận của người 2RCS VH hFrwk (SEQ ID NO:75). hu3D6VHvb1 là SEQ ID NO:76, hu3D6VHvb2 là SEQ ID NO:77, hu3D6VHvb3 là SEQ ID NO:78, hu3D6VHvb4 là SEQ ID NO:79, hu3D6VHvb5 là SEQ ID NO:80, hu3D6VHvb6 là SEQ ID NO:90, và hu3D6VHvb7 là SEQ ID NO:91. Các CDR như định nghĩa bởi tổ hợp Kabat/Chothia được in đậm.

Hình 3 minh họa sự sắp xếp thẳng hàng của các vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể 3D6 chuột nhắt (SEQ ID NO:11) và các phiên bản được làm tương thích với người của kháng thể 3D6 (hu3D6VLvb1, hu3D6VLvb2, và hu3D6VLvb3) với trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ dòng mầm người IGKV2-30*02 (SEQ ID NO:27) và với thể nhận người ARX71335_VL_hFrwk (SEQ ID NO:82). hu3D6VLvb1 là SEQ ID NO:83, hu3D6VLvb2 là SEQ ID NO:84, và hu3D6VLvb3 là SEQ ID NO:85. Các CDR như định nghĩa bởi Kabat được in đậm.

Các Hình 4A, 4B, và 4C minh họa kết quả của thử nghiệm sàng lọc ELISA đối với kháng thể kháng-tau đơn dòng chuột nhắt được chọn.

Hình 5 minh họa động học liên kết đối với kháng thể kháng-tau đơn dòng chuột nhắt được chọn đối với tau người tái tổ hợp.

Hình 6 minh họa kết quả của thử nghiệm phong bế chức năng đối với kháng thể kháng-tau đơn dòng chuột nhắt được chọn.

Hình 7 minh họa kết quả của thử nghiệm phá vỡ sự kết tụ đối với kháng thể kháng-tau đơn dòng chuột nhắt được chọn.

Hình 8 minh họa kết quả của các thí nghiệm cho thấy rằng 3D6 và 5G8 bắt giữ miễn dịch tau từ mô bệnh Alzheimer ở người.

Các hình 9A và 9B thể hiện sự sắp xếp thẳng hàng của vùng biến đổi chuỗi nặng của 3D6 chuột nhắt (SEQ ID NO:7) và của các biến thể được làm tương thích với người của kháng thể 3D6 (hu3D6VHvb1, hu3D6VHvb2, hu3D6VHvb3, hu3D6VHvb4, hu3D6VHvb5, hu3D6VHvb6, hu3D6VHvb7, hu3D6VHv1bA11, h3D6VHvb8, và h3D6VHvb9) với trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng dòng mầm của người IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25) và với trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng thể nhận của người 2RCS VH hFrwk (SEQ ID NO:75). hu3D6VHvb1 là SEQ ID NO:76, hu3D6VHvb2 là SEQ ID NO:77, hu3D6VHvb3 là SEQ ID NO:78, hu3D6VHvb4 là SEQ ID NO:79, hu3D6VHvb5 là SEQ ID NO:80, hu3D6VHvb6 là SEQ ID NO:90, hu3D6VHvb7 là SEQ ID NO:91, hu3D6VHv1bA11 là SEQ ID NO:18, h3D6VHvb8 là SEQ ID NO:146, và h3D6VHvb9 là SEQ ID NO:148. Các gốc giống các gốc của vùng biến đổi chuỗi nặng của 3D6 chuột nhắt (SEQ ID NO:7) được ký hiệu bằng “.” Các CDR như định nghĩa bởi tổ hợp Kabat/Chothia được in đậm.

Các hình 10A, 10B, 10C, và 10D thể hiện sự sắp xếp thẳng hàng của vùng biến đổi chuỗi nhẹ này của các biến thể được làm tương thích với người của kháng thể 3D6: hu3D6VLv2 (SEQ ID NO:21), hu3D6VLv2 L37Q (SEQ ID NO:143), hu3D6VLv2 L50G (SEQ ID NO:103), hu3D6VLv2 S52G (SEQ ID NO:110), hu3D6VLv2 L54G (SEQ ID NO:94), hu3D6VLv2 L54D (SEQ ID NO:93), hu3D6VLv2 L54K (SEQ ID NO:100), hu3D6VLv2 L54R (SEQ ID NO:101), hu3D6VLv2 L54T (SEQ ID NO:102), hu3D6VLv2 L37Q_L50G (SEQ ID NO:128), hu3D6VLv2 L37Q_L50D (SEQ ID NO:129), hu3D6VLv2 L37Q_S52G (SEQ ID NO:131), hu3D6VLv2 L37Q_L54G (SEQ ID NO:126), hu3D6VLv2 L37Q_L54R (SEQ ID NO:125), hu3D6VLv2 L37Q_L54T (SEQ ID NO:130), hu3D6VLv2 L37Q_L54D (SEQ ID NO:127), hu3D6VLv2 L37Q_L54E (SEQ ID NO:145), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R (SEQ ID NO:119), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G (SEQ ID NO:120), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R (SEQ ID NO:133), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G (SEQ ID NO:132), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D (SEQ ID NO:124), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G (SEQ ID NO:121), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T (SEQ ID NO:123), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (SEQ ID NO:122), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q (SEQ ID NO:140), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q (SEQ ID NO:141), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q (SEQ ID NO:137), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:136), hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q (SEQ ID NO:142),

hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q (SEQ ID NO:139), và hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:138). Các gốc giống các gốc của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của hu3D6VLv2 (SEQ ID NO:21) được ký hiệu bằng “.” Các CDR như định nghĩa bởi Kabat được in đậm.

Hình 11 thể hiện các kết quả của thử nghiệm nội tại hóa tau đối với các biến thể 3D6 được làm tương thích với người được chọn.

Các hình 12A và 12B thể hiện các kết quả của các thử nghiệm vi mảng lập bản đồ đột biến thay thế. Hình 12A thể hiện đồ thị của hiệu quả thế và Hình 12B thể hiện sự sắp thẳng hàng của các phần của các đoạn lặp liên kết vi ống tau với các gốc quan trọng đối với liên kết 3D6 được bôi đậm. aa 255-271 là SEQ ID NO:184, aa 286-302 là SEQ ID NO:185, aa 317-333 là SEQ ID NO:186, và aa 349-365 là SEQ ID NO:187.

Hình 13 minh họa các kết quả của thử nghiệm hóa học mô miễn dịch chỉ ra 3D6 liên kết tau trong mô bình thường (panen trên cùng) và mô bệnh Alzheimer (panen ở giữa và panen dưới cùng).

Hình 14 thể hiện các kết quả của thử nghiệm khối phổ để đánh giá hệ số tỷ lệ liên kết của 3D6.

Hình 15 chỉ ra rằng 3D6 làm gián đoạn việc tạo mầm tau trong mô hình bệnh in vivo của bệnh Alzheimer.

Hình 16 chỉ ra rằng các biến thể được làm tương thích với người 3D6 hu3D6VHv1bA11/hu3D6VLv2 và hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4 phong bế sự tương tác giữa tau và heparin.

Hình 17 chỉ ra rằng các biến thể được làm tương thích với người 3D6 hu3D6VHv1bA11/hu3D6VLv2 và hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4 liên kết các dạng sợi của tau.

Mô tả vắn tắt các trình tự

SEQ ID NO:1 thể hiện trình tự axit amin của một đồng phân của tau người (Swiss-Prot P10636-8).

SEQ ID NO:2 thể hiện trình tự axit amin của một đồng phân của tau người (Swiss-Prot P10636-7).

SEQ ID NO:3 thể hiện trình tự axit amin của một đồng phân của tau người (Swiss-Prot P10636-6), (tau người 4R0N).

SEQ ID NO:4 thể hiện trình tự axit amin của một đồng phân của tau người (Swiss-Prot P10636-5)

SEQ ID NO:5 thể hiện trình tự axit amin của một đồng phân của tau người (Swiss-Prot P10636-4).

SEQ ID NO:6 thể hiện trình tự axit amin của một đồng phân của tau người (Swiss-Prot P10636-2).

SEQ ID NO:7 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 chuột nhất.

SEQ ID NO:8 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H1 Tổ hợp Kabat/Chothia của kháng thể 3D6 chuột nhất.

SEQ ID NO:9 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H2 Kabat của kháng thể 3D6 chuột nhất.

SEQ ID NO:10 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H3 Kabat của kháng thể 3D6 chuột nhất.

SEQ ID NO:11 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể 3D6 chuột nhất và của kháng thể 6A10 chuột nhất.

SEQ ID NO:12 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L1 Kabat của kháng thể 3D6 chuột nhất và của kháng thể 6A10 chuột nhất.

SEQ ID NO:13 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat của kháng thể 3D6 chuột nhất và của kháng thể 6A10 chuột nhất.

SEQ ID NO:14 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L3 Kabat của kháng thể 3D6 chuột nhất và của kháng thể 6A10 chuột nhất.

SEQ ID NO:15 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHv1.

SEQ ID NO:16 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHv2.

SEQ ID NO:17 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHv1b.

SEQ ID NO:18 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHv1bA11.

SEQ ID NO:19 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHv5:

SEQ ID NO:20 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VLv1.

SEQ ID NO:21 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VLv2.

SEQ ID NO:22 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VLv3.

SEQ ID NO:23 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VLv4.

SEQ ID NO:24 thể hiện trình tự axit amin của trình tự nhận biến đổi chuỗi nặng Acc.# BAC01986.1.

SEQ ID NO:25 thể hiện trình tự axit amin của trình tự nhận biến đổi chuỗi nặng Acc.# IMGT# IGHV1-69-2*01.

SEQ ID NO:26 thể hiện trình tự axit amin của trình tự nhận biến đổi chuỗi nặng Acc.# IMGT#IGKJ1*01.

SEQ ID NO:27 thể hiện trình tự axit amin của trình tự nhận biến đổi chuỗi nhẹ Acc.# IMGT#IGKV2-30*02.

SEQ ID NO:28 thể hiện trình tự axit amin của trình tự nhận biến đổi chuỗi nhẹ Acc.# IMGT#IGKJ2*01.

SEQ ID NO:29 thể hiện trình tự axit amin của trình tự nhận biến đổi chuỗi nhẹ Acc.# AAZ09048.1.

SEQ ID NO:30 thể hiện trình tự axit nucleic mã hóa cho vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 chuột nhắt.

SEQ ID NO:31 thể hiện trình tự axit nucleic mã hóa cho vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể 3D6 chuột nhất.

SEQ ID NO:32 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H1 Kabat của kháng thể 3D6 chuột nhất.

SEQ ID NO:33 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H1 Chothia của kháng thể 3D6 chuột nhất.

SEQ ID NO:34 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H2 Chothia của kháng thể 3D6 chuột nhất.

SEQ ID NO:35 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H2 AbM của kháng thể 3D6 chuột nhất.

SEQ ID NO:36 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L1 Contact của kháng thể 3D6 chuột nhất.

SEQ ID NO:37 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Contact của kháng thể 3D6 chuột nhất.

SEQ ID NO:38 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L3 Contact của kháng thể 3D6 chuột nhất.

SEQ ID NO:39 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H1 Contact của kháng thể 3D6 chuột nhất.

SEQ ID NO:40 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H2 Contact của kháng thể 3D6 chuột nhất.

SEQ ID NO:41 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H3 Contact của kháng thể 3D6 chuột nhất.

SEQ ID NO:42 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H1 Tổ hợp Kabat-Chothia khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VHv5, hu3D6VHv1bA11B6G2, hu3D6VHv1bA11B6H3, hu3D6VHv1e, và hu3D6VHv1f).

SEQ ID NO:43 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H2 Kabat khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VHv5 và hu3D6VHv1bA11B6H3).

SEQ ID NO:44 thể hiện trình tự axit amin liên ứng trong số các vùng biến đổi chuỗi nặng của 3D6 chuột nhất và kháng thể 3D6 được làm tương thích với người được chọn

(VHv1, VHv2, VHv1b, VHv1bA11, và VHv5) (được gắn nhãn là “Chính” trên Hình 2 của PCT/IB2017/052544).

SEQ ID NO:45 thể hiện trình tự axit amin liên ứng giữa các vùng biến đổi chuỗi nhẹ của 3D6 chuột nhất và kháng thể 3D6 được làm tương thích với người được chọn (được gắn nhãn là “Chính” trên Hình 3 của PCT/IB2017/052544).

SEQ ID NO:46 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHv1bA11B6G2.

SEQ ID NO:47 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHv1bA11B6H3.

SEQ ID NO:48 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHv1c.

SEQ ID NO:49 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHv1d.

SEQ ID NO:50 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHv1e.

SEQ ID NO:51 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHv1f.

SEQ ID NO:52 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHv3.

SEQ ID NO:53 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHv3b.

SEQ ID NO:54 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHv3c.

SEQ ID NO:55 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHv4.

SEQ ID NO:56 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHv4b.

SEQ ID NO:57 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHv4c.

SEQ ID NO:58 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H1 Tổ hợp Kabat-Chothia khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VH1c).

SEQ ID NO:59 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H1 Tổ hợp Kabat-Chothia khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VHv1d, hu3D6VHv3c, và hu3D6VHv4c).

SEQ ID NO:60 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H1 Tổ hợp Kabat-Chothia khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VHv3b và hu3D6VHv4b).

SEQ ID NO:61 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H2 Kabat khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VHv1bA11B6G2).

SEQ ID NO:62 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H2 Kabat khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VHv1c, hu3D6VHv3b, và hu3D6VHv4b).

SEQ ID NO:63 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H2 Kabat khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VHv1d, hu3D6VHv1f, hu3D6VHv3c, và hu3D6VHv4c).

SEQ ID NO:64 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H2 Kabat khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VHv1e).

SEQ ID NO:65 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H3 Kabat khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VHv1f).

SEQ ID NO:66 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 6A10 chuột nhất.

SEQ ID NO:67 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H1 Tổ hợp Kabat/Chothia của kháng thể 6A10 chuột nhất.

SEQ ID NO:68 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H2 Kabat của kháng thể 6A10 chuột nhất.

SEQ ID NO:69 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H3 Kabat của kháng thể 6A10 chuột nhất.

SEQ ID NO:70 thể hiện trình tự axit amin của vùng VH của kháng thể chuột nhất (mã pdb 1CR9) dùng làm khuôn cấu trúc cho sự làm cho giống người của chuỗi nặng.

SEQ ID NO:71 thể hiện trình tự axit amin liên ứng trong số các vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người được chọn (VHv1, VHv1b, VHv1bA11, VHv1bA11B6G2, VHv1bA11B6H3, VHv1c, VHv1d, VHv1e, VHv1f, VHv2, VHv3, VHv3b, VHv3c, VHv4, VHv4b, VHv4c, và VHv5) (được gắn nhãn là “Chính” trên các Hình 4A và 4B của PCT/IB2017/052544).

SEQ ID NO:72 thể hiện trình tự axit amin của chuỗi nặng của kháng thể 3D6 khảm.

SEQ ID NO:73 thể hiện trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của kháng thể 3D6 khảm.

SEQ ID NO:74 thể hiện trình tự axit amin của mô hình cấu trúc biến đổi chuỗi nặng Acc.# 5MYX-VH_mSt.

SEQ ID NO:75 thể hiện trình tự axit amin của trình tự nhận biến đổi chuỗi nặng Acc.# 2RCS-VH_huFrwk.

SEQ ID NO:76 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHvb1.

SEQ ID NO:77 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHvb2.

SEQ ID NO:78 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHvb3.

SEQ ID NO:79 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHvb4.

SEQ ID NO:80 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHvb5.

SEQ ID NO:81 thể hiện trình tự axit amin của chuỗi nhẹ mô hình cấu trúc biến đổi Acc.# 5MYX-VL_mSt.

SEQ ID NO:82 thể hiện trình tự axit amin của trình tự nhận biến đổi chuỗi nhẹ Acc.# ARX71335-VL_huFrwk.

SEQ ID NO:83 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VLvb1.

SEQ ID NO:84 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VLvb2.

SEQ ID NO:85 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VLvb3.

SEQ ID NO:86 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H1 Tổ hợp Kabat-Chothia khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VHvb4 và hu3D6VHvb5).

SEQ ID NO:87 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H2 Kabat khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VHvb3 và hu3D6VHvb4).

SEQ ID NO:88 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H2 Kabat khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VHvb5).

SEQ ID NO:89 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L1 Kabat khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VLvb3).

SEQ ID NO:90 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHvb6.

SEQ ID NO:91 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHvb7.

SEQ ID NO:92 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H2 Kabat khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VHvb6 và hu3D6VHvb7).

SEQ ID NO:93 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54D.

SEQ ID NO:94 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54G.

SEQ ID NO:95 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L45N.

SEQ ID NO:96 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54E.

SEQ ID NO:97 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L50E.

SEQ ID NO:98 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54Q.

SEQ ID NO:99 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L50D.

SEQ ID NO:100 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54K.

SEQ ID NO:101 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54R.

SEQ ID NO:102 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54T.

SEQ ID NO:103 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L50G.

SEQ ID NO:104 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 I48G.

SEQ ID NO:105 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 I48D.

SEQ ID NO:106 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L47G.

SEQ ID NO:107 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 Y49E.

SEQ ID NO:108 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54V.

SEQ ID NO:109 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54S.

SEQ ID NO:110 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 S52G.

SEQ ID NO:111 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L47N.

SEQ ID NO:112 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L47D.

SEQ ID NO:113 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L47E.

SEQ ID NO:114 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L47P.

SEQ ID NO:115 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L47T.

SEQ ID NO:116 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L47S.

SEQ ID NO:117 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L47A.

SEQ ID NO:118 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L50V.

SEQ ID NO:119 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R.

SEQ ID NO:120 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G.

SEQ ID NO:121 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G.

SEQ ID NO:122 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R.

SEQ ID NO:123 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T.

SEQ ID NO:124 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D.

SEQ ID NO:125 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L54R.

SEQ ID NO:126 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L54G.

SEQ ID NO:127 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L54D.

SEQ ID NO:128 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L50G.

SEQ ID NO:129 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L50D.

SEQ ID NO:130 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L54T.

SEQ ID NO:131 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G.

SEQ ID NO:132 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G.

SEQ ID NO:133 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R.

SEQ ID NO:134 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G.

SEQ ID NO:135 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R.

SEQ ID NO:136 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q.

SEQ ID NO:137 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q.

SEQ ID NO:138 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q.

SEQ ID NO:139 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q.

SEQ ID NO:140 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q.

SEQ ID NO:141 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q.

SEQ ID NO:142 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q.

SEQ ID NO:143 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q.

SEQ ID NO:144 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 G100Q.

SEQ ID NO:145 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L54E.

SEQ ID NO:146 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của biến thể hu3D6VHv1bA11 D60E, còn được gọi là h3D6VHvb8.

SEQ ID NO:147 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của biến thể hu3D6VHv1bA11 L82cV.

SEQ ID NO:148 thể hiện trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của biến thể hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R, còn được gọi là h3D6VHvb9.

SEQ ID NO:149 thể hiện trình tự axit amin của CDR-H2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở h3D6VHvb8 và ở h3D6VHvb9).

SEQ ID NO:150 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54D và ở hu3D6VLv2 L37Q_L54D).

SEQ ID NO:151 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54G và ở hu3D6VLv2 L37Q_L54G).

SEQ ID NO:152 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54N).

SEQ ID NO:153 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54E và ở hu3D6VLv2 L37Q_L54E).

SEQ ID NO:154 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L50E).

SEQ ID NO:155 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54Q).

SEQ ID NO:156 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L50D và ở hu3D6VLv2 L37Q_L50D).

SEQ ID NO:157 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54K).

SEQ ID NO:158 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54R và ở hu3D6VLv2 L37Q_L54R).

SEQ ID NO:159 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54T và ở hu3D6VLv2 L37Q_L54T).

SEQ ID NO:160 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L50G và ở hu3D6VLv2 L37Q_L50G).

SEQ ID NO:161 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54V).

SEQ ID NO:162 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54S).

SEQ ID NO:163 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 S52G và ở hu3D6VLv2 L37Q_S52G).

SEQ ID NO:164 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L50V).

SEQ ID NO:165 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R và hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q).

SEQ ID NO:166 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G và ở và ở hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q).

SEQ ID NO:167 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G).

SEQ ID NO:168 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R và ở và ở hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q).

SEQ ID NO:169 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T).

SEQ ID NO:170 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D và ở hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q).

SEQ ID NO:171 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G và ở hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q).

SEQ ID NO:172 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R và ở hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q).

SEQ ID NO:173 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G).

SEQ ID NO:174 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R).

SEQ ID NO:175 thể hiện trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q).

SEQ ID NO:176 thể hiện trình tự axit amin của vùng hằng định chuỗi nặng (IgG1: alotyp G1m17,1)

SEQ ID NO:177 thể hiện trình tự axit amin của vùng hằng định chuỗi nhẹ (kapa)

SEQ ID NO:178 thể hiện trình tự axit amin của chuỗi nặng trưởng thành của biến thể được làm tương thích với người 3D6 (alotyp hu3D6VHv1bA11 IgG1 G1m17)

SEQ ID NO:179 thể hiện trình tự axit amin của chuỗi nhẹ trưởng thành của biến thể được làm tương thích với người 3D6 (biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R, L2-DIM4 kapa)

SEQ ID NO:180 thể hiện trình tự axit amin của chuỗi nặng của biến thể được làm tương thích với người 3D6 (alotyp hu3D6VHv1bA11 IgG1 G1m17) với peptit tín hiệu alpha-lactalbumin bò ở đầu cùng N

SEQ ID NO:181 thể hiện trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của biến thể được làm tương thích với người 3D6 (biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R, L2-DIM4 kapa) với peptit tín hiệu alpha-lactalbumin bò ở đầu cùng N.

SEQ ID NO:182 thể hiện trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng của biến thể được làm tương thích với người 3D6 (alotyp hu3D6VHv1bA11 IgG1 G1m17) với peptit tín hiệu alpha-lactalbumin bò ở đầu cùng N

SEQ ID NO:183 thể hiện trình tự nucleotit mã hóa a chuỗi nhẹ của biến thể được làm tương thích với người 3D6 (biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R, L2-DIM4 kapa) với peptit tín hiệu alpha-lactalbumin bò ở đầu cùng N

SEQ ID NO:184 thể hiện trình tự axit amin của một vùng của đoạn lặp liên kết vi ống tau 1 (các gốc axit amin 255-271 nêu trong SEQ ID NO:1)

SEQ ID NO:185 thể hiện trình tự axit amin của một vùng của đoạn lặp liên kết vi ống tau 2 (các gốc axit amin 286-302 nêu trong SEQ ID NO:1)

SEQ ID NO:186 thể hiện trình tự axit amin của một vùng của đoạn lặp liên kết vi ống tau 3 (các gốc axit amin 317-333 nêu trong SEQ ID NO:1)

SEQ ID NO:187 thể hiện trình tự axit amin của một vùng của đoạn lặp liên kết vi ống tau 4 (các gốc axit amin 349-365 nêu trong SEQ ID NO:1)

SEQ ID NO:188 thể hiện trình tự axit amin của motif lõi của tau trong MBTR 1 được liên kết bởi 3D6

SEQ ID NO:189 thể hiện trình tự axit amin của trình tự tau đầu cùng N đến motif lõi của tau trong MBTR 1 được liên kết bởi 3D6

SEQ ID NO:190 thể hiện trình tự axit amin của trình tự tau đầu cùng C đến motif lõi của tau trong MBTR 1 được liên kết bởi 3D6

SEQ ID NO:191 thể hiện trình tự axit amin của epitop của 3D6

SEQ ID NO:192 thể hiện trình tự axit amin của motif lõi của tau trong MBTR 2 được liên kết bởi 3D6

SEQ ID NO:193 thể hiện trình tự axit amin của motif lõi của tau trong MBTR 3 được liên kết bởi 3D6

SEQ ID NO:194 thể hiện trình tự axit amin của motif lõi của tau trong MBTR 4 được liên kết bởi 3D6

Định nghĩa

Các kháng thể đơn dòng hoặc các thực thể sinh học khác thường được cung cấp ở dạng đã phân lập. Điều này có nghĩa là kháng thể hoặc thực thể sinh học khác thường tinh khiết ít nhất là 50% khối lượng/khối lượng đối với các protein nhiễu và các tạp chất khác sinh ra từ quá trình sản xuất hoặc tinh chế nó nhưng không loại trừ khả năng là kháng thể đơn dòng này được kết hợp với lượng dư (các) chất mang được dùng hoặc tá được lỏng khác được dự định tạo thuận lợi cho việc sử dụng nó. Đôi khi, các kháng thể đơn dòng tinh khiết ít nhất là 60%, 70%, 80%, 90%, 95% hoặc 99% khối lượng/khối lượng đối với protein nhiễu và các tạp chất từ quá trình sản xuất hoặc tinh chế. Thông thường, kháng thể đơn dòng đã phân lập hoặc thực thể sinh học khác là dạng đại phân tử chiếm ưu thế còn lại sau khi tinh chế nó.

Liên kết đặc hiệu của kháng thể với kháng nguyên đích của nó có nghĩa là ái lực và/hoặc lực hấp dẫn ít nhất là 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} , hoặc 10^{12} M⁻¹. Liên kết đặc hiệu là liên kết mạnh hơn có thể phát hiện được và phân biệt được với liên kết không đặc hiệu xảy ra với ít nhất là một đích không liên quan. Liên kết đặc hiệu có thể là kết quả của sự

tạo thành các liên kết giữa các nhóm chức cụ thể hoặc sự ăn khớp đặc thù trong không gian (ví dụ như, kiểu ổ khóa và chìa khóa) trong khi đó liên kết không đặc hiệu thường là kết quả của lực van der Waals. Tuy nhiên liên kết đặc hiệu không nhất thiết có nghĩa là kháng thể liên kết với một và chỉ một đích.

Đơn vị cấu trúc kháng thể cơ bản là tetrame của các tiểu đơn vị. Mỗi tetrame bao gồm hai cặp giống nhau của chuỗi polypeptit, mỗi cặp có một chuỗi "nhẹ" (khoảng 25 kD) và một chuỗi "nặng" (khoảng 50-70 kD). Phần đầu cùng amino của mỗi chuỗi bao gồm vùng biến đổi có khoảng từ 100 đến 110 hoặc nhiều axit amin hơn chịu trách nhiệm chính cho sự nhận diện kháng nguyên. Vùng biến đổi này ban đầu được biểu hiện liên kết với peptit tín hiệu cắt được. Vùng biến đổi không có peptit tín hiệu đôi khi được gọi là vùng biến đổi trưởng thành. Vì vậy, ví dụ, vùng biến đổi trưởng thành chuỗi nhẹ có nghĩa là vùng biến đổi chuỗi nhẹ không có peptit tín hiệu chuỗi nhẹ. Phần đầu cùng carboxy của mỗi chuỗi xác định vùng hằng định chủ yếu chịu trách nhiệm cho chức năng tác động.

Chuỗi nhẹ được phân loại thành kapa hoặc lamda. Chuỗi nặng được phân loại là gama, mu, alpha, delta, hoặc epsilon, và lần lượt xác định isotyp của kháng thể là IgG, IgM, IgA, IgD và IgE. Trong các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng, các vùng biến đổi và vùng hằng định được nối bằng vùng "J" chứa khoảng 12 axit amin hoặc nhiều axit amin hơn, với chuỗi nặng còn bao gồm vùng "D" chứa khoảng 10 axit amin hoặc nhiều axit amin hơn. Xem tổng quan, *Fundamental Immunology*, Paul, W., ed., tái bản lần thứ 2. Raven Press, N.Y., 1989, Ch. 7 (được đưa toàn bộ nội dung vào đây bằng cách viện dẫn cho mọi mục đích).

Vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng globulin miễn dịch (còn được gọi ở đây lần lượt là “miền biến đổi chuỗi nhẹ” (“miền VL”) hoặc “miền biến đổi chuỗi nặng” (“miền VH”)) chứa vùng “khung” bị gián đoạn bởi ba “vùng xác định tính bổ sung” hay “CDR”. Các vùng khung phục vụ việc sắp xếp thẳng hàng các CDR để liên kết đặc hiệu với epitop của kháng nguyên. Các CDR bao gồm các gốc axit amin của kháng thể mà chịu trách nhiệm chính đối với sự liên kết kháng nguyên. Từ đầu cùng amino đến đầu cùng carboxyl, cả hai miền VL và VH có chứa các vùng khung (FR) và CDR sau đây: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, và FR4. Các CDR 1, 2, và 3 của miền VL trong bản mô tả này lần lượt còn được đề cập đến dưới dạng CDR-L1, CDR-L2, và CDR-L3; các CDR 1, 2, và 3 của miền VH trong bản mô tả này lần lượt còn được đề cập đến dưới dạng CDR-H1, CDR-H2, và CDR-H3. Khi đơn vị này bộc lộ trình tự VL với R làm gốc đầu cùng C, R có thể theo cách

khác được coi là gốc đầu cùng N của vùng hằng định chuỗi nhẹ. Do đó, đơn này cũng cần được hiểu là bộ lộ trình tự VL mà không có R đầu cùng C.

Sự gán của các axit amin vào mỗi miền VL và VH là theo định nghĩa theo quy ước bất kỳ của CDR. Các định nghĩa theo quy ước bao gồm, định nghĩa Kabat (Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1987 và 1991), định nghĩa Chothia (Chothia & Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917, 1987; Chothia và đồng tác giả, Nature 342:878-883, 1989); tổ hợp của CDR Chothia Kabat trong đó CDR-H1 là tổ hợp của các CDR Chothia và Kabat; định nghĩa AbM được sử dụng bởi phần mềm lập mô hình kháng thể của Oxford Molecular; và, định nghĩa contact của Martin và đồng tác giả (bioinfo.org.uk/abs) (xem Bảng 1). Kabat đề xuất quy ước đánh số được sử dụng rộng rãi (cách đánh số Kabat) trong đó các gốc tương ứng giữa các chuỗi nặng khác nhau hoặc giữa các chuỗi nhẹ khác nhau được gán cùng số. Khi kháng thể được nói là có chứa các CDR theo định nghĩa nhất định của các CDR (ví dụ như, Kabat) thì định nghĩa này xác định số lượng nhỏ nhất của các gốc CDR có mặt trong kháng thể (tức là, các CDR Kabat). Nó không loại trừ việc các gốc khác nằm trong định nghĩa CDR thông thường khác nhưng nằm ngoài định nghĩa xác định cũng có mặt. Ví dụ như, kháng thể có chứa các CDR được định nghĩa bởi Kabat bao gồm trong số các khả năng xảy ra khác, kháng thể trong đó các CDR chứa các gốc CDR Kabat và không có các gốc CDR khác, và kháng thể trong đó CDR H1 là CDR H1 tổ hợp Chothia-Kabat và các CDR khác chứa các gốc CDR Kabat và không có các gốc CDR khác dựa trên các định nghĩa khác.

Bảng 1

Các định nghĩa theo quy ước của CDR sử dụng cách đánh số Kabat

Vòng	Kabat	Chothia	Tổ hợp của Chothia & Kabat	AbM	Contact
L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36
L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55
L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96
H1	H31--H35B	H26-- H32..H34*	H26--H35B*	H26-- H35B	H30-- H35B
H2	H50--H65	H52--H56	H50--H65	H50--H58	H47--H58
H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H95-- H102	H93-- H101

*CDR-H1 theo Chothia có thể kết thúc ở H32, H33, hoặc H34 (tùy theo độ dài của vòng). Đó là vì sơ đồ đánh số Kabat đặt sự cài xen của gốc thêm vào ở 35A và 35B, trong khi đó cách đánh số Chothia đặt chúng ở 31A và 31B. Nếu cả H35A và H35B (đánh số Kabat) không có mặt, vòng Chothia CDR-H1 kết thúc ở H32. Nếu chỉ H35A có mặt, nó kết thúc ở H33. Nếu cả H35A và H35B có mặt, nó kết thúc ở H34.

Thuật ngữ “kháng thể” bao gồm các kháng thể không hoạt động và các đoạn liên kết của chúng. Thông thường, các đoạn cạnh tranh với kháng thể không hoạt động mà từ đó thu được chúng để liên kết đặc hiệu với đích bao gồm các chuỗi nặng riêng biệt, các chuỗi nhẹ riêng biệt Fab, Fab', F(ab')₂, F(ab)₂c, Dab, nanobody, và Fv. Các đoạn có thể được sản xuất bằng kỹ thuật ADN tái tổ hợp, hoặc bằng cách tách enzym hoặc hóa học của globulin miễn dịch nguyên vẹn. Thuật ngữ “kháng thể” còn bao gồm kháng thể đặc hiệu kép và/hoặc kháng thể được làm tương thích với người. Kháng thể đặc hiệu kép hoặc hai chức năng là kháng thể lai nhân tạo có hai cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ khác nhau và hai vị

trí liên kết khác nhau (xem, ví dụ như, Songsivilai và Lachmann, Clin. Exp. Immunol., 79:315-321 (1990); Kostelny và đồng tác giả, J. Immunol., 148:1547-53 (1992)). Trong một số kháng thể đặc hiệu kép, hai cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ khác nhau bao gồm cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ 3D6 được làm tương thích với người và cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ đặc hiệu đối với epitop khác trên tau mà khác với epitop được liên kết bởi 3D6.

Trong một số kháng thể đặc hiệu kép, một cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ là kháng thể 3D6 được làm tương thích với người như được bộc lộ thêm dưới đây và cặp chuỗi nặng/chuỗi nhẹ khác là từ kháng thể mà liên kết với thụ thể được biểu hiện trên hàng rào máu não, chẳng hạn như thụ thể insulin, thụ thể yếu tố sinh trưởng giống insulin (insulin-like growth factor - IGF), thụ thể leptin, hoặc thụ thể lipoprotein, hoặc thụ thể transferin (Friden và đồng tác giả, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:4771-4775, 1991; Friden và đồng tác giả, Science 259:373-377, 1993). Kháng thể đặc hiệu kép này có thể được chuyển qua hàng rào máu não bằng cách chuyển bào qua trung gian thụ thể. Sự hấp thụ của não của kháng thể đặc hiệu kép có thể được tăng cường thêm bằng cách thiết kế kháng thể đặc hiệu kép để làm giảm ái lực của nó đối với thụ thể hàng rào máu não. Ái lực giảm đi đối với thụ thể dẫn đến sự phân bố rộng hơn trong não (xem, ví dụ như, Atwal và đồng tác giả, Sci. Trans. Med. 3, 84ra43, 2011; Yu và đồng tác giả, Sci. Trans. Med. 3, 84ra44, 2011).

Kháng thể đặc hiệu kép ví dụ cũng có thể là: (1) kháng thể miền biến đổi kép (DVD-Ig), trong đó mỗi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng chứa hai miền biến đổi nối tiếp nhau thông qua liên kết peptit ngắn (Wu và đồng tác giả, Generation and Characterization of a Dual Variable Domain Immunoglobulin (DVD-Ig™) Molecule, In: Antibody Engineering, Springer Berlin Heidelberg (2010)); (2) Tandab, mà là thể dung hợp của hai diabody đơn chuỗi dẫn đến kháng thể đặc hiệu kép hóa trị bốn mà có hai vị trí liên kết đối với mỗi kháng nguyên đích; (3) thể linh hoạt, mà là dạng kết hợp của các scFv với diabody dẫn đến phân tử đa hóa trị; (4) phân tử được gọi là phân tử “neo và khóa”, dựa trên “miền dime hóa và neo” ở Protein Kinase A, mà khi được áp dụng cho các Fab, có thể tạo ra protein liên kết đặc hiệu kép hóa trị ba chứa hai đoạn Fab giống nhau liên kết với một đoạn Fab khác; hoặc (5) phân tử được gọi là Bộ cặp (Scorpion), có chứa, ví dụ như, hai scFv dung hợp với cả hai đầu tận cùng của vùng Fc người. Ví dụ về các nền tảng hữu ích để tạo ra kháng thể đặc hiệu kép bao gồm BiTE (Micromet), DART (MacroGenics), Fcab và Mab2 (F-star), IgG1 được thiết kế Fc (Xencor) hoặc DuoBody (dựa trên sự trao đổi nhánh Fab, Genmab).

Thuật ngữ “epitop” dùng để chỉ vị trí trên kháng nguyên mà kháng thể liên kết với. Epitop có thể được tạo thành từ các axit amin liên kề hoặc các axit amin không liên kề được đặt cạnh nhau nhờ sự cuộn gấp bậc ba của một hoặc nhiều protein. Các epitop được tạo thành từ các axit amin liên kề (còn gọi là epitop tuyến tính) thường được giữ lại khi lộ ra với dung môi biến tính, trong khi các epitop được hình thành bằng cách cuộn gấp bậc ba (còn gọi là epitop cấu hình) thường bị mất đi khi xử lý bằng dung môi biến tính. Epitop thường bao gồm ít nhất 3, và thông thường hơn, ít nhất 5 hoặc 8-10 axit amin trong cấu hình không gian đơn nhất. Phương pháp xác định cấu hình không gian của epitop bao gồm, ví dụ như, phương pháp tinh thể học tia x và cộng hưởng từ hạt nhân 2 chiều. Xem, ví dụ, Epitope Mapping Protocols, in *Methods in Molecular Biology*, Vol. 66, Glenn E. Morris, Ed. (1996).

Các kháng thể nhận diện cùng epitop hoặc các epitop gối lên nhau có thể được xác định trong thử nghiệm miễn dịch đơn giản thể hiện khả năng của một kháng thể để cạnh tranh với sự liên kết của kháng thể khác với kháng nguyên đích. Epitop của kháng thể cũng có thể được xác định tinh thể học tia X của kháng thể liên kết với kháng nguyên của nó để xác định các gốc contact. Ngoài ra, hai kháng thể có cùng epitop nếu tất cả các đột biến axit amin trong kháng nguyên mà làm giảm hoặc làm suy yếu sự liên kết của một kháng thể cũng làm giảm hoặc làm suy yếu sự liên kết của kháng thể khác. Hai kháng thể có các epitop gối lên nhau nếu một số đột biến axit amin mà làm giảm hoặc làm suy yếu sự liên kết của một kháng thể cũng làm giảm hoặc làm suy yếu sự liên kết của kháng thể khác.

Sự cạnh tranh giữa các kháng thể được xác định bằng thử nghiệm trong đó kháng thể đang được thử nghiệm ức chế sự liên kết đặc hiệu của kháng thể tham chiếu với kháng nguyên chung (xem, ví dụ như, Junghans và đồng tác giả, *Cancer Res.* 50:1495, 1990). Kháng thể thử nghiệm cạnh tranh với kháng thể tham chiếu nếu lượng dư của kháng thể thử nghiệm (ví dụ như, ít nhất là 2x, 5x, 10x, 20x hoặc 100x) ức chế sự liên kết của kháng thể tham chiếu ít nhất là 50% như đo được trong thử nghiệm liên kết cạnh tranh. Một số kháng thể thử nghiệm ức chế sự liên kết của kháng thể tham chiếu ít nhất là 75%, 90% hoặc 99%. Kháng thể được nhận diện bằng thử nghiệm cạnh tranh (kháng thể cạnh tranh) bao gồm kháng thể liên kết với cùng epitop như kháng thể tham chiếu và kháng thể liên kết với epitop liên kề đủ gần với epitop được liên kết bởi kháng thể tham chiếu để xảy ra sự cản trở không gian.

Thuật ngữ “dược dụng” có nghĩa là chất mang, chất pha loãng, tá dược hoặc chất hỗ trợ là tương thích với các thành phần còn lại của chế phẩm này và gần như không độc với người nhận nó.

Thuật ngữ “bệnh nhân” bao gồm người và các đối tượng là động vật có vú khác nhận được điều trị phòng bệnh hoặc chữa bệnh.

Cá thể có nguy cơ mắc bệnh tăng nếu đối tượng này có ít nhất là một yếu tố-nguy cơ đã biết (ví dụ như, tiền sử di truyền, sinh hóa, gia đình, và tiếp xúc tình huống) đặt các cá thể có yếu tố nguy cơ đó vào nguy cơ phát triển bệnh cao hơn có ý nghĩa thống kê so với các cá thể không có yếu tố nguy cơ này.

Thuật ngữ “mẫu sinh học” dùng để chỉ mẫu chứa nguyên liệu sinh học nằm trong hoặc có thể thu được từ nguồn sinh học, ví dụ, người hoặc đối tượng là động vật có vú. Các mẫu này có thể là các cơ quan, các cơ quan bào, mô, các lát cắt mô, dịch cơ thể, máu ngoại vi, huyết tương máu, huyết thanh máu, tế bào, phân tử như protein và peptit, và các phần bất kỳ hoặc tổ hợp bất kỳ thu được từ chúng. Thuật ngữ mẫu sinh học cũng có thể bao gồm nguyên liệu bất kỳ thu được bằng cách xử lý mẫu này. Nguyên liệu thu được có thể bao gồm các tế bào hoặc dòng con của chúng. Phương pháp xử lý mẫu sinh học này có thể bao gồm một hoặc nhiều trong số các bước lọc, chưng cất, chiết, cô đặc, cố định, bất hoạt các thành phần gây nhiễu, và tương tự.

Thuật ngữ “mẫu đối chứng” dùng để chỉ mẫu sinh học chưa biết hoặc không bị nghi ngờ là chứa các vùng bị tác động bởi bệnh liên quan đến tau, hoặc ít nhất không được biết hoặc bị nghi ngờ là chứa các vùng bị bệnh thuộc loại đã đưa ra. Các mẫu đối chứng có thể thu được từ các cá thể không bị mắc bệnh liên quan đến tau. Ngoài ra, các mẫu đối chứng có thể thu được từ các bệnh nhân bị nhiễm bệnh liên quan đến tau. Các mẫu này có thể thu được cùng một lúc với mẫu sinh học được cho là mang bệnh liên quan đến tau hoặc vào một thời điểm khác. Mẫu sinh học và mẫu đối chứng có thể đều thu được từ cùng một mô. Tốt hơn là, các mẫu đối chứng chủ yếu chứa hoặc chứa hoàn toàn các vùng bình thường, khỏe mạnh và có thể được sử dụng để so sánh với mẫu sinh học được cho là chứa các vùng bị mắc bệnh liên quan đến tau. Tốt hơn là, mô trong mẫu đối chứng thuộc cùng một loại với mô trong mẫu sinh học. Tốt hơn là, các tế bào bị tác động bởi bệnh liên quan đến tau được cho là nằm trong mẫu sinh học sinh ra từ cùng một loại tế bào (ví dụ như, neuron hoặc tế bào thần kinh đệm) với loại tế bào trong mẫu đối chứng.

Thuật ngữ "bệnh" dùng để chỉ điều kiện bất thường bất kỳ làm suy yếu chức năng sinh lý. Thuật ngữ này được sử dụng rộng rãi để bao gồm rối loạn, mệt mỏi, sự bất thường, bệnh, ốm, tình trạng, hoặc hội chứng bất kỳ trong đó chức năng sinh lý bị suy giảm, bất kể bản chất của nguyên nhân.

Thuật ngữ "triệu chứng" đề cập đến bằng chứng chủ quan của bệnh, như đáng đi thay đổi, như được cảm nhận bởi đối tượng. "Dấu hiệu" đề cập đến bằng chứng khách quan của bệnh như được quan sát bởi bác sĩ điều trị.

Thuật ngữ "đáp ứng tích cực với điều trị" đề cập đến đáp ứng tốt hơn ở một bệnh nhân đơn lẻ hoặc đáp ứng trung bình tốt hơn trong một quần thể bệnh nhân so với đáp ứng trung bình trong quần thể đối chứng không nhận được điều trị.

Để phân loại sự thể axit amin là bảo toàn hay không bảo toàn, các axit amin được chia thành các nhóm sau: Nhóm I (các chuỗi bên kỵ nước): met, ala, val, leu, ile; Nhóm II (các chuỗi bên trung tính ưa nước): xys, ser, thr; Nhóm III (các chuỗi bên axit): asp, glu; Nhóm IV (các chuỗi bên bazơ): asn, gln, his, lys, arg; Nhóm V (các gốc ảnh hưởng đến hướng của chuỗi): gly, pro; và Nhóm VI (các chuỗi bên thơm): trp, tyr, phe. Sự thể bảo toàn bao gồm sự thay thế giữa các axit amin trong cùng một nhóm. Sự thể không bảo toàn là sự thay thế thành viên của một trong các nhóm này cho một thành viên thuộc nhóm khác.

Tỷ lệ phần trăm tương đồng trình tự được xác định với các trình tự kháng thể được sắp xếp thẳng hàng tối đa theo quy ước đánh số Kabat. Sau khi sắp xếp thẳng hàng, nếu vùng kháng thể cần quan tâm (ví dụ như, toàn bộ vùng biến đổi trưởng thành của chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ) được so sánh với cùng vùng đó của kháng thể tham chiếu, thì tỷ lệ phần trăm đồng nhất trình tự giữa vùng kháng thể cần quan tâm và vùng kháng thể tham chiếu là số lượng các vị trí bị chiếm bởi cùng một axit amin ở cả vùng kháng thể cần quan tâm và vùng kháng thể tham chiếu chia cho tổng số vị trí được sắp xếp thẳng hàng của hai vùng này, không tính các khoảng trống, nhân với 100 để chuyển thành tỷ lệ phần trăm.

Các hợp phần hoặc phương pháp "có chứa" hoặc "bao gồm" một hoặc nhiều yếu tố đã đề cập có thể bao gồm các yếu tố khác mà chưa được đề cập cụ thể. Ví dụ, hợp phần "có chứa" hoặc "bao gồm" kháng thể có thể chứa một mình kháng thể này hoặc kết hợp với các thành phần khác. Khi bản mô tả này đề cập đến một đặc điểm bao gồm các yếu tố cụ thể, thì nên hiểu là bản mô tả này đề cập đến đặc điểm về cơ bản bao gồm hoặc gồm có các phần tử cụ thể này.

Việc chỉ ra khoảng giá trị bao gồm tất cả các số nguyên nằm trong hoặc xác định khoảng này, và tất cả các khoảng con được xác định bởi các số nguyên nằm trong khoảng này.

Trừ khi ngữ cảnh chỉ ra rõ ràng, thuật ngữ “khoảng” bao gồm các biên đổi không đáng kể, như các giá trị nằm trong biên sai số chuẩn của phép đo (ví dụ như, SEM) của giá trị đã cho.

Ý nghĩa thống kê có nghĩa là $p \leq 0,05$.

Dạng số ít của đối tượng “một” (“a”, “an,” và “the”) cũng bao gồm cả số nhiều trừ khi có quy định khác một cách rõ ràng. Ví dụ, thuật ngữ “hợp chất” hoặc “ít nhất là một hợp chất” có thể bao gồm nhiều hợp chất, bao gồm các hỗn hợp của chúng.

Mô tả chi tiết sáng chế

I. Tổng quan

Sáng chế đề xuất kháng thể liên kết với tau. Một số kháng thể liên kết đặc hiệu với epitop hoặc các epitop trong miền liên kết vi ống (MTBR) của tau người được xác định bằng khoảng các gốc 244 đến 372 nêu trong SEQ ID NO:1. Do miền MTBR chứa đoạn lặp trình tự, một kháng thể duy nhất có thể liên kết tại nhiều vị trí lặp trong miền này. Một số kháng thể liên kết đặc hiệu với epitop của KXXSXXNX(K/H)H (SEQ ID NO:191). Một số kháng thể liên kết trong các gốc 199-213 và/hoặc 262-276 nêu trong SEQ ID NO:3 (lần lượt tương ứng với các gốc 257-271 hoặc 320-334 nêu trong SEQ ID NO:1). Một số kháng thể liệt kê trong các gốc 259-268 và/hoặc 290-299 và/hoặc 321-330 và/hoặc 353-362 nêu trong SEQ ID NO:1. Trong một số kháng thể, liên kết với miền MTBR 4 tại các gốc 353-362 yếu hơn so với liên kết với các MTBR 1, 2 và 3. Một số kháng thể liên kết với tau bất kể trạng thái phosphoryl hóa. Một số kháng thể theo sáng chế có tác dụng ức chế hoặc làm chậm bệnh học liên quan đến tau và làm giảm triệu chứng kèm theo. Mặc dù không cần thiết phải hiểu cơ chế để thực hành sáng chế, sự giảm độc tính có thể xảy ra do kháng thể này cảm ứng hiện tượng thực bào tau, ức chế tau kết tụ trong phân tử hoặc giữa các phân tử, hoặc ức chế sự liên kết với các phân tử khác, bằng cách làm ổn định cấu hình không gây độc, bằng cách ức chế sự truyền các dạng tau gây bệnh trong tế bào hoặc giữa các tế bào, bằng cách phong bế sự phosphoryl hóa tau, bằng cách ngăn cản sự liên kết của tau với các tế bào, hoặc bằng cách cảm ứng sự cắt phân giải protein tau, trong số các cơ chế khác. Các kháng thể theo sáng chế hoặc các chất cảm ứng các kháng thể này có thể được sử dụng

trong các phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh Alzheimer và các bệnh khác gây ra bởi tau.

II. Các phân tử đích

Trừ khi ngữ cảnh chỉ ra rõ ràng, việc đề cập đến tau có nghĩa là dạng tự nhiên của người của tau bao gồm tất cả các đồng dạng bất kể biến đổi sau dịch mã (*ví dụ như*, phosphoryl hóa, đường hóa, hoặc axetyl hóa) có mặt hay không. Có sáu đồng dạng chính (các biến thể cắt) của tau xuất hiện trong não người. Đồng dạng dài nhất trong số các biến thể này có 441 axit amin, trong đó gốc met ban đầu bị cắt đi. Các gốc được đánh số theo đồng dạng 441 này. Do đó, ví dụ, việc đề cập đến phosphoryl hóa ở vị trí 404 có nghĩa là vị trí 404 của đồng dạng 441, hoặc vị trí tương ứng của đồng dạng khác bất kỳ khi được bắt cặp tối đa với đồng dạng 441. Các trình tự axit amin của các đồng dạng và các số Swiss-Prot được chỉ ra dưới đây.

P10636-8 (SEQ ID NO:1)

10	20	30	40	50	60
MAEPRQEFEV	MEDHAGTYGL	GDRKDQGGYT	MHQDQEGDTD	AGLKESPLQT	PTEDGSEEPG
70	80	90	100	110	120
SETSDAKSTP	TAEDVTAPLV	DEGAPGKQAA	AQPHTEIPEG	TTAEEAGIGD	TPSLEDEAAG
130	140	150	160	170	180
HVTQARMVSK	SKDGTGSDDK	KAKGADGKTK	IATPRGAAPP	GQKGQANATR	IPAKTPPAPK
190	200	210	220	230	240
TPPSSGEPK	SGDRSGYSSP	GSPGTPGSR	RTPSLPTPPT	REPKKVAVVR	TPPKSPSSAK
250	260	270	280	290	300
SRLQTAPVPM	PDLKNVSKI	GSTENLKHQP	GGGKVQIINK	KLDLSNVQSK	CGSKDNIKHV
310	320	330	340	350	360
PGGGSVQIVY	KPVDLSKVT	KCGSLGNIHH	KPGGGQVEVK	SEKLDLFKDRV	QSKIGSLDNI
370	380	390	400	410	420
THVPPGGNKK	IETHKLTFRE	NAKAKTDHGA	EIVYKSPVVS	GDTSPRHLSN	VSSTGSIDMV
430	440				
DSPQLATLAD	EVSASLAKQG	L			

P10636-7 (SEQ ID NO:2)

10	20	30	40	50	60
MAEPRQEFEV	MEDHAGTYGL	GDRKDQGGYT	MHQDQEGDTD	AGLKESPLQT	PTEDGSEEPG
70	80	90	100	110	120
SETSDAKSTP	TAAEEAGIG	DTPSLEDEAA	GHVTQARMVS	KSKDGTGSDD	KKAKGADGKT
130	140	150	160	170	180
KIATPRGAAP	PGQKGQANAT	RIPAKTPPAP	KTPPSSGEP	KSGDRSGYSS	PGSPGTPGSR
190	200	210	220	230	240
SRTPSLPTPP	TREPKKVAVV	RTPPKSPSSA	KSRLQTAPVP	MPDLKNVSK	IGSTENLKHQ
250	260	270	280	290	300
PGGGKVQIIN	KKLDLSNVQS	KCGSKDNIKH	VPGGGSVQIV	YKPVDLSKVT	SKCGSLGNIH
310	320	330	340	350	360
HKPGGGQVEV	KSEKLDLFKDR	VQSKIGSLDN	ITHVPPGGNK	KIETHKLTFR	ENAKAKTDHG
370	380	390	400	410	

AEIVYKSPVV SGDTSPRHLS NVSSTGSIDM VDSPQLATLA DEVSASLAKQ GL

P10636-6 (4R0N tau người) (SEQ ID NO:3)

10	20	30	40	50	60
MAEPRQEFEV	MEDHAGTYGL	GDRKDQGGYT	MHQDQEGDTD	AGLKAEEAGI	GDTPSLEDEA
70	80	90	100	110	120
AGHVTQARMV	SKSKDGTGSD	DKKAKGADGK	TKIATPRGAA	PPGQKGQANA	TRIPAKTPPA
130	140	150	160	170	180
PKTPPSSGEP	PKSGDRSGYS	SPGSPGTPGS	RSRTPSLPTP	PTREPKKVAV	VRTPPKSPSS
190	200	210	220	230	240
AKSRLQTAPV	PMPDLKNVKS	KIGSTENLKH	QPGGGKVQII	NKKLDLSNVQ	SKCGSKDNIK
250	260	270	280	290	300
HVPGGGSVQI	VYKPVDSLKV	TSKCGSLGNI	HHKPGGGQVE	VKSEKLDFKD	RVQSKIGSLD
310	320	330	340	350	360
NITHVPGGGN	KKIETHKLTF	RENAKAKTDH	GAEIVYKSPV	VSGDTSPRHL	SNVSSTGSID
370	380				
MVDSPQLATL	ADEVASLAK	QGL			

P10636-5 (SEQ ID NO:4)

10	20	30	40	50	60
MAEPRQEFEV	MEDHAGTYGL	GDRKDQGGYT	MHQDQEGDTD	AGLKESPLQT	PTEDGSEEPG
70	80	90	100	110	120
SETSDAKSTP	TAEDVTAPLV	DEGAPGKQAA	AQPHTEIPEG	TTAEEAGIGD	TPSLEDEAAG
130	140	150	160	170	180
HVTQARMVSK	SKDGTGSDDK	KAKGADGKTK	IATPRGAAPP	GQKGQANATR	IPAKTPPAPK
190	200	210	220	230	240
TPPSSGEPPK	SGDRSGYSSP	GSPGTPGSRS	RTPSLPTPPT	REPKKVAVVR	TPPKSPSSAK
250	260	270	280	290	300
SRLQTAPVPM	PDLKNVKSII	GSTENLKHQP	GGGKVQIVYK	PVDLSKVTSK	CGSLGNIHHK
310	320	330	340	350	360
PGGGQVEVKS	EKLDFKDRVQ	SKIGSLDNIT	HVPGGGNKKI	ETHKLTFREN	AKAKTDHGAE
370	380	390	400	410	
IVYKSPVVSG	DTSPRHLSNV	SSTGSIDMVD	SPQLATLAD	VSASLAKQGL	

P10636-4 (SEQ ID NO:5)

10	20	30	40	50	60
MAEPRQEFEV	MEDHAGTYGL	GDRKDQGGYT	MHQDQEGDTD	AGLKESPLQT	PTEDGSEEPG
70	80	90	100	110	120
SETSDAKSTP	TAEAEAGIG	DTPSLEDEAA	GHVTQARMVS	KSKDGTGSDD	KKAKGADGKT
130	140	150	160	170	180
KIATPRGAAP	PGQKGQANAT	RIPAKTPPAP	KTPPSSGEP	KSGDRSGYSS	PGSPGTPGSR
190	200	210	220	230	240
SRTPSLPTPP	TREPKKVAVV	RTPPKSPSSA	KSRLQTAPVP	MPDLKNVKS	IGSTENLKHQ
250	260	270	280	290	300
PGGGKVQIVY	KPVDLSKVTS	KCGSLGNIHH	KPGGGQVEVK	SEKLDFKDRV	QSKIGSLDNI
310	320	330	340	350	360
THVPGGGNKK	IETHKLTFRE	NAKAKTDHGA	EIVYKSPVVS	GDTSPRHLSN	VSSTGSIDMV
370	380				
DSPQLATLAD	EVSASLAKQG	L			

P10636-2 (SEQ ID NO:6)

10	20	30	40	50	60
MAEPRQEFEV	MEDHAGTYGL	GDRKDQGGYT	MHQDQEGDTD	AGLKAEEAGI	GDTPSLEDEA

70	80	90	100	110	120
AGHVTQARMV	SKSKDGTGSD	DKKAKGADGK	TKIATPRGAA	PPGQKGQANA	TRIPAKTPPA
130	140	150	160	170	180
PKTPPSSGEP	PKSGDRSGYS	SPGSPGTPGS	RSRTPSLPTP	PTREPKKVAV	VRTPPKSPSS
190	200	210	220	230	240
AKSRLQTAPV	PMPDLKNVKS	KIGSTENLKH	QPGGGKVQIV	YKPVDSLKVT	SKCGSLGNIH
250	260	270	280	290	300
HKPGGGQVEV	KSEKLDKDR	VQSKIGSLDN	ITHVPGGGNK	KIETHKLTFR	ENAKAKTDHG
310	320	330	340	350	
AEIVYKSPVV	SGDTSPRHLS	NVSSTGSIDM	VDSPQLATLA	DEVASLAKQ	GL

Việc đề cập đến tau bao gồm các biến thể tự nhiên đã biết khoảng 30 trong số này được liệt kê trong cơ sở dữ liệu Swiss-Prot và các hoán vị của chúng, cũng như các đột biến liên quan đến các bệnh tau, như chứng sa sút trí tuệ, bệnh Pick, bệnh liệt trên nhân, v.v. (xem, *ví dụ như*, cơ sở dữ liệu Swiss-Prot và Poorkaj, và đồng tác giả Ann Neurol. 43:815-825 (1998)). Một số ví dụ về các đột biến tau được đánh số bởi đồng dạng 441 là đột biến lysin thành threonin ở gốc axit amin 257 (K257T), đột biến isoleuxin thành valin ở vị trí axit amin 260 (I260V); đột biến glyxin thành valin ở vị trí axit amin 272 (G272V); đột biến asparagin thành lysin ở vị trí axit amin 279 (N279K); đột biến asparagin thành histidin ở vị trí axit amin 296 (N296H); đột biến prolin thành serin ở vị trí axit amin 301 (P301S); đột biến prolin thành leuxin ở axit amin 301 (P301L); đột biến glyxin thành valin ở vị trí axit amin 303 (G303V); đột biến serin thành asparagin ở vị trí 305 (S305N); đột biến glyxin thành serin ở vị trí axit amin 335 (G335S); đột biến valin thành methionin ở vị trí 337 (V337M); đột biến axit glutamic thành valin ở vị trí 342 (E342V); đột biến lysin thành isoleuxin ở vị trí axit amin 369 (K369I); đột biến glyxin thành arginin ở vị trí axit amin 389 (G389R); và đột biến arginin thành tryptophan ở vị trí axit amin 406 (R406W).

Tau có thể được phosphoryl hóa ở một hoặc nhiều gốc axit amin bao gồm tyrosin ở các vị trí axit amin 18, 29, 97, 310, và 394 serin ở các vị trí axit amin 184, 185, 198, 199, 202, 208, 214, 235, 237, 238, 262, 293, 324, 356, 396, 400, 404, 409, 412, 413, và 422; và threonin ở các vị trí axit amin 175, 181, 205, 212, 217, 231, và 403. Trừ khi ngữ cảnh chỉ ra một cách rõ ràng, việc đề cập đến tau, hoặc các đoạn của chúng bao gồm các trình tự axit amin người tự nhiên bao gồm các đồng dạng, đột biến và các biến thể alen của chúng.

III. Kháng thể

A. Tính đặc hiệu liên kết và các đặc điểm chức năng

Sáng chế đề xuất kháng thể liên kết với tau. Một số kháng thể liên kết đặc hiệu với epitop trong KXXSXXNX(K/H)H (SEQ ID NO:191). Một số kháng thể liên kết với peptit bao gồm, về cơ bản gồm có hoặc gồm có các gốc axit amin 259-268 của protein tau có 441 axit amin (SEQ ID NO:1). Một số kháng thể liên kết với peptit bao gồm, về cơ bản gồm có hoặc gồm có các gốc axit amin 290-299 của protein tau có 441 axit amin (SEQ ID NO:1). Một số kháng thể liên kết với peptit bao gồm, về cơ bản gồm có hoặc gồm có các gốc axit amin 321-330 của protein tau có 441 axit amin (SEQ ID NO:1). Một số kháng thể liên kết với peptit bao gồm, về cơ bản bao gồm hoặc gồm có các gốc axit amin 353-362 của protein tau có 441 axit amin (SEQ ID NO:1). Một số kháng thể liên kết với hai, ba hoặc tất cả bộ peptit này. Một số kháng thể liên kết đặc hiệu với epitop trong các gốc 199-213 của protein tau người có 383 axit amin 4R0N (SEQ ID NO:3) (tương ứng với các gốc 257-271 nêu trong SEQ ID NO:1). Một số kháng thể liên kết đặc hiệu với epitop trong các gốc 262-276 của protein tau người có 383 axit amin 4R0N (SEQ ID NO:3) (tương ứng với các gốc 320-334 nêu trong SEQ ID NO:1). Một số kháng thể theo sáng chế liên kết đặc hiệu với peptit gồm có các gốc 257-271 của protein tau có 441 axit amin (SEQ ID NO:1). Một số kháng thể theo sáng chế liên kết đặc hiệu với peptit gồm có các gốc 320-334 của protein tau có 441 axit amin (SEQ ID NO:1). Một số kháng thể theo sáng chế liên kết đặc hiệu với peptit gồm có các gốc 259-268 của protein tau có 441 axit amin SEQ ID NO:1, cụ thể là KIGSTENLKH (SEQ ID NO:188). Một số kháng thể theo sáng chế liên kết đặc hiệu với peptit gồm có các gốc 290-299 của protein tau có 441 axit amin SEQ ID NO:1, cụ thể là KCGSKDNIKH (SEQ ID NO:192). Một số kháng thể theo sáng chế liên kết đặc hiệu với peptit gồm có các gốc 321-330 của protein tau có 441 axit amin SEQ ID NO:1, cụ thể là KCGSLGNIHH (SEQ ID NO:193). Một số kháng thể theo sáng chế liên kết đặc hiệu với peptit gồm có các gốc 353-362 của protein tau có 441 axit amin SEQ ID NO:1, cụ thể là KIGSLDNITH (SEQ ID NO:194). Một số kháng thể theo sáng chế liên kết đặc hiệu với peptit chứa motif liên ứng KXXSXXNX(K/H)H (SEQ ID NO:191). Một số kháng thể liên kết với epitop bao gồm các gốc 259, 262, 265, 267, 268, các gốc 290, 293, 296, 298, 299, các gốc 321, 324, 327, 329, 330, hoặc các gốc 353, 356, 359, 362 của protein tau có 441 axit amin SEQ ID NO:1. Một số kháng thể liên kết với tau bất kể trạng thái phosphoryl hóa. Một số kháng thể liên kết với epitop không bao gồm gốc bị phosphoryl hóa. Các kháng

thể này có thể thu được bằng cách gây miễn dịch bằng polypeptit tau được tinh chế từ nguồn tự nhiên hoặc được biểu hiện tái tổ hợp. Các kháng thể có thể được sàng lọc để liên kết với tau ở dạng không được phosphoryl hóa cũng như dạng trong đó một hoặc nhiều gốc dễ bị phosphoryl hóa được phosphoryl hóa. Tốt hơn nếu các kháng thể này liên kết với tau được phosphoryl hóa với các ái lực tương đương hoặc ít nhất trong khoảng hệ số là 1,5, 2 hoặc 3 lần so với tau không được phosphoryl hóa (*tức là*, là “đặc hiệu phổ rộng”). 3D6 là ví dụ về kháng thể đơn dòng đặc hiệu phổ rộng. Sáng chế còn đề xuất các kháng thể liên kết với cùng một epitop với bất kỳ trong số các kháng thể trên đây, như, ví dụ, epitop của 3D6. Cũng được bao gồm là các kháng thể cạnh tranh để liên kết với tau với bất kỳ trong số các kháng thể trên đây, như, ví dụ, cạnh tranh với 3D6.

Kháng thể được đề cập ở trên có thể được tạo ra từ đầu bằng cách gây miễn dịch bằng peptit bao gồm, về cơ bản bao gồm hoặc gồm có các gốc 199-213 hoặc 262-276 nêu trong SEQ ID NO:3 (lần lượt tương ứng với các gốc 257-271 hoặc 320-334 nêu trong SEQ ID NO:1) hoặc bằng cách gây miễn dịch bằng peptit bao gồm, về cơ bản bao gồm hoặc gồm có các gốc 259-268, 290-299, 321-330, hoặc 353-362 nêu trong SEQ ID NO:1, hoặc bằng cách gây miễn dịch bằng polypeptit tau có chiều dài đầy đủ hoặc đoạn của nó bao gồm các gốc này và sàng lọc về khả năng liên kết đặc hiệu với peptit bao gồm các gốc này. Các peptit này tốt hơn nếu được liên kết vào phân tử liên hợp khác loài giúp gây ra đáp ứng kháng thể cho peptit này. Liên kết này có thể là trực tiếp hoặc qua peptit đệm hoặc axit amin đệm. Xystein được sử dụng làm axit amin đệm vì nhóm SH tự do của nó tạo thuận lợi cho sự liên kết của phân tử mang. Cầu nối polyglyxin (*ví dụ*, 2-6 glyxin), có hoặc không có gốc xystein giữa các glyxin và peptit này cũng có thể được sử dụng. Phân tử mang có tác dụng cung cấp epitop tế bào T giúp gây ra đáp ứng kháng thể kháng lại peptit này. Một số phân tử mang thường được sử dụng cụ thể là hemoxyanin của loài ốc keyhole limpet (KLH), albumin trứng và albumin huyết thanh bò (BSA). Các đoạn đệm peptit có thể được bổ sung vào chất gây miễn dịch peptit như một phần của quy trình tổng hợp peptit pha rắn. Các phân tử mang thường được bổ sung vào bằng cách liên kết chéo hóa học. Một số ví dụ về các chất liên kết chéo hóa học mà có thể được sử dụng bao gồm N-maleimido-6-aminocaproyl este chéo hoặc m-maleimidobenzoyl-N-hydroxysuccinimide este (MBS) (xem ví dụ, Harlow, E. và đồng tác giả, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. 1988; Sinigaglia và đồng tác giả, *Nature*, 336:778-780 (1988); Chicz và đồng tác giả, *J. Exp. Med.*, 178:27-47 (1993);

Hammer và đồng tác giả, Cell 74:197-203 (1993); Falk K. và đồng tác giả, Immunogenetics, 39:230-242 (1994); WO 98/23635; và, Southwood và đồng tác giả J. Immunology, 160:3363-3373 (1998)). Phân tử mang và đoạn đệm nếu có có thể được liên kết với một trong hai đầu của chất gây miễn dịch này.

Peptit có đoạn đệm và phân tử mang tùy ý có thể được sử dụng để gây miễn dịch các động vật phòng thí nghiệm hoặc tế bào B như được mô tả chi tiết hơn dưới đây. Các dịch nổi tế bào lai có thể được kiểm tra về khả năng liên kết với một hoặc nhiều peptit bao gồm, về cơ bản bao gồm hoặc gồm có các gốc 199-213 hoặc 262-276 nêu trong SEQ ID NO:3 (lần lượt tương ứng với các gốc 257-271 hoặc 320-334 nêu trong SEQ ID NO:1), hoặc bao gồm, về cơ bản bao gồm hoặc gồm có các gốc 259-268, 290-299, 321-330, hoặc 353-362 nêu trong SEQ ID NO:1, và/hoặc dạng được phosphoryl hóa và không được phosphoryl hóa của tau, chẳng hạn như, ví dụ, đồng dạng có chiều dài đầy đủ của tau với vị trí 404 ở dạng được phosphoryl hóa. Peptit này có thể được liên kết với phân tử mang hoặc nhãn khác để tạo thuận lợi cho thử nghiệm sàng lọc. Trong trường hợp này, phân tử mang hoặc nhãn tốt hơn là khác với tổ hợp của đoạn đệm và phân tử mang được sử dụng để gây miễn dịch để loại bỏ các kháng thể đặc hiệu với đoạn đệm hoặc phân tử mang hơn là peptit tau. Đồng dạng bất kỳ trong số các đồng dạng tau có thể được sử dụng.

Sáng chế đề xuất kháng thể đơn dòng liên kết với các epitop trong tau. Kháng thể được ký hiệu 3D6 là một kháng thể chuột điển hình như vậy. Trừ khi có quy định khác, việc đề cập đến 3D6 nên được hiểu là đề cập đến bất kỳ trong số các dạng của chuột nhất, khảm, được ngụy trang và được làm tương thích với người của kháng thể này. Kháng thể đã được nộp lưu dưới dạng [SỐ NỘP LƯU]. Kháng thể này liên kết đặc hiệu với epitop của KXXSXXNX(K/H)H (SEQ ID NO:191). Kháng thể này liên kết đặc hiệu trong các gốc axit amin 199-213 và/hoặc 262-276 của protein tau người có 383 axit amin 4R0N (SEQ ID NO:3) (lần lượt tương ứng với các gốc axit amin 257-271 và/hoặc 320-334 nêu trong SEQ ID NO:1). Kháng thể này liên kết đặc hiệu trong các gốc axit amin 259-268 hoặc 290-299 hoặc 321-330 hoặc 353-362 nêu trong SEQ ID NO:1, và dạng kết hợp của 2, 3 gốc bất kỳ hoặc tất cả bốn gốc này. Kháng thể này còn được đặc trưng bởi khả năng liên kết với cả tau được phosphoryl hóa và tau không được phosphoryl hóa, cả dạng không gây bệnh và dạng bệnh lý và các cấu hình của tau, và các dạng cuộn gấp sai/kết tụ của tau. Kháng thể được ký hiệu 6A10 là một kháng thể chuột nhất điển hình như vậy. Trừ khi có quy định khác, việc đề cập đến 6A10 nên được hiểu là đề cập đến bất kỳ trong số các dạng của chuột

nhất, khảm, được nguy trang và được làm tương thích với người của kháng thể này. CDR Tổ hợp Kabat/Chothia của chuỗi nặng của 6A10 được ký hiệu lần lượt là các SEQ ID NO: 67, 68, và 69, và các CDR Kabat của chuỗi nhẹ của 6A10 được ký hiệu lần lượt là SEQ ID NO: 12, 13, và 14. 6A10 của chuột có độ tương đồng trình tự VH là 82,1% và độ tương đồng trình tự VL là 100% với chuỗi VH và chuỗi VL, tương ứng, của 3D6 của chuột.

Một số kháng thể theo sáng chế liên kết với cùng một epitop hoặc epitop gộp lên nhau với kháng thể được ký hiệu là 3D6. Các trình tự của vùng biến đổi trưởng thành chuỗi nặng và nhẹ của kháng thể này được ký hiệu lần lượt là SEQ ID NO: 7 và 11. Các kháng thể khác có tính đặc hiệu liên kết như vậy có thể được sản xuất bằng cách gây miễn dịch chuột với tau hoặc một phần của nó bao gồm, về cơ bản bao gồm hoặc gồm có epitop mong muốn (ví dụ 199-213 và/hoặc 262-276 nêu trong SEQ ID NO:3, lần lượt tương ứng với các gốc 257-271 và/hoặc 320-334 nêu trong SEQ ID NO:1; hoặc ví dụ, 259-268 hoặc 290-299 hoặc 321-330 hoặc 353-362 nêu trong SEQ ID NO:1, dạng kết hợp bất kỳ của 2, 3 hoặc tất cả 4 gốc này) và sàng lọc các kháng thể thu được để liên kết với tau tùy ý cạnh tranh với kháng thể có các vùng biến đổi của 3D6 chuột (IgG1 kapa). Các đoạn của tau chứa epitop mong muốn có thể được liên kết với chất mang giúp gây ra đáp ứng kháng thể với đoạn này và/hoặc được kết hợp với tá được giúp gây ra đáp ứng này. Các kháng thể như vậy có thể được sàng lọc về khả năng liên kết khác biệt với tau hoặc một đoạn của nó so với các đột biến của các gốc xác định. Việc sàng lọc dựa trên các đột biến này xác định chính xác hơn tính đặc hiệu liên kết để cho phép nhận diện các kháng thể có khả năng liên kết bị ức chế bởi kỹ thuật gây đột biến các gốc cụ thể và các kháng thể này có thể có chung các đặc điểm chức năng với các kháng thể điển hình khác. Các đột biến này có thể là đột biến thế thay thế hệ thống bằng alanin (hoặc serin nếu alanin đã có sẵn) một gốc một lần, hoặc các khoảng cách nhau rộng hơn, trên toàn bộ đích này hoặc toàn bộ một phần của nó trong đó được biết là có epitop này. Nếu cùng một tập hợp các đột biến làm giảm đáng kể sự gắn kết của hai kháng thể, thì hai kháng thể sẽ gắn kết cùng một epitop.

Các kháng thể có tính đặc hiệu liên kết của kháng thể chuột đã chọn (ví dụ, 3D6) cũng có thể được tạo ra bằng cách sử dụng biến thể của phương pháp biểu hiện thể thực khuẩn. Xem Winter, WO 92/20791. Phương pháp này đặc biệt thích hợp để sản xuất kháng thể người. Trong phương pháp này, vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc nhẹ của kháng thể chuột đã chọn được sử dụng làm nguyên liệu khởi đầu. Nếu, ví dụ, vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn làm nguyên liệu khởi đầu, thư viện thể thực khuẩn được xây dựng trong đó các thành

viên biểu hiện cùng một vùng biến đổi chuỗi nhẹ (*nghĩa là*, nguyên liệu khởi đầu của chuỗi) và vùng biến đổi chuỗi nặng khác nhau. Các vùng biến đổi chuỗi nặng này có thể thu được, ví dụ, từ thư viện của các vùng biến đổi chuỗi nặng được sắp xếp lại. Thể thực khuẩn thể hiện khả năng liên kết đặc hiệu mạnh đối với tau hoặc một đoạn của nó (*ví dụ*, ít nhất là 10^8 và tốt hơn ít nhất là 10^9 M^{-1}) được chọn. Sau đó vùng biến đổi chuỗi nặng từ thể thực khuẩn này đóng vai trò là nguyên liệu khởi đầu để xây dựng thư viện thể thực khuẩn khác nữa. Trong thư viện này, mỗi thể thực khuẩn biểu hiện cùng một vùng biến đổi chuỗi nặng (*nghĩa là*, vùng được xác định từ thư viện biểu hiện thứ nhất) và vùng biến đổi chuỗi nhẹ khác. Các vùng biến đổi chuỗi nhẹ này có thể thu được, ví dụ, từ thư viện của các vùng chuỗi nhẹ biến đổi của người được sắp xếp lại. Một lần nữa, thể thực khuẩn thể hiện khả năng liên kết đặc hiệu mạnh đối với tau hoặc một đoạn của nó được chọn. Các kháng thể tạo thành thường có tính đặc hiệu epitop giống hoặc tương tự với nguyên liệu khởi đầu của chuỗi.

CDR Tổ hợp Kabat/Chothia của chuỗi nặng của 3D6 được ký hiệu lần lượt là các SEQ ID NO: 8, 9, và 10, và các CDR Kabat của chuỗi nhẹ của 3D6 được ký hiệu lần lượt là SEQ ID NO: 12, 13, và 14.

Bảng 2 chỉ ra các CDR 3D6 như được xác định bằng Kabat, Chothia, Tổ hợp của Chothia và Kabat (còn được gọi ở đây là “Tổ hợp Kabat/Chothia”), AbM, và Contact.

Bảng 2: Các CDR 3D6 như được xác định bởi Kabat, Chothia, Tổ hợp của Chothia và Kabat, AbM, và Contact

Vòng	Kabat	Chothia	Tổ hợp của Chothia & Kabat	AbM	Contact
L1	L24--L34 SEQ ID NO:12	L24--L34 SEQ ID NO:12	L24--L34 SEQ ID NO:12	L24--L34 SEQ ID NO:12	L30--L36 SEQ ID NO:36
L2	L50--L56 SEQ ID NO:13	L50--L56 SEQ ID NO:13	L50--L56 SEQ ID NO:13	L50--L56 SEQ ID NO:13	L46--L55 SEQ ID NO:37
L3	L89--L97 SEQ ID NO:14	L89--L97 SEQ ID NO:14	L89--L97 SEQ ID NO:14	L89--L97 SEQ ID NO:14	L89--L96 SEQ ID NO:38

Bảng 2: Các CDR 3D6 như được xác định bởi Kabat, Chothia, Tổ hợp của Chothia và Kabat, AbM, và Contact

Vòng	Kabat	Chothia	Tổ hợp của Chothia & Kabat	AbM	Contact
H1	H31--H35B SEQ ID NO:32	H26--H32 SEQ ID NO:33	H26--H35B SEQ ID NO:8	H26--H35B SEQ ID NO:8	H30--H35B SEQ ID NO:39
H2	H50--H65 SEQ ID NO:9	H52--H56 SEQ ID NO:34	H50--H65 SEQ ID NO:9	H50--H58 SEQ ID NO:35	H47--H58 SEQ ID NO:40
H3	H95--H102 SEQ ID NO:10	H95--H102 SEQ ID NO:10	H95--H102 SEQ ID NO:10	H95--H102 SEQ ID NO:10	H93--H101 SEQ ID NO:41

Các kháng thể khác có thể thu được bằng kỹ thuật gây đột biến cADN mã hóa các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể điển hình, như 3D6. Kháng thể đơn dòng mà tương đồng ít nhất là 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% với 3D6 trong trình tự axit amin của của các vùng biến đổi chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng trưởng thành và duy trì các đặc điểm chức năng của nó, và/hoặc khác với kháng thể tương ứng bởi một số lượng nhỏ sự thể (ví dụ như, sự thể bảo toàn), sự làm khuyết, hoặc sự cài xen cũng được bao gồm trong sáng chế. Các kháng thể đơn dòng có ít nhất là một hoặc toàn bộ sáu CDR như được xác định bằng định nghĩa theo quy ước bất kỳ, nhưng tốt hơn nếu là Kabat, mà tương đồng 90%, 95%, 99% hoặc 100% với các CDR tương ứng của 3D6 cũng được bao gồm.

Sáng chế còn đề xuất kháng thể có một số hoặc tất cả (ví dụ như, 3, 4, 5, và 6) CDR hoàn toàn hoặc chủ yếu là từ 3D6. Các kháng thể này có thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng mà có ít nhất là hai, và thường là toàn bộ ba CDR hoàn toàn hoặc chủ yếu là từ vùng biến đổi chuỗi nặng của 3D6 và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có ít nhất là hai, và thường là toàn bộ ba CDR hoàn toàn hoặc chủ yếu là từ vùng biến đổi chuỗi nhẹ của 3D6. Kháng thể có thể bao gồm cả chuỗi nặng và chuỗi nhẹ. CDR chủ yếu là từ CDR 3D6 tương ứng khi nó chứa không nhiều hơn 4, 3, 2, hoặc 1 sự thể, sự cài xen hoặc sự làm khuyết, ngoại trừ CDR-H2 (khi được xác định bởi Kabat) có thể có không nhiều hơn 6, 5, 4, 3, 2, hoặc 1 sự thể, sự cài xen hoặc sự làm khuyết. Các kháng thể này có thể có độ tương đồng ít nhất

là 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% với 3D6 về trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ trưởng thành và duy trì được các đặc điểm chức năng của chúng, và/hoặc khác biệt với 3D6 ở một số lượng nhỏ các đột biến thay thế (ví dụ như, sự thể bảo toàn), sự làm khuyết, hoặc sự cài xen.

Một số kháng thể được xác định bằng các thử nghiệm này có thể liên kết với các dạng monome, dạng cuộn gấp sai, dạng bị kết tụ, dạng được phosphoryl hóa, hoặc không được phosphoryl hóa của tau hoặc dạng khác. Tương tự, một số kháng thể có phản ứng miễn dịch trên các dạng không gây bệnh và dạng bệnh lý và các cấu hình của tau.

B. Kháng thể không phải của người

Quá trình sản xuất kháng thể không phải của người khác, ví dụ, chuột nhắt, chuột lang, linh trưởng, thỏ hoặc chuột cống kháng lại tau hoặc một đoạn của nó (ví dụ, các gốc axit amin 199-213 hoặc 262-276 nêu trong SEQ ID NO:3, lần lượt tương ứng với các gốc axit amin 257-271 hoặc 320-334, nêu trong SEQ ID NO:1; hoặc các gốc axit amin 259-268 hoặc 290-299 hoặc 321-330 hoặc 353-362 nêu trong SEQ ID NO:1) có thể được thực hiện bằng cách, ví dụ, gây miễn dịch cho động vật này với tau hoặc một đoạn của nó. Xem tài liệu Harlow & Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual* (CSHP NY, 1988) (được đưa vào đây bằng cách viện dẫn đối với tất cả các mục đích). Chất gây miễn dịch như vậy có thể thu được từ nguồn tự nhiên, bằng cách tổng hợp peptit, hoặc bằng cách biểu hiện tái tổ hợp. Tùy chọn, chất gây miễn dịch này có thể được sử dụng hợp nhất hoặc cách khác tạo phức với protein chất mang. Tùy chọn, chất gây miễn dịch này có thể được sử dụng cùng với tá dược. Một số loại tá dược có thể được sử dụng như được mô tả dưới đây. Tá dược Freund hoàn chỉnh sau đó là tá dược không hoàn chỉnh được ưu tiên sử dụng cho việc gây miễn dịch cho động vật thí nghiệm. Thỏ hoặc chuột lang thường được sử dụng để tạo ra kháng thể đa dòng. Chuột thường được sử dụng để tạo ra kháng thể đơn dòng. Các kháng thể được sàng lọc về khả năng liên kết đặc hiệu với tau hoặc epitop trong phạm vi tau (ví dụ, epitop bao gồm một hoặc nhiều gốc trong số các gốc axit amin 199-213 hoặc 262-276 nêu trong SEQ ID NO:3; lần lượt tương ứng với các gốc axit amin 257-271 hoặc 320-334, nêu trong SEQ ID NO:1 hoặc epitop bao gồm một hoặc nhiều gốc trong số các gốc axit amin 259-268 hoặc 290-299 hoặc 321-330 hoặc 353-362 nêu trong SEQ ID NO:1). Việc sàng lọc như vậy có thể được thực hiện bằng cách xác định liên kết của kháng thể với tập hợp các biến thể tau, chẳng hạn như các biến thể tau chứa các gốc axit amin 199-213 hoặc

262-276 nêu trong SEQ ID NO:3 (lần lượt tương ứng với các gốc axit amin 257-271 hoặc 320-334, nêu trong SEQ ID NO:1) hoặc các biến thể tau chứa các gốc axit amin 259-268 hoặc 290-299 hoặc 321-330 hoặc 353-362 nêu trong SEQ ID NO:1, hoặc các đột biến bên trong các gốc này và xác định các biến thể tau liên kết với kháng thể. Sự liên kết có thể được đánh giá, ví dụ, bằng Western blot, FACS hoặc ELISA.

C. Kháng thể được làm tương thích với người

Kháng thể được làm tương thích với người là kháng thể được thao tác di truyền trong đó các CDR từ kháng thể “cho” không phải của người được ghép vào các trình tự kháng thể “nhận” của người (xem, ví dụ như, Queen, US 5,530,101 và 5,585,089; Winter, US 5,225,539; Carter, US 6,407,213; Adair, US 5,859,205; và Foote, US 6,881,557). Các trình tự kháng thể nhận có thể là, ví dụ, trình tự kháng thể người trưởng thành, thể liên hợp của các trình tự này, trình tự liên ứng của các trình tự kháng thể người, hoặc trình tự vùng dòng mầm. Do đó, kháng thể được làm tương thích với người là kháng thể có ít nhất là ba, bốn, năm hoặc toàn bộ các CDR hoàn toàn hoặc chủ yếu là từ kháng thể cho và các trình tự khung vùng biến đổi và vùng hằng định, nếu có mặt, hoàn toàn hoặc chủ yếu là từ các trình tự kháng thể người. Tương tự, chuỗi nặng được làm tương thích với người có ít nhất là một, hai và thường là toàn bộ ba CDR hoàn toàn hoặc chủ yếu là từ chuỗi nặng của kháng thể cho, và trình tự khung vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng hằng định chuỗi nặng, nếu có mặt, chủ yếu là từ các trình tự khung vùng biến đổi chuỗi nặng của người và trình tự vùng hằng định của người. Tương tự, chuỗi nhẹ được làm tương thích với người có ít nhất là một, hai và thường là toàn bộ ba CDR hoàn toàn hoặc chủ yếu là từ chuỗi nhẹ kháng thể cho, và trình tự khung vùng biến đổi chuỗi nhẹ và vùng hằng định chuỗi nhẹ, nếu có mặt, chủ yếu là từ các trình tự khung vùng biến đổi chuỗi nhẹ của người và trình tự vùng hằng định của người. Ngoài các nanobody và dAb, kháng thể được làm tương thích với người chứa chuỗi nặng được làm tương thích với người và chuỗi nhẹ được làm tương thích với người. CDR trong kháng thể được làm tương thích với người chủ yếu là từ CDR tương ứng trong kháng thể không phải của người khi ít nhất là 85%, 90%, 95% hoặc 100% các gốc tương ứng (như được xác định bởi định nghĩa theo quy ước bất kỳ nhưng tốt hơn nếu được xác định bằng Kabat) là giống nhau giữa các CDR tương ứng. Các trình tự khung vùng biến đổi của chuỗi kháng thể hoặc vùng hằng định của chuỗi kháng thể chủ yếu là từ trình tự khung vùng biến đổi của người hoặc vùng hằng định của người, tương ứng, khi ít nhất là 85%, 90%, 95% hoặc 100% các gốc tương ứng được xác định bởi Kabat là giống

nhau. Để được phân loại là được làm tương thích với người theo định nghĩa về tên gốc quốc tế (INN) của Tổ chức Y tế thế giới (WHO) 2014 về các kháng thể được làm tương thích với người, một kháng thể phải có độ tương đồng ít nhất là 85% với các trình tự kháng thể dòng mầm của người (nghĩa là, trước quá trình siêu đột biến sinh dưỡng). Các kháng thể hỗn hợp là các kháng thể mà một chuỗi kháng thể (ví dụ, chuỗi nặng) phù hợp giới hạn nhưng chuỗi còn lại (ví dụ, chuỗi nhẹ) không đáp ứng ngưỡng. Kháng thể được phân loại là khả năng nếu cả hai chuỗi đều không đáp ứng ngưỡng, mặc dù các vùng khung biến đổi cho cả hai chuỗi đều gần như là của người với một số đột biến ngược của chuột. Xem, Jones và đồng tác giả (2016) The INNs và outs of antibody nonproprietary names, mAbs 8:1, 1-9, DOI: 10.1080/19420862.2015.1114320. Cũng xem “WHO-INN: International nonproprietary names (INN) for biological và biotechnological substances (a review)” (Internet) 2014. Có sẵn từ: <http://www.who.int/medicines/services/inn/BioRev2014.pdf>, được kết hợp ở đây để tham khảo. Để cho rõ ràng, thuật ngữ “được làm tương thích với người” như được sử dụng ở đây không được dự định bị giới hạn vào định nghĩa INN của WHO năm 2014 về các kháng thể được làm tương thích với người. Một số kháng thể được làm tương thích với người được đề xuất ở đây có độ tương đồng trình tự ít nhất là 85% với trình tự dòng mầm của người và một số kháng thể được làm tương thích với người được đề xuất ở đây có độ tương đồng trình tự ít hơn 85% với trình tự dòng mầm của người. Một số chuỗi nặng của kháng thể được làm tương thích với người được đề xuất ở đây có độ tương đồng trình tự từ khoảng 60% đến 100% với các trình tự dòng mầm của người, như, ví dụ, trong khoảng từ khoảng 60% đến 69%, 70% đến 79%, 80% đến 84%, hoặc 85% đến 89%. Một số chuỗi nặng nằm dưới định nghĩa INN của WHO 2014 và có, ví dụ, độ tương đồng trình tự khoảng 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, hoặc 82%, 83%, hoặc 84% với các trình tự dòng mầm của người, trong khi các chuỗi nặng khác thỏa mãn định nghĩa INN của WHO 2014 và có độ tương đồng trình tự khoảng 85%, 86%, 87%, 88%, 89% hoặc lớn hơn với các trình tự dòng mầm của người. Một số chuỗi nhẹ của kháng thể được làm tương thích với người được đề xuất ở đây có độ tương đồng trình tự từ khoảng 60% đến 100% với các trình tự dòng mầm của người, như, ví dụ, trong khoảng từ khoảng 80% đến 84%, hoặc 85% đến 89%. Một số chuỗi nhẹ nằm dưới định nghĩa INN của WHO 2014 và có, ví dụ, độ tương đồng trình tự khoảng 81%, 82%, 83%, hoặc 84% với các trình tự dòng mầm của người, trong khi các chuỗi nhẹ khác thỏa mãn định nghĩa INN của WHO 2014 và có độ tương

đồng trình tự khoảng 85%, 86%, 87%, 88%, 89% hoặc lớn hơn với các trình tự dòng mầm của người. Một số kháng thể được làm tương thích với người được đề xuất ở đây mà là "khảm" theo định nghĩa INN của WHO 2014 có các chuỗi nặng có tỷ lệ đồng nhất ít hơn 85% với trình tự dòng mầm của người được bắt cặp với các chuỗi nhẹ có tỷ lệ đồng nhất ít hơn 85% với các trình tự dòng mầm của người. Một số kháng thể được làm tương thích với người được đề xuất ở đây là "hỗn hợp" theo định nghĩa INN của WHO 2014, ví dụ, có chuỗi nặng có độ tương đồng trình tự ít nhất là 85% với các trình tự dòng mầm của người được bắt cặp với chuỗi nhẹ có độ tương đồng trình tự ít hơn 85% với các trình tự dòng mầm của người, hoặc ngược lại. Một số kháng thể được làm tương thích với người được đề xuất ở đây thỏa mãn định nghĩa INN của WHO 2014 về "được làm tương thích với người" và có chuỗi nặng có độ tương đồng trình tự ít nhất là 85% với trình tự dòng mầm người được bắt cặp với chuỗi nhẹ có độ tương đồng trình tự ít nhất là 85% với các trình tự dòng mầm của người. Các kháng thể được làm tương thích với người bổ sung theo sáng chế thỏa mãn định nghĩa INN của WHO 2014 về "hỗn hợp".

Mặc dù các kháng thể được làm tương thích với người thường đưa vào tất cả sáu CDR (được xác định bằng định nghĩa thông thường bất kỳ nhưng tốt hơn là được định nghĩa bằng Kabat) từ kháng thể chuột, chúng cũng có thể được tạo ra với ít hơn toàn bộ các CDR (ví dụ như, ít nhất là 3, 4, hoặc 5 CDR) từ kháng thể chuột nhất (ví dụ như, Pascalis và đồng tác giả, *J. Immunol.* 169:3076, 2002; Vajdos và đồng tác giả, *J. of Mol. Biol.*, 320: 415-428, 2002; Iwahashi và đồng tác giả, *Mol. Immunol.* 36:1079-1091, 1999; Tamura và đồng tác giả, *J. Immunol.*, 164:1432-1441, 2000).

Trong một số kháng thể chỉ một phần của CDR, cụ thể là tập hợp con của các gốc CDR cần để liên kết, gọi là SDR, là cần thiết để giữ lại sự liên kết ở kháng thể được làm tương thích với người. Các gốc CDR không tiếp xúc với kháng nguyên và không ở trong các SDR có thể được nhận diện dựa vào các nghiên cứu trước đó (ví dụ, các gốc H60-H65 trong CDR H2 thường là không cần thiết), từ các vùng của CDR Kabat nằm ngoài vòng siêu biến Chothia (Chothia, *J. Mol. Biol.* 196:901, 1987), bằng cách lập mô hình phân tử và/hoặc theo kinh nghiệm, hoặc như được mô tả trong Gonzales và đồng tác giả, *Mol. Immunol.* 41: 863, 2004. Trong các kháng thể được làm tương thích với người này ở các vị trí trong đó một hoặc nhiều gốc CDR cho không có mặt hoặc trong đó toàn bộ CDR cho bị bỏ qua, thì axit amin chiếm vị trí này có thể là axit amin chiếm vị trí tương ứng (theo đánh số Kabat) trong trình tự kháng thể nhận. Số lượng của sự thể này của axit amin nhận

đối với axit amin cho trong CDR để bao gồm phản ánh sự cân bằng của cân nhắc cạnh tranh. Sự thể này có thể có lợi trong việc làm giảm số lượng axit amin chuột trong kháng thể được làm tương thích với người và do đó làm giảm khả năng sinh miễn dịch có thể có và/hoặc thỏa mãn định nghĩa của INN WHO về "được làm tương thích với người". Tuy nhiên, sự thể này cũng có thể gây ra sự thay đổi của ái lực, và tránh được sự giảm đi đáng kể của ái lực. Vị trí để thể trong CDR và các axit amin để thể cũng có thể được chọn theo kinh nghiệm.

Các trình tự kháng thể nhận của người có thể được chọn tùy ý từ trong số nhiều trình tự kháng thể người đã biết để tạo ra độ tương đồng trình tự cao (*ví dụ như*, độ tương đồng 65-85%) giữa các khung vùng biến đổi trình tự nhận của người và các khung vùng biến đổi tương ứng của chuỗi kháng thể cho.

Một số kháng thể được làm tương thích với người và kháng thể khảm có đặc tính chức năng giống nhau (trong phạm vi sai số thử nghiệm) hoặc được cải thiện, ví dụ, ái lực liên kết với tau người, ức chế sự nội tại hóa của tau vào tế bào thần kinh như được mô tả trong các ví dụ dưới dạng kháng thể chuột mà từ đó chúng được tạo ra. Ví dụ, một số kháng thể được làm tương thích với người và kháng thể khảm có ái lực liên kết trong yếu tố 3, 2 hoặc 1 của kháng thể chuột nhất mà chúng được tạo ra từ đó hoặc ái lực không thể phân biệt được trong phạm vi sai số thử nghiệm. Một số kháng thể được làm tương thích với người và kháng thể khảm ức chế sự nội tại hóa của tau vào tế bào thần kinh như được mô tả trong các ví dụ trong yếu tố 3, 2 hoặc 1 của kháng thể chuột nhất mà từ đó chúng được tạo ra hoặc ức chế tương tự trong phạm vi sai số thử nghiệm như kháng thể chuột mà từ đó chúng được tạo ra. Một số kháng thể được làm tương thích với người biểu hiện giảm tính sinh miễn dịch, tăng ái lực, tăng độ ổn định nhiệt và/hoặc cải thiện biểu hiện so với các dạng kháng thể 3D6 được làm tương thích với người đã mô tả trước đây (xem WO 2017/191560) hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4 đã chứng minh ái lực được cải thiện, bằng chứng là tốc độ liên hợp, tốc độ phân ly và số Kd, trên hu3D6VHv1bA11/hu3D6VLv2 gốc. hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4 thể hiện độ ổn định nhiệt và hiệu giá cao hơn so với hu3D6VHv1bA11/hu3D6VLv2 gốc.

Ví dụ về trình tự nhận đối với chuỗi nặng là vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành người của Fab 48G7 được làm tương thích với người với mã truy cập PDB 2RCS-VH_huFrwk (SEQ ID NO:75). Miền biến đổi của 3D6 và Fab 48G7 cũng có chiều dài

giống nhau đối với các vòng CDR-H1, H2. Ví dụ về trình tự nhận đối với chuỗi nặng là vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành người IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25). IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25) có chung dạng chính tắc của chuỗi nặng 3D6 chuột nhất CDR-H1 và H2. IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25) thuộc về nhóm phụ chuỗi nặng người 1. Ví dụ về trình tự nhận đối với chuỗi nhẹ là vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành người với mã số truy cập PDB kháng thể người VL ARX71335 (SEQ ID NO:82). Miền biến đổi chuỗi nhẹ của 3D6 và kháng thể ARX71335 cũng có chiều dài giống nhau đối với các vòng CDR-L1, L2 và L3. Ví dụ về trình tự nhận đối với chuỗi nhẹ là vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành người với IMGT#IGKV2-30*02 (SEQ ID NO:27). IMGT#IGKV2-30*02 (SEQ ID NO:27) có cùng lớp chính tắc đối với CDR-L1, CDR-L2 và L3 như 3D6 chuột nhất. IMGT#IGKV2-30*02 (SEQ ID NO:27) thuộc về nhóm phụ kapa người 2.

Nếu nhiều hơn một trình tự kháng thể nhận người được chọn, tổ hợp hoặc thể lai của các thể nhận này có thể được sử dụng, và các axit amin dùng ở các vị trí khác nhau trong chuỗi nhẹ được làm tương thích với người và các vùng biến đổi chuỗi nặng có thể được lấy từ trình tự kháng thể nhận người bất kỳ được sử dụng. Ví dụ như, vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành người của IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25) và mã số truy cập PDB # 2RCS-VH_huFrwk (SEQ ID NO:75) được dùng làm trình tự nhận cho sự làm cho giống người của vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành 3D6. Ví dụ về các vị trí trong đó hai thể nhận này khác nhau là vị trí H17 (T hoặc S). Các phiên bản được làm tương thích với người của vùng biến đổi chuỗi nặng 3D6 có thể bao gồm một trong các axit amin tại vị trí này. Ví dụ như, vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành người IMGT# IGKV2-30*02 (SEQ ID NO:27) và mã PDB # ARX71335-VL_huFrwk (SEQ ID NO:82) được dùng làm trình tự nhận cho sự làm cho giống người của vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành 3D6. Ví dụ về vị trí trong đó hai thể nhận này khác nhau là vị trí L100 (Q hoặc A). Các phiên bản được làm tương thích với người của vùng biến đổi chuỗi nhẹ 3D6 có thể bao gồm một trong các axit amin tại vị trí này.

Các axit amin nhất định từ các gốc khung vùng biến đổi người có thể được chọn để thể dựa trên sự ảnh hưởng có thể có của chúng lên cấu hình CDR và/hoặc liên kết với kháng nguyên. Việc điều tra về các ảnh hưởng có thể này được thực hiện bằng cách tạo mô hình, kiểm tra các đặc điểm của các axit amin ở các vị trí cụ thể, hoặc quan sát bằng kinh nghiệm tác động của sự thể hoặc sự đột biến của các axit amin cụ thể.

Ví dụ, khi axit amin khác biệt giữa gốc khung vùng biến đổi của chuột và gốc khung vùng biến đổi của người đã chọn, axit amin khung người này có thể được thay thế bằng axit amin khung tương đương từ kháng thể chuột khi mong đợi hợp lý rằng axit amin này:

- (1) liên kết trực tiếp không cộng hóa trị với kháng nguyên;
- (2) liên kết với vùng CDR hoặc nằm trong CDR như được xác định theo Chothia chứ không phải là theo Kabat;
- (3) theo cách khác tương tác với vùng CDR (*ví dụ như*, trong khoảng 6 Å của vùng CDR), (*ví dụ như*, được nhận diện bằng cách tạo mô hình chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng trên cấu trúc đã được làm sáng tỏ của chuỗi globulin miễn dịch tương đồng đã biết); hoặc
- (4) là gốc tham gia vào mặt phân cách VL-VH.

Trong một phương án, các trình tự được làm tương thích với người được tạo ra bằng cách sử dụng quy trình PCR hai bước cho phép đưa vào nhiều đột biến, sự làm khuyết, và sự cài xen bằng cách sử dụng kỹ thuật gây đột biến định hướng điểm QuikChange [Wang, W. và Malcolm, B.A. (1999) *BioTechniques* 26:680-682)].

Các gốc khung từ các lớp từ (1) đến (3) như được xác định bởi Queen, US 5,530,101, đôi khi được gọi theo cách khác là các gốc chính tắc và vecnê. Các gốc khung mà giúp xác định cấu hình của vòng CDR đôi khi được gọi là các gốc chính tắc (Chothia & Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987); Thornton & Martin, *J. Mol. Biol.* 263:800-815 (1996)). Các gốc khung mà hỗ trợ cấu hình vòng liên kết kháng nguyên và đóng vai trò trong việc tinh chỉnh sự ăn khớp của kháng thể với kháng nguyên đôi khi được gọi là các gốc vecnê (Foote & Winter, *J. Mol. Biol.* 224:487-499 (1992)).

Các gốc khung khác mà là các ứng viên cho sự thế là các gốc tạo ra vị trí glycosyl hóa tiềm năng. Các ứng viên khác cho sự thế là các axit amin khung nhận của người mà là bất thường đối với globulin miễn dịch người ở vị trí đó. Các axit amin này có thể được thay thế bằng các axit amin từ vị trí tương đương của kháng thể cho của chuột hoặc từ các vị trí tương đương của các globulin miễn dịch người điển hình hơn.

Các gốc khung khác mà là ứng viên cho sự thế là các gốc glutamin đầu cùng N (Q) mà có thể được thay thế bằng axit glutamic (E) để làm giảm tối đa khả năng chuyển hóa pyroglutamat [Y. Diana Liu, và đồng tác giả, 2011, *J. Biol. Chem.*, 286: 11211–11217].

Sự chuyển hóa axit glutamic (E) thành pyroglutamat (pE) xảy ra chậm hơn so với từ glutamin (Q). Do sự mất amin bậc một trong sự biến đổi glutamin thành pE, các kháng thể trở nên có tính axit hơn. Sự biến đổi không hoàn toàn tạo ra tính không đồng nhất trong kháng thể mà có thể quan sát được dưới dạng nhiều đỉnh bằng cách sử dụng các phương pháp phân tích dựa vào điện tích. Sự khác biệt về tính không đồng nhất có thể chỉ ra sự thiếu kiểm soát quy trình.

Các kháng thể được làm tương thích với người được lấy làm ví dụ là các dạng được làm tương thích với người của 3D6 của chuột, được ký hiệu là Hu3D6.

Kháng thể 3D6 của chuột chứa vùng biến đổi chuỗi nặng và nhẹ trưởng thành có trình tự axit amin lần lượt chứa SEQ ID NO: 7 và SEQ ID NO:11. Sáng chế đề xuất dạng được làm tương thích với người của kháng thể 3D6 chuột nhất bao gồm 10 vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành được làm tương thích với người lấy làm ví dụ (hu3D6VHvb1 (SEQ ID NO:76), hu3D6VHvb2 (SEQ ID NO:77), hu3D6VHvb3 (SEQ ID NO:78), hu3D6VHvb4 (SEQ ID NO:79), hu3D6VHvb5 (SEQ ID NO:80), hu3D6VHvb6 (SEQ ID NO:90), hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91), hu3D6VHv1bA11 D60E (h3D6VHvb8, SEQ ID NO:146), hu3D6VHv1bA11 L82cV (SEQ ID NO:147), và hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R (h3D6VHvb9, SEQ ID NO:148)) và 56 vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành được làm tương thích với người được lấy làm ví dụ (hu3D6VLvb1 (SEQ ID NO:83), hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84), hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85), hu3D6VLv2 L54D (SEQ ID NO:93), hu3D6VLv2 L54G (SEQ ID NO:94), hu3D6VLv2 L54N (SEQ ID NO:95), hu3D6VLv2 L54E (SEQ ID NO:96), hu3D6VLv2 L50E (SEQ ID NO:97), hu3D6VLv2 L54Q (SEQ ID NO:98), hu3D6VLv2 L50D (SEQ ID NO:99), hu3D6VLv2 L54K (SEQ ID NO:100), hu3D6VLv2 L54R (SEQ ID NO:101), hu3D6VLv2 L54T (SEQ ID NO:102), hu3D6VLv2 L50G (SEQ ID NO:103), hu3D6VLv2 I48G (SEQ ID NO:104), hu3D6VLv2 I48D (SEQ ID NO:105), hu3D6VLv2 L47G (SEQ ID NO:106), hu3D6VLv2 Y49E (SEQ ID NO:107), hu3D6VLv2 L54V (SEQ ID NO:108), hu3D6VLv2 L54S (SEQ ID NO:109), hu3D6VLv2 S52G (SEQ ID NO:110), hu3D6VLv2 L47N (SEQ ID NO:111), hu3D6VLv2 L47D (SEQ ID NO:112), hu3D6VLv2 L47E (SEQ ID NO:113), hu3D6VLv2 L47P (SEQ ID NO:114), hu3D6VLv2 L47T (SEQ ID NO:115), hu3D6VLv2 L47S (SEQ ID NO:116), hu3D6VLv2 L47A (SEQ ID NO:117), hu3D6VLv2 L50V (SEQ ID NO:118), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R (SEQ ID NO:119), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G (SEQ ID NO:120), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G (SEQ ID

NO:121), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (SEQ ID NO:122), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T (SEQ ID NO:123), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D (SEQ ID NO:124), hu3D6VLv2 L37Q_L54R (SEQ ID NO:125), hu3D6VLv2 L37Q_L54G (SEQ ID NO:126), hu3D6VLv2 L37Q_L54D (SEQ ID NO:127), hu3D6VLv2 L37Q_L50G (SEQ ID NO:128), hu3D6VLv2 L37Q_L50D (SEQ ID NO:129), hu3D6VLv2 L37Q_L54T (SEQ ID NO:130), hu3D6VLv2 L37Q_S52G (SEQ ID NO:131), hu3D6VLv2 L37Q_L54E (SEQ ID NO:145), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G (SEQ ID NO:132), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R (SEQ ID NO:133), hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G (SEQ ID NO:134), hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R (SEQ ID NO:135), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:136), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q (SEQ ID NO:137), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:138), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q (SEQ ID NO:139), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q (SEQ ID NO:140), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q (SEQ ID NO:141), hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q (SEQ ID NO:142), hu3D6VLv2 L37Q (SEQ ID NO:143), và hu3D6VLv2 G100Q (SEQ ID NO:144)).

Các hình 2 và 3 lần lượt thể hiện sự sắp xếp thẳng hàng của vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ của 3D6 chuột nhắt và các kháng thể được làm tương thích với người khác nhau. Các hình 9A và 9B thể hiện sự sắp xếp thẳng hàng của vùng biến đổi chuỗi nặng của 3D6 chuột nhắt với vùng biến đổi chuỗi nặng của các kháng thể được làm tương thích với người khác nhau. Các hình 10A, 10B, 10C, và 10D minh họa sự sắp xếp thẳng hàng của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của hu3D6VLv2 với vùng biến đổi chuỗi nhẹ của các kháng thể được làm tương thích với người khác nhau.

Với các lý do như ảnh hưởng có thể trên cấu hình CDR và/hoặc khả năng liên kết với kháng nguyên, gây ra sự tương tác giữa các chuỗi nặng và nhẹ, tương tác với vùng hằng định, là vị trí biến đổi sau dịch mã mong muốn hoặc không mong muốn, là gốc bất thường về vị trí của nó trong trình tự vùng biến đổi của người và do đó có khả năng gây miễn dịch, có khả năng kết tụ, và các lý do khác, 35 vị trí khung vùng biến đổi sau đây được xem là ứng viên cho sự thể trong 56 vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành của người điển hình và 10 vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành của người điển hình, như được xác định thêm trong các ví dụ: L7 (T7S), L10 (T10S), L15 (I15L), L17 (Q17E), L37 (L37Q), L45 (K45R), L47 (L47G, L47N, L47D, L47E, L47P, L47T, L47S, hoặc L47A), L48 (I48G

hoặc I48D), L49 (Y49E), L83 (L83V), L86 (H86Y), L100 (A100Q), L106 (L106I), H1 (Q1E), H5 (Q5V), H11 (L11V), H17 (S17T), H20 (L20I), H23 (T23K), H38 (K38R), H42 (E42G), H43 (Q43K), H66 (K66R), H67 (A67V), H75 (S75T), H76 (N76D), H80 (L80M), H81 (Q81E), H82c (L82cV), H83 (T83R), H91 (Y91F), H93 (A93S), H94 (S94T), H108 (T108L), và H109 (L109V). 9 vị trí CDR vùng biến đổi sau đây được coi là các ứng viên để thế trong 56 vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành người được lấy ví dụ và 10 vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành người được lấy ví dụ, như được xác định thêm trong các ví dụ: L24 (K24R), L50 (L50E, L50D, L50G, hoặc L50V), L52 (S52G), L54 (L54D, L54G, L54N, L54E, L54Q, L54K, L54R, L54T, L54V, hoặc L54S), H28 (N28T), H54 (N54D), H56 (D56E), H58 (V58I), và H60 (D60E). Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, CDR-H2 Kabat có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:87. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, Kabat CDR-H2 có trình tự axit amin gồm SEQ ID NO:149. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, CDR-H1 Tổ hợp Kabat-Chothia có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:86, và CDR-H2 Kabat có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:87. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, CDR-H1 Tổ hợp Kabat-Chothia có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:86 và CDR-H2 Kabat có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:88. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, CDR-H1 Tổ hợp Kabat-Chothia có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:86 và CDR-H2 Kabat có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:92. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, CDR-L1 Kabat có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:89. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, Kabat CDR-L2 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có các SEQ ID NO:150-175.

Ở đây, hay ở chỗ khác, gốc được đề cập đến đầu tiên là gốc của kháng thể được làm tương thích với người được tạo thành bằng cách ghép các CDR Kabat hoặc các CDR tổ hợp Chothia-Kabat trong trường hợp của CDR-H1 vào khung nhận của người, và gốc được đề cập đến thứ hai là gốc được xem xét để thay thế gốc đó. Do đó, ở trong khung vùng biến đổi, gốc được đề cập đến đầu tiên là của người, và ở trong các CDR, gốc được đề cập đến đầu tiên là của chuỗi nhẹ.

Các kháng thể được lấy ví dụ bao gồm hoán vị hoặc dạng kết hợp bất kỳ của các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ trưởng thành được lấy ví dụ VHvb1/VLvb1, VHvb1/VLvb2, VHvb1/VLvb3, VHvb2/VLvb1, VHvb2/VLvb2, VHvb2/VLvb3,

VHvb3/VLvb1, VHvb3/VLvb2, VHvb3/VLvb3, VHvb4/VLvb1, VHvb4/VLvb2, VHvb4/VLvb3, VHvb5/VLvb1, VHvb5/VLvb2, VHvb5/VLvb3, VHvb6/VLvb1, VHvb6/VLvb2, VHvb6/VLvb3, VHvb7/VLvb1, VHvb7/VLvb2, VHvb7/VLvb3. Các kháng thể được lấy ví dụ bao gồm hoán vị hoặc dạng kết hợp bất kỳ của các vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành được lấy ví dụ hu3D6VHvb1 (SEQ ID NO:76), hu3D6VHvb2 (SEQ ID NO:77), hu3D6VHvb3 (SEQ ID NO:78), hu3D6VHvb4 (SEQ ID NO:79), hu3D6VHvb5 (SEQ ID NO:80), hu3D6VHvb6 (SEQ ID NO:90), hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91), hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91), hu3D6VHv1bA11 D60E (h3D6VHvb8, SEQ ID NO:146), hu3D6VHv1bA11 L82cV (SEQ ID NO:147), và hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R (h3D6VHvb9, SEQ ID NO:148) với vùng biến đổi chuỗi nhẹ 3D6VL được làm tương thích với người bất kỳ hu3D6VLvb1 (SEQ ID NO:83), hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84), hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85), hu3D6VLv2 L54D (SEQ ID NO:93), hu3D6VLv2 L54G (SEQ ID NO:94), hu3D6VLv2 L54N (SEQ ID NO:95), hu3D6VLv2 L54E (SEQ ID NO:96), hu3D6VLv2 L50E (SEQ ID NO:97), hu3D6VLv2 L54Q (SEQ ID NO:98), hu3D6VLv2 L50D (SEQ ID NO:99), hu3D6VLv2 L54K (SEQ ID NO:100), hu3D6VLv2 L54R (SEQ ID NO:101), hu3D6VLv2 L54T (SEQ ID NO:102), hu3D6VLv2 L50G (SEQ ID NO:103), hu3D6VLv2 I48G (SEQ ID NO:104), hu3D6VLv2 I48D (SEQ ID NO:105), hu3D6VLv2 L47G (SEQ ID NO:106), hu3D6VLv2 Y49E (SEQ ID NO:107), hu3D6VLv2 L54V (SEQ ID NO:108), hu3D6VLv2 L54S (SEQ ID NO:109), hu3D6VLv2 S52G (SEQ ID NO:110), hu3D6VLv2 L47N (SEQ ID NO:111), hu3D6VLv2 L47D (SEQ ID NO:112), hu3D6VLv2 L47E (SEQ ID NO:113), hu3D6VLv2 L47P (SEQ ID NO:114), hu3D6VLv2 L47T (SEQ ID NO:115), hu3D6VLv2 L47S (SEQ ID NO:116), hu3D6VLv2 L47A (SEQ ID NO:117), hu3D6VLv2 L50V (SEQ ID NO:118), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R (SEQ ID NO:119), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G (SEQ ID NO:120), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G (SEQ ID NO:121), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (SEQ ID NO:122), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T (SEQ ID NO:123), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D (SEQ ID NO:124), hu3D6VLv2 L37Q_L54R (SEQ ID NO:125), hu3D6VLv2 L37Q_L54G (SEQ ID NO:126), hu3D6VLv2 L37Q_L54D (SEQ ID NO:127), hu3D6VLv2 L37Q_L50G (SEQ ID NO:128), hu3D6VLv2 L37Q_L50D (SEQ ID NO:129), hu3D6VLv2 L37Q_L54T (SEQ ID NO:130), hu3D6VLv2 L37Q_S52G (SEQ ID NO:131), hu3D6VLv2 L37Q_L54E (SEQ ID NO:145), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G (SEQ ID NO:132), hu3D6VLv2

L37Q_L50D_L54R (SEQ ID NO:133), hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G (SEQ ID NO:134), hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R (SEQ ID NO:135), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:136), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q (SEQ ID NO:137), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:138), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q (SEQ ID NO:139), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q (SEQ ID NO:140), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q (SEQ ID NO:141), hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q (SEQ ID NO:142), hu3D6VLv2 L37Q (SEQ ID NO:143), và hu3D6VLv2 G100Q (SEQ ID NO:144).

Các kháng thể được lấy ví dụ bao gồm hoán vị hoặc dạng kết hợp bất kỳ của các vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành được lấy ví dụ hu3D6VHvb1 (SEQ ID NO:76), hu3D6VHvb2 (SEQ ID NO:77), hu3D6VHvb3 (SEQ ID NO:78), hu3D6VHvb4 (SEQ ID NO:79), hu3D6Hvb5 (SEQ ID NO:80), hu3D6VHvb6 (SEQ ID NO:90), hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91), hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91), hu3D6VHv1bA11 D60E (h3D6VHvb8, SEQ ID NO:146), hu3D6VHv1bA11 L82cV (SEQ ID NO:147), và hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R (h3D6VHvb9, SEQ ID NO:148) với vùng biến đổi chuỗi nhẹ 3D6VL được làm tương thích với người bất kỳ hu3D6VLv1 (SEQ ID NO:20), hu3D6VLv2 (SEQ ID NO:21), hu3D6VLv3 (SEQ ID NO:22), và hu3D6VLv4 (SEQ ID NO:22). Các kháng thể được lấy ví dụ bao gồm hoán vị hoặc dạng kết hợp bất kỳ của vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành được lấy ví dụ hu3D6VLvb1 (SEQ ID NO:83), hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84), hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85), hu3D6VLv2 L54D (SEQ ID NO:93), hu3D6VLv2 L54G (SEQ ID NO:94), hu3D6VLv2 L54N (SEQ ID NO:95), hu3D6VLv2 L54E (SEQ ID NO:96), hu3D6VLv2 L50E (SEQ ID NO:97), hu3D6VLv2 L54Q (SEQ ID NO:98), hu3D6VLv2 L50D (SEQ ID NO:99), hu3D6VLv2 L54K (SEQ ID NO:100), hu3D6VLv2 L54R (SEQ ID NO:101), hu3D6VLv2 L54T (SEQ ID NO:102), hu3D6VLv2 L50G (SEQ ID NO:103), hu3D6VLv2 I48G (SEQ ID NO:104), hu3D6VLv2 I48D (SEQ ID NO:105), hu3D6VLv2 L47G (SEQ ID NO:106), hu3D6VLv2 Y49E (SEQ ID NO:107), hu3D6VLv2 L54V (SEQ ID NO:108), hu3D6VLv2 L54S (SEQ ID NO:109), hu3D6VLv2 S52G (SEQ ID NO:110), hu3D6VLv2 L47N (SEQ ID NO:111), hu3D6VLv2 L47D (SEQ ID NO:112), hu3D6VLv2 L47E (SEQ ID NO:113), hu3D6VLv2 L47P (SEQ ID NO:114), hu3D6VLv2 L47T (SEQ ID NO:115), hu3D6VLv2 L47S (SEQ ID NO:116), hu3D6VLv2 L47A (SEQ ID NO:117), hu3D6VLv2 L50V (SEQ ID NO:118), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R (SEQ ID NO:119), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G (SEQ ID

NO:120), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G (SEQ ID NO:121), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (SEQ ID NO:122), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T (SEQ ID NO:123), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D (SEQ ID NO:124), hu3D6VLv2 L37Q_L54R (SEQ ID NO:125), hu3D6VLv2 L37Q_L54G (SEQ ID NO:126), hu3D6VLv2 L37Q_L54D (SEQ ID NO:127), hu3D6VLv2 L37Q_L50G (SEQ ID NO:128), hu3D6VLv2 L37Q_L50D (SEQ ID NO:129), hu3D6VLv2 L37Q_L54T (SEQ ID NO:130), hu3D6VLv2 L37Q_S52G (SEQ ID NO:131), hu3D6VLv2 L37Q_L54E (SEQ ID NO:145), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G (SEQ ID NO:132), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R (SEQ ID NO:133), hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G (SEQ ID NO:134), hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R (SEQ ID NO:135), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:136), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q (SEQ ID NO:137), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:138), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q (SEQ ID NO:139), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q (SEQ ID NO:140), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q (SEQ ID NO:141), hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q (SEQ ID NO:142), hu3D6VLv2 L37Q (SEQ ID NO:143), và hu3D6VLv2 G100Q (SEQ ID NO:144) với vùng biến đổi chuỗi nặng 3D6 được làm tương thích với người bất kỳ hu3D6VHv1 (SEQ ID NO:15); hu3D6VHv2 (SEQ ID NO:16); hu3D6VHv1b (SEQ ID NO:17); hu3D6VHv1bA11 (SEQ ID NO:18); hu3D6VHv5 (SEQ ID NO:19); hu3D6VHv1bA11B6G2 (SEQ ID NO:46); hu3D6VHv1bA11B6H3 (SEQ ID NO:47); hu3D6VHv1c (SEQ ID NO:48); hu3D6VHv1d (SEQ ID NO:49); hu3D6VHv1e (SEQ ID NO:50); hu3D6VHv1f (SEQ ID NO:51); hu3D6VHv3 (SEQ ID NO:52); hu3D6VHv3b (SEQ ID NO:53); hu3D6VHv3c (SEQ ID NO:54); hu3D6VHv4 (SEQ ID NO:55); hu3D6VHv4b (SEQ ID NO:56); và hu3D6VHv4c (SEQ ID NO:57).

Sáng chế đề xuất kháng thể trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng được làm tương thích với người hu3D6VHv1bA11, còn được gọi là h3D6Hu5, (SEQ ID NO:18) được kết hợp với vùng biến đổi chuỗi nhẹ được làm tương thích với người hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (L2-DIM4, SEQ ID NO:122). Sáng chế đề xuất kháng thể trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng được làm tương thích với người hu3D6VHv1bA11, còn được gọi là h3D6Hu5, (SEQ ID NO:18) được kết hợp với vùng biến đổi chuỗi nhẹ được làm tương thích với người hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T (L2-DIM5, SEQ ID NO:123). Sáng chế đề xuất kháng thể trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng được làm tương thích với người

h3D6VHvb8 (SEQ ID NO:146) được kết hợp với vùng biến đổi chuỗi nhẹ được làm tương thích với người hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (L2-DIM4, SEQ ID NO:122). Sáng chế đề xuất kháng thể trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng được làm tương thích với người hu3D6VHv1bA11, còn được gọi là h3D6Hu5, (SEQ ID NO:18) được kết hợp với vùng biến đổi chuỗi nhẹ được làm tương thích với người hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G (L2-DIM3, SEQ ID NO:121). Sáng chế đề xuất kháng thể trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng được làm tương thích với người hu3D6VHv1bA11, còn được gọi là h3D6Hu5, (SEQ ID NO:18) được kết hợp với vùng biến đổi chuỗi nhẹ được làm tương thích với người hu3D6VLv2 S52G (L2-DIM9, SEQ ID NO:110). Sáng chế đề xuất kháng thể trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng được làm tương thích với người h3D6VHvb8 (SEQ ID NO:146) được kết hợp với vùng biến đổi chuỗi nhẹ được làm tương thích với người hu3D6VLv2 L54G (L2-DIM7, SEQ ID NO:94). Sáng chế đề xuất kháng thể trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng được làm tương thích với người hu3D6VHv1bA11, còn được gọi là h3D6Hu5, (SEQ ID NO:18) được kết hợp với vùng biến đổi chuỗi nhẹ được làm tương thích với người hu3D6VLv2 L50G (L2-DIM22, SEQ ID NO:103).

Sáng chế đề xuất kháng thể trong đó vùng bất kỳ trong số các vùng biến đổi chuỗi nặng được làm tương thích với người điển hình được kết hợp với vùng hằng định chuỗi nặng của người. Vùng hằng định chuỗi nặng của người điển hình được đề xuất là SEQ ID NO:176 (IgG1: alotyp G1m17,1). Ví dụ, SEQ ID NO:178 thể hiện trình tự axit amin của chuỗi nặng trưởng thành của biến thể được làm tương thích với người 3D6 (alotyp hu3D6VHv1bA11 IgG1 G1m17). Ví dụ, SEQ ID NO:180 thể hiện trình tự axit amin của chuỗi nặng của biến thể được làm tương thích với người 3D6 (alotyp hu3D6VHv1bA11 IgG1 G1m17) peptit tín hiệu alpha-lactalbumin bò ở đầu cùng N. Sáng chế đề xuất kháng thể trong đó vùng bất kỳ trong số các vùng biến đổi chuỗi nhẹ được làm tương thích với người điển hình được kết hợp với vùng hằng định chuỗi nhẹ. Vùng hằng định chuỗi nhẹ điển hình được đề xuất là SEQ ID NO:177 (kapa). Ví dụ, SEQ ID NO:179 thể hiện trình tự axit amin của chuỗi nhẹ trưởng thành của biến thể được làm tương thích với người 3D6 (biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R, L2-DIM4 kapa). Ví dụ, SEQ ID NO:181 thể hiện trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của biến thể được làm tương thích với người 3D6 (biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R, L2-DIM4 kapa) với peptit tín hiệu alpha-lactalbumin bò ở đầu cùng N.

Sáng chế đề xuất các biến thể của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành được làm tương thích với người thể hiện độ tương đồng ít nhất là 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% với hu3D6VHvb1 (SEQ ID NO:76), hu3D6VHvb2 (SEQ ID NO:77), hu3D6VHvb3 (SEQ ID NO:78), hu3D6VHvb4 (SEQ ID NO:79), hu3D6Hvb5 (SEQ ID NO:80), hu3D6VHvb6 (SEQ ID NO:90), hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91), hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91), hu3D6VHv1bA11 D60E (h3D6VHvb8, SEQ ID NO:146), hu3D6VHv1bA11 L82cV (SEQ ID NO:147), hoặc hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R (h3D6VHvb9, SEQ ID NO:148) và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành được làm tương thích với người thể hiện độ tương đồng ít nhất là 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% với hu3D6VLvb1 (SEQ ID NO:83), hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84), hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85), hu3D6VLv2 L54D (SEQ ID NO:93), hu3D6VLv2 L54G (SEQ ID NO:94), hu3D6VLv2 L54N (SEQ ID NO:95), hu3D6VLv2 L54E (SEQ ID NO:96), hu3D6VLv2 L50E (SEQ ID NO:97), hu3D6VLv2 L54Q (SEQ ID NO:98), hu3D6VLv2 L50D (SEQ ID NO:99), hu3D6VLv2 L54K (SEQ ID NO:100), hu3D6VLv2 L54R (SEQ ID NO:101), hu3D6VLv2 L54T (SEQ ID NO:102), hu3D6VLv2 L50G (SEQ ID NO:103), hu3D6VLv2 I48G (SEQ ID NO:104), hu3D6VLv2 I48D (SEQ ID NO:105), hu3D6VLv2 L47G (SEQ ID NO:106), hu3D6VLv2 Y49E (SEQ ID NO:107), hu3D6VLv2 L54V (SEQ ID NO:108), hu3D6VLv2 L54S (SEQ ID NO:109), hu3D6VLv2 S52G (SEQ ID NO:110), hu3D6VLv2 L47N (SEQ ID NO:111), hu3D6VLv2 L47D (SEQ ID NO:112), hu3D6VLv2 L47E (SEQ ID NO:113), hu3D6VLv2 L47P (SEQ ID NO:114), hu3D6VLv2 L47T (SEQ ID NO:115), hu3D6VLv2 L47S (SEQ ID NO:116), hu3D6VLv2 L47A (SEQ ID NO:117), hu3D6VLv2 L50V (SEQ ID NO:118), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R (SEQ ID NO:119), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G (SEQ ID NO:120), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G (SEQ ID NO:121), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (SEQ ID NO:122), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T (SEQ ID NO:123), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D (SEQ ID NO:124), hu3D6VLv2 L37Q_L54R (SEQ ID NO:125), hu3D6VLv2 L37Q_L54G (SEQ ID NO:126), hu3D6VLv2 L37Q_L54D (SEQ ID NO:127), hu3D6VLv2 L37Q_L50G (SEQ ID NO:128), hu3D6VLv2 L37Q_L50D (SEQ ID NO:129), hu3D6VLv2 L37Q_L54T (SEQ ID NO:130), hu3D6VLv2 L37Q_S52G (SEQ ID NO:131), hu3D6VLv2 L37Q_L54E (SEQ ID NO:145), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G (SEQ ID NO:132), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R (SEQ ID NO:133), hu3D6VLv2

L37Q_L50E_L54G (SEQ ID NO:134), hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R (SEQ ID NO:135), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:136), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q (SEQ ID NO:137), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:138), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q (SEQ ID NO:139), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q (SEQ ID NO:140), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q (SEQ ID NO:141), hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q (SEQ ID NO:142), hu3D6VLv2 L37Q (SEQ ID NO:143), hoặc hu3D6VLv2 G100Q (SEQ ID NO:144). Trong một số kháng thể như vậy ít nhất là 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, hoặc tất cả 44 đột biến ngược hoặc các đột biến khác trong các SEQ ID NO:76-80, các SEQ ID NO:90-91, các SEQ ID NO:146-148, các SEQ ID NO:83-85, và các SEQ ID NO:93-145 được giữ lại.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, ít nhất là một trong các vị trí sau đây trong vùng VH được chiếm bởi axit amin như được xác định: H93 được chiếm bởi S và H94 được chiếm bởi T. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí H93 và H94 lần lượt được chiếm bởi S và T.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí H91 trong vùng VH được chiếm bởi F.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, ít nhất là một trong các vị trí sau đây trong vùng VH được chiếm bởi axit amin như được xác định: H1 được chiếm bởi E, H5 được chiếm bởi V, H11 được chiếm bởi V, H20 được chiếm bởi I, H23 được chiếm bởi K, H38 được chiếm bởi R, H42 được chiếm bởi G, H43 được chiếm bởi K, H66 được chiếm bởi R, H75 được chiếm bởi T, H76 được chiếm bởi D, H81 được chiếm bởi E, H108 được chiếm bởi L, H109 được chiếm bởi V. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí H1, H5, H11, H20, H23, H38, H42, H43, H66, H75, H76, H81, H108, và H109 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi E, V, V, I, K, R, G, K, R, T, D, E, L, và V.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, ít nhất là một trong các vị trí sau đây trong vùng VH được chiếm bởi axit amin như được xác định: H17 được chiếm bởi T, H80 được chiếm bởi M, H83 được chiếm bởi R. Trong một số kháng thể 3D6

được làm tương thích với người, các vị trí H17, H80, và H83 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi T, M, và R.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí H58 trong vùng VH được chiếm bởi I.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, ít nhất là một trong các vị trí sau đây trong vùng VH được chiếm bởi axit amin như được xác định: H28 được chiếm bởi T, H67 được chiếm bởi V. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí H28 và H67 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi T và V.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, ít nhất là một trong các vị trí sau đây trong vùng VH được chiếm bởi axit amin như được xác định: H54 được chiếm bởi D, H56 được chiếm bởi E. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí H54 và H56 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi D và E.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, ít nhất là một trong các vị trí sau đây trong vùng VH được chiếm bởi axit amin như được xác định: H1 được chiếm bởi Q hoặc E, H5 được chiếm bởi Q hoặc V, H11 được chiếm bởi L hoặc V, H17 được chiếm bởi S hoặc T, H20 được chiếm bởi L hoặc I, H23 được chiếm bởi T hoặc K, H28 được chiếm bởi N hoặc T, H38 được chiếm bởi K hoặc R, H42 được chiếm bởi E hoặc G, H43 được chiếm bởi Q hoặc K, H54 được chiếm bởi N hoặc D, H56 được chiếm bởi D hoặc E, H58 được chiếm bởi V hoặc I, H66 được chiếm bởi K hoặc R, H67 được chiếm bởi A hoặc V, H75 được chiếm bởi S hoặc T, H76 được chiếm bởi N hoặc D, H80 được chiếm bởi L hoặc M, H81 được chiếm bởi Q hoặc E, H83 được chiếm bởi T hoặc R, H91 được chiếm bởi F hoặc Y, H93 được chiếm bởi S, H94 được chiếm bởi T, H108 được chiếm bởi T hoặc L, H109 được chiếm bởi L hoặc V.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí H91, H93, và H94 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi F, S, và T, như trong huVHvb1. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí H1, H5, H11, H20, H23, H38, H42, H43, H66, H75, H76, H81, H91, H93, H94, H108, và H109 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi E, V, V, I, K, R, G, K, R, T, D, E, F, S, T, L, và V, như trong huVHvb2. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí H1, H5, H11, H17, H20, H23, H38, H42, H43, H58, H66, H75, H76, H80, H81, H83, H93, H94, H108, và H109 trong vùng VH được chiếm bởi E, V, V, T, I, K, R, G, K, I, R, T, D, M, E, R, S, T,

L, và V, lần lượt, như trong huVHvb3. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí H1, H5, H11, H17, H20, H23, H28, H38, H42, H43, H58, H66, H67, H75, H76, H80, H81, H83, H93, H94, H108, và H109 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi E, V, V, T, I, K, T, R, G, K, I, R, V, T, D, M, E, R, S, T, L, và V, như trong huVHvb4. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí H1, H5, H11, H17, H20, H23, H28, H38, H42, H43, H54, H56, H58, H66, H67, H75, H76, H80, H81, H83, H93, H94, H108, và H109 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi E, V, V, T, I, K, T, R, G, K, D, E, I, R, V, T, D, M, E, R, S, T, L, và V, như trong huVHvb5. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí H1, H5, H11, H17, H20, H23, H28, H38, H42, H43, H54, H56, H66, H67, H75, H76, H80, H81, H83, H91, H93, H94, H108, và H109 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi E, V, V, T, I, K, T, R, G, K, D, E, R, V, T, D, M, E, R, F, S, T, L, và V, như trong huVHvb6. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí H1, H5, H11, H17, H20, H23, H28, H38, H42, H43, H54, H56, H66, H67, H75, H76, H80, H81, H83, H93, H94, H108, và H109 trong vùng VH lần lượt được chiếm bởi E, V, V, T, I, K, T, R, G, K, D, E, R, V, T, D, M, E, R, S, T, L, và V, như trong huVHvb7.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí H60 bị chiếm bởi E, như trong hu3D6VHv1bA11 D60E (h3D6VHvb8). Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí H82C bị chiếm bởi V, như trong hu3D6VHv1bA11 L82cV. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí H60, H80, H81, H82c, và H83 bị chiếm bởi E, M, E, V, và R, như trong hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R (h3D6VHvb9).

Vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể được viện dẫn trên đây có thể được biến đổi để làm giảm hơn nữa khả năng gây miễn dịch. Ví dụ, trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người vị trí H80 bị chiếm bởi M và/hoặc vị trí H82c bị chiếm bởi V.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, ít nhất là một trong các vị trí sau đây trong vùng VL được chiếm bởi axit amin như được xác định: L7 được chiếm bởi S, L10 được chiếm bởi S, L15 được chiếm bởi L, L83 được chiếm bởi V, L86 được chiếm bởi Y, và L106 được chiếm bởi I. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L7, L10, L15, L83, L86, và L106 lần lượt được chiếm bởi S, S, L, V, Y, và Y.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, ít nhất là một trong các vị trí sau đây trong vùng VL được chiếm bởi axit amin như được xác định: L7 là T hoặc S, L10 là T hoặc S, L15 là I hoặc L, L17 là Q hoặc E, L24 là K hoặc R, L37 là L hoặc Q, L45 là K hoặc R, L83 là L hoặc V, L86 là H hoặc Y, L100 là A hoặc Q, L106 là L hoặc I.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L7, L10, L15, L83, L86, và L106 trong vùng VL lần lượt được chiếm bởi S, S, L, V, Y, và I, như trong huVLvb2. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L7, L10, L15, L17, L24, L37, L45, L83, L86, L100, và L106 trong vùng VL lần lượt được chiếm bởi S, S, L, E, R, Q, R, V, Y, Q, và I, như trong huVLvb3.

Vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể được viện dẫn trên đây có thể được biến đổi để làm giảm hơn nữa khả năng gây miễn dịch. Ví dụ, trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người vị trí L47 bị chiếm bởi G, N, D, E, P, T, S hoặc A; vị trí L48 bị chiếm bởi G hoặc D; vị trí L49 bị chiếm bởi E; vị trí L50 bị chiếm bởi E, D, G, hoặc V; vị trí L52 bị chiếm bởi G; và/hoặc vị trí L54 bị chiếm bởi D, G, N, E, Q, K, R, T, V hoặc S. Vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể được viện dẫn trên đây có thể được biến đổi để làm giảm hơn nữa khả năng gây miễn dịch. Ví dụ, trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người vị trí H80 bị chiếm bởi M và/hoặc vị trí H82c bị chiếm bởi V.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L54 bị chiếm bởi D, như trong hu3D6VLv2 L54D. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L54 bị chiếm bởi G, như trong hu3D6VLv2 L54G. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L54 bị chiếm bởi N, như trong hu3D6VLv2 L54N. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L54 bị chiếm bởi E, như trong hu3D6VLv2 L54E. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L50 bị chiếm bởi E, như trong hu3D6VLv2 L50E. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L54 bị chiếm bởi Q, như trong hu3D6VLv2 L54Q. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L50 bị chiếm bởi D, như trong hu3D6VLv2 L50D. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L54 bị chiếm bởi K, như trong hu3D6VLv2 L54K. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L54 bị chiếm bởi R, như trong hu3D6VLv2 L54R. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L54 bị chiếm

bởi T, như trong hu3D6VLv2 L54T. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L50 bị chiếm bởi G, như trong hu3D6VLv2 L50G. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L48 bị chiếm bởi G, như trong hu3D6VLv2 I48G. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L48 bị chiếm bởi D, như trong hu3D6VLv2 I48D. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L47 bị chiếm bởi G, như trong hu3D6VLv2 L47G. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L49 bị chiếm bởi E, như trong hu3D6VLv2 Y49E. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L54 bị chiếm bởi V, như trong hu3D6VLv2 L54V. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L54 bị chiếm bởi S, như trong hu3D6VLv2 L54S. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L52 bị chiếm bởi G, như trong hu3D6VLv2 S52G. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L47 bị chiếm bởi N, như trong hu3D6VLv2 L47N. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L47 bị chiếm bởi D, như trong hu3D6VLv2 L47D. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L47 bị chiếm bởi E, như trong hu3D6VLv2 L47E. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L47 bị chiếm bởi P, như trong hu3D6VLv2 L47P. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L47 bị chiếm bởi T, như trong hu3D6VLv2 L47T. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L47 bị chiếm bởi S, như trong hu3D6VLv2 L47S. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L47 bị chiếm bởi A, như trong hu3D6VLv2 L47A. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L50 bị chiếm bởi V, như trong hu3D6VLv2 L50V.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37, L50, và L54 lần lượt bị chiếm bởi Q, G, và R, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37, L50, và L54 lần lượt bị chiếm bởi Q, G, và G, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37, L52, và L54 lần lượt bị chiếm bởi Q, G, và G, như trong hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37, L52, và L54 lần lượt bị chiếm bởi Q, G, và R, như trong hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37, L52, và L54 lần lượt bị chiếm bởi Q, G, và T, như trong hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với

người, các vị trí L37, L52, và L54 lần lượt bị chiếm bởi Q, G, và D, như trong hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37 và L54 lần lượt bị chiếm bởi Q và R, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L54R. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37 và L54 lần lượt bị chiếm bởi Q và G, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L54G. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37 và L54 lần lượt bị chiếm bởi Q và D, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L54D. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37 và L50 lần lượt bị chiếm bởi Q và G, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L50G. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37 và L50 lần lượt bị chiếm bởi Q và D, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L50D. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37 và L54 lần lượt bị chiếm bởi Q và T, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L54T. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37 và L52 lần lượt bị chiếm bởi Q và G, như trong hu3D6VLv2 L37Q_S52G. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37 và L54 lần lượt bị chiếm bởi Q và E, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L54E.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37, L50, và L54 lần lượt bị chiếm bởi Q, D, và G, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37, L50, và L54 lần lượt bị chiếm bởi Q, D, và R, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37, L50, và L54 lần lượt bị chiếm bởi Q, E, và G, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37, L50, và L54 lần lượt bị chiếm bởi Q, E, và R, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37, L50, L54, và L100 lần lượt bị chiếm bởi Q, G, R, và Q, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37, L50, L54, và L100 lần lượt bị chiếm bởi Q, G, G, và Q, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37, L52, L54, và L100 lần lượt bị chiếm bởi Q, G, R, và Q, như trong hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37, L52, L54, và L100 lần lượt bị chiếm bởi Q, G, D, và

Q, như trong hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37, L50, L54, và L100 lần lượt bị chiếm bởi Q, D, G, và Q, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37, L50, L54, và L100 lần lượt bị chiếm bởi Q, D, R, và Q, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, các vị trí L37, L50, L54, và L100 lần lượt bị chiếm bởi Q, V, D, và Q, như trong hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L37 bị chiếm bởi Q, như trong hu3D6VLv2 L37Q. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, vị trí L100 bị chiếm bởi Q như trong hu3D6VLv2 G100Q.

Một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành chứa các CDR H1, H2 và H3 lần lượt gồm các SEQ ID NO:8, 9, và 10, ngoại trừ là vị trí H28 có thể bị chiếm bởi N hoặc T, H54 có thể bị chiếm bởi N hoặc D, H56 có thể bị chiếm bởi D hoặc E, vị trí H58 bị chiếm bởi V hoặc I, và vị trí H60 có thể bị chiếm bởi D hoặc E, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành chứa các CDR L1, L2 và L3 gồm các SEQ ID NO.: 12, 13, và 14 tương ứng, ngoại trừ là vị trí L24 có thể bị chiếm bởi K hoặc R, vị trí L50 có thể bị chiếm bởi L, E, D, G, hoặc V, vị trí L52 có thể bị chiếm bởi S hoặc G, và vị trí L54 có thể bị chiếm bởi L, D, G, N, E, Q, K, R, T, V, hoặc S, trong đó ít nhất một vị trí trong số các vị trí sau đây bị chiếm bởi axit amin như được xác định: H1 bị chiếm bởi Q, H5 bị chiếm bởi Q, H11 bị chiếm bởi L, H20 bị chiếm bởi L, H23 bị chiếm bởi T, H38 bị chiếm bởi K, H75 bị chiếm bởi S, H56 bị chiếm bởi E, H58 bị chiếm bởi I, H60 bị chiếm bởi E, H82c bị chiếm bởi V, L10 bị chiếm bởi T, L17 bị chiếm bởi E, L24 bị chiếm bởi R, L37 bị chiếm bởi Q, L47 bị chiếm bởi G, N, D, E, P, T, S, hoặc A, L48 bị chiếm bởi G hoặc D, L49 bị chiếm bởi E, L50 bị chiếm bởi E, D, G, hoặc V, L52 bị chiếm bởi G, L54 bị chiếm bởi D, G, N, E, Q, K, R, T, V, hoặc S, L83 bị chiếm bởi L, L86 bị chiếm bởi H, L100 bị chiếm bởi Q, L106 bị chiếm bởi L.

Một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người bao gồm ba CDR chuỗi nhẹ và ba CDR chuỗi nặng của kháng thể đơn dòng 3D6, trong đó 3D6 là kháng thể của chuột được đặc trưng bởi vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin gồm SEQ ID NO:7 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin gồm SEQ ID NO:11, ngoại trừ là vị trí H27 có thể bị chiếm bởi F hoặc Y, vị trí H28 có thể bị chiếm bởi N hoặc T, vị trí H29 có thể bị chiếm bởi I hoặc F, vị trí H30 có thể bị chiếm bởi K hoặc T, vị trí H51 có thể bị chiếm bởi

I hoặc V, vị trí H54 có thể bị chiếm bởi N hoặc D, vị trí H60 có thể bị chiếm bởi D, A, hoặc E, vị trí H61 có thể bị chiếm bởi P hoặc E, vị trí H102 có thể bị chiếm bởi F hoặc Y, vị trí L50 có thể bị chiếm bởi L, E, D, G, hoặc V, vị trí L52 có thể bị chiếm bởi S hoặc G, và vị trí L54 có thể bị chiếm bởi L, D, G, N, E, Q, K, R, T, V, hoặc S, trong đó ít nhất một vị trí trong số các vị trí sau đây bị chiếm bởi axit amin như được xác định: L37 bị chiếm bởi Q, L47 bị chiếm bởi G, N, D, E, P, T, S, hoặc A, L48 bị chiếm bởi G hoặc D, L49 bị chiếm bởi E, L50 bị chiếm bởi E, D, G, hoặc V, L52 bị chiếm bởi G, L54 bị chiếm bởi D, G, N, E, Q, K, R, T, V, hoặc S, L100 bị chiếm bởi Q, H60 bị chiếm bởi E, H82c bị chiếm bởi V.

Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, chuỗi nặng biến đổi có độ tương đồng $\geq 85\%$ với trình tự người. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, chuỗi nhẹ biến đổi có độ tương đồng $\geq 85\%$ với trình tự người. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, mỗi trong số chuỗi nặng biến đổi và chuỗi nhẹ biến đổi có độ tương đồng $\geq 85\%$ với trình tự dòng mầm người. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, ba CDR chuỗi nặng là như định nghĩa bởi Tổ hợp Kabat/Chothia (các SEQ ID NO:8, 9, và 10) và ba CDR chuỗi nhẹ là như định nghĩa bởi Tổ hợp Kabat/Chothia (các SEQ ID NO:12, 13, và 14); với điều kiện là vị trí H28 được chiếm bởi N hoặc T, vị trí H54 được chiếm bởi N hoặc D, vị trí H56 được chiếm bởi D hoặc E, vị trí H58 được chiếm bởi V hoặc I, vị trí H60 bị chiếm bởi D hoặc E, vị trí L24 bị chiếm bởi K hoặc R, vị trí L50 bị chiếm bởi L, E, D, G, hoặc V, vị trí L52 bị chiếm bởi S hoặc G, và vị trí L54 bị chiếm bởi L, D, G, N, E, Q, K, R, T, V, hoặc S. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, CDR-H1 Tổ hợp Kabat/Chothia có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:86. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, CDR-H2 Kabat có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:87, SEQ ID NO:88, SEQ ID NO:92, hoặc SEQ ID NO:149. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, CDR-L1 Kabat có trình tự axit amin có chứa SEQ ID NO:89. Trong một số kháng thể 3D6 được làm tương thích với người, Kabat CDR-L2 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm gồm có các SEQ ID NO:150-175.

Các vùng CDR của kháng thể được làm tương thích với người này có thể tương đồng hoặc về cơ bản tương đồng với các vùng CDR của 3D6, các vùng CDR có thể được định nghĩa bởi định nghĩa theo quy ước bất kỳ (ví dụ như, Chothia, hoặc tổ hợp của Chothia và Kabat) nhưng tốt hơn là như định nghĩa bởi Kabat.

Các vị trí khung vùng biến đổi là theo cách đánh số Kabat trừ khi có chỉ dẫn khác. Các biến thể khác thường khác với các trình tự của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ Hu3D6 được lấy ví dụ bởi số lượng nhỏ (*ví dụ như*, thường là không nhiều hơn 1, 2, 3, 5, 10, hoặc 15) của sự thay thế, sự làm khuyết hoặc sự cài xen. Các khác biệt này thường ở trong vùng khung nhưng cũng có thể xảy ra trong các CDR.

Khả năng biến đổi thêm trong các biến thể 3D6 được làm tương thích với người là các đột biến ngược bổ sung trong các khung vùng biến đổi. Nhiều gốc khung không tiếp xúc với các CDR trong mAb được làm tương thích với người có thể chứa sự thể của các axit amin từ các vị trí tương ứng của mAb cho của chuột hoặc các kháng thể của người hoặc chuột khác, và thậm chí nhiều gốc tiếp xúc CDR tiềm năng cũng có thể thích hợp cho sự thể. Ngay cả các axit amin trong các CDR có thể được thay đổi, ví dụ, bằng các gốc được phát hiện ở vị trí tương ứng của trình tự nhận của người được sử dụng để cung cấp các khung vùng biến đổi. Ngoài ra, các trình tự nhận của người khác có thể được sử dụng, ví dụ, cho chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ. Nếu các trình tự nhận khác nhau được sử dụng, một hoặc nhiều trong số các đột biến ngược đã đề cập trên đây có thể không được thực hiện vì các gốc cho và nhận tương ứng đã là giống nhau mà không cần các đột biến ngược.

Tốt hơn, nếu sự thay thế hoặc các đột biến ngược trong các biến thể 3D6 được làm tương thích với người (được bảo toàn hoặc không) không có tác động đáng kể đối với ái lực liên kết hoặc hiệu lực của mAb được làm tương thích với người; nghĩa là, khả năng liên kết với tau của nó.

Kháng thể 3D6 được làm tương thích với người được xác định đặc điểm thêm bằng khả năng của chúng để liên kết với cả tau đã phosphoryl hóa và không được phosphoryl hóa và các dạng cuộn gập sai/kết tụ của tau.

D. Kháng thể khảm và kháng thể được ngụy trang

Sáng chế còn đề xuất dạng khảm và dạng được ngụy trang của kháng thể không phải của người, cụ thể là các kháng thể 3D6 trong các ví dụ.

Kháng thể khảm là kháng thể trong đó vùng biến đổi trưởng thành của các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể không phải của người (*ví dụ*, chuột) được kết hợp với vùng hằng định chuỗi nhẹ và nặng của người. Các kháng thể này gần như hoặc hoàn toàn giữ được tính đặc hiệu liên kết của kháng thể chuột, và là khoảng hai phần ba trình tự của

người. Theo một phương án, kháng thể 3D6 khảm có trình tự axit amin chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO:72 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO:73.

Kháng thể được ngụy trang là loại kháng thể được làm tương thích với người vẫn giữ được một số và thường là toàn bộ các CDR và một số gốc khung vùng biến đổi không phải của người của kháng thể không phải của người nhưng thay thế các gốc khung vùng biến đổi khác mà có thể tham gia vào các epitop tế bào B hoặc T, ví dụ các gốc được bộc lộ (Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489, 1991) với các gốc từ các vị trí tương ứng của trình tự kháng thể người. Kết quả là một kháng thể trong đó các CDR hoàn toàn hoặc gần như là từ kháng thể không phải của người và các khung vùng biến đổi của kháng thể không phải của người được làm cho giống của người hơn nhờ các đột biến thể này. Các dạng được ngụy trang của kháng thể 3D6 được bao gồm trong sáng chế.

E. Kháng thể người

Kháng thể người kháng lại tau hoặc đoạn của nó (ví dụ, các gốc axit amin 199-213 và/hoặc 262-276 nêu trong SEQ ID NO:3, lần lượt tương ứng với các gốc axit amin 257-271 và/hoặc 320-334 nêu trong SEQ ID NO:1 hoặc các gốc axit amin 259-268 hoặc 290-299 hoặc 321-330 hoặc 353-362 nêu trong SEQ ID NO:1 hoặc dạng kết hợp bất kỳ của 2, 3 hoặc tất cả 4 gốc này) được tạo ra bởi nhiều kỹ thuật khác nhau được mô tả dưới đây. Một số kháng thể người được chọn lọc bằng các thí nghiệm liên kết cạnh tranh, bằng phương pháp biểu hiện thể thực khuẩn của Winter, trên đây, hoặc theo cách khác, để có cùng tính đặc hiệu epitop với kháng thể chuột cụ thể, chẳng hạn như một trong số các kháng thể đơn dòng của chuột được mô tả trong các ví dụ. Các kháng thể người cũng có thể được sàng lọc về tính đặc hiệu epitop cụ thể bằng cách chỉ sử dụng một đoạn của tau, như một đoạn tau chỉ chứa các gốc axit amin 199-213 hoặc 262-276 nêu trong SEQ ID NO:3 (lần lượt tương ứng với các gốc axit amin 257-271 hoặc 320-334 nêu trong SEQ ID NO:1) hoặc chỉ chứa các gốc axit amin 259-268 hoặc 290-299 hoặc 321-330 hoặc 353-362 nêu trong SEQ ID NO:1, như kháng nguyên đích, và/hoặc bằng cách sàng lọc các kháng thể kháng lại tập hợp các biến thể tau, chẳng hạn như các biến thể tau chứa các đột biến thể khác nhau trong các gốc axit amin 199-213 hoặc 262-276 nêu trong SEQ ID NO:3 (lần lượt tương ứng với các gốc axit amin 257-271 hoặc 320-334 nêu trong SEQ ID NO:1), hoặc trong các gốc axit amin 259-268 hoặc 290-299 hoặc 321-330 hoặc 353-362 nêu trong SEQ ID NO:1.

Các phương pháp sản xuất kháng thể người bao gồm phương pháp trioma của Oestberg và đồng tác giả, *Hybridoma* 2:361-367 (1983); Oestberg, Bằng sáng chế Mỹ số

4,634,664; và Engleman và đồng tác giả, Bằng sáng chế Mỹ số 4,634,666, sử dụng chuột chuyển gen chứa các gen globulin miễn dịch của người (xem, ví dụ, Lonberg và đồng tác giả, WO93/12227 (1993); US 5,877,397; US 5,874,299; US 5,814,318; US 5,789,650; US 5,770,429; US 5,661,016; US 5,633,425; US 5,625,126; US 5,569,825; US 5,545,806; Neuberger, *Nat. Biotechnol.* 14:826 (1996); và Kucherlapati, WO 91/10741 (1991)) phương pháp biểu hiện thể thực khuẩn (xem, ví dụ, Dower và đồng tác giả, WO 91/17271; McCafferty và đồng tác giả, WO 92/01047; US 5,877,218; US 5,871,907; US 5,858,657; US 5,837,242; US 5,733,743; và US 5,565,332); và các phương pháp được mô tả trong WO 2008/081008 (ví dụ, làm bất tử dòng tế bào B nhớ được phân lập từ người, ví dụ, với EBV, sàng lọc đối với các đặc điểm mong muốn, và tách dòng và biểu hiện các dạng tái tổ hợp).

F. Chọn lọc vùng hằng định

Các vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể khảm, được nguy trang hoặc được làm tương thích với người có thể được liên kết với ít nhất một phần của vùng hằng định của người. Việc chọn vùng hằng định một phần tùy thuộc vào tác dụng gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể, tác dụng thực bào tế bào phụ thuộc kháng thể và/hoặc tác dụng gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể có được mong muốn hay không. Ví dụ, các isotyp IgG1 và IgG3 của người có tác dụng gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể và các isotyp IgG2 và IgG4 của người thì không. IgG1 và IgG3 của người cũng cảm ứng các chức năng hiệu ứng qua trung gian tế bào mạnh hơn so với IgG2 và IgG4 của người. Các vùng hằng định chuỗi nhẹ có thể là lamda hoặc kapa. Các quy ước đánh số cho vùng hằng định bao gồm cách đánh số EU (Edelman, G.M. và đồng tác giả, *Proc. Natl. Acad. USA*, 63, 78-85 (1969)), cách đánh số Kabat (Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991, cách đánh số đơn nhất IMGT (Lefranc M.-P. và đồng tác giả, IMGT unique numbering for immunoglobulin và T cell receptor constant domains và Ig superfamily C-like domains, *Dev. Comp. Immunol.*, 29, 185-203 (2005), và cách đánh số exon IMGT (Lefranc, như trên).

Một hoặc một số axit amin ở các đầu cùng amino hoặc carboxy của chuỗi nhẹ và/hoặc nặng, chẳng hạn như lysin đầu cùng C của chuỗi nặng, có thể bị khuyết hoặc được tạo dẫn xuất ở một phần hoặc toàn bộ phân tử. Sự thể có thể được tạo ra trong vùng hằng

định để làm giảm hoặc làm tăng chức năng hiệu ứng như tác dụng gây độc tế bào qua trung gian bổ thể hoặc ADCC (xem, ví dụ như, Winter và đồng tác giả, bằng sáng chế Mỹ số 5,624,821; Tso và đồng tác giả, bằng sáng chế Mỹ số 5,834,597; và Lazar và đồng tác giả, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:4005, 2006), hoặc để kéo dài thời gian bán thải ở người (xem, ví dụ như, Hinton và đồng tác giả, J. Biol. Chem. 279:6213, 2004). Sự thể được lấy làm ví dụ bao gồm Gln ở vị trí 250 và/hoặc Leu ở vị trí 428 (cách đánh số EU được sử dụng trong đoạn này đối với vùng hằng định) để làm tăng thời gian bán thải của kháng thể. Sự thể ở bất kỳ hoặc toàn bộ các vị trí 234, 235, 236 và/hoặc 237 làm giảm ái lực đối với các thụ thể Fcγ, cụ thể là thụ thể FcγRI (xem, ví dụ, US 6,624,821). Sự thể alanin ở các vị trí 234, 235, và 237 của IgG1 người có thể được sử dụng để làm giảm chức năng hiệu ứng. Một số kháng thể có sự thể alanin ở các vị trí 234, 235 và 237 của IgG1 người để làm giảm chức năng hiệu ứng. Tùy ý, các vị trí 234, 236 và/hoặc 237 ở IgG2 của người được thay thế bằng alanin và vị trí 235 bằng glutamin (xem, ví dụ, bằng sáng chế Mỹ số 5,624,821). Trong một số kháng thể, đột biến ở một hoặc nhiều vị trí 241, 264, 265, 270, 296, 297, 322, 329, và 331 theo cách đánh số EU của IgG1 người được sử dụng. Trong một số kháng thể, đột biến ở một hoặc nhiều vị trí 318, 320, và 322 theo cách đánh số EU của IgG1 người được sử dụng. Trong một số kháng thể, các vị trí 234 và/hoặc 235 được thay thế bằng alanin và/hoặc vị trí 329 được thay thế bằng glyxin. Trong một số kháng thể, các vị trí 234 và 235 được thay thế bằng alanin. Trong một số kháng thể, isotyp này là IgG2 hoặc IgG4 người.

Các kháng thể có thể được thể hiện ở dạng các tetrame chứa hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ, ở dạng các chuỗi nặng, các chuỗi nhẹ riêng biệt, ở dạng Fab, Fab', F(ab')₂, và Fv, hoặc ở dạng các kháng thể mạch đơn trong đó các vùng biến đổi trưởng thành của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được liên kết qua đoạn đệm.

Các vùng hằng định của người thể hiện sự biến đổi alotyp và biến đổi isoalotyp giữa các cá thể khác nhau, tức là, các vùng hằng định có thể khác nhau ở các cá thể khác nhau ở một hoặc nhiều vị trí đa hình. Các isoalotyp khác alotyp ở chỗ huyết thanh nhận diện isoalotyp liên kết với vùng không đa hình của một hoặc nhiều isotyp khác. Do đó, ví dụ, một vùng hằng định chuỗi nặng khác là của IgG1 G1m3 có hoặc không có lysin đầu cùng C. Việc đề cập đến vùng hằng định của người bao gồm vùng hằng định có alotyp tự nhiên bất kỳ hoặc hoán vị bất kỳ của các gốc chiếm các vị trí trong các alotyp tự nhiên. Vùng

hằng định chuỗi nặng được lấy làm ví dụ là SEQ ID NO:176, có hoặc không có lysin đầu cùng C, và vùng hằng định chuỗi nhẹ được lấy làm ví dụ là SEQ ID NO:177.

G. Biểu hiện kháng thể tái tổ hợp

Nhiều phương pháp đã được biết để tạo ra các kháng thể khảm và được làm tương thích với người bằng cách sử dụng dòng tế bào biểu hiện kháng thể (ví dụ như, tế bào lai). Ví dụ, các vùng biến đổi globulin miễn dịch của các kháng thể có thể được tách dòng và giải trình tự bằng cách sử dụng các phương pháp đã được biết rõ. Trong một phương pháp, vùng VH biến đổi chuỗi nặng được tách dòng bằng RT-PCR bằng cách sử dụng mARN được tạo ra từ các tế bào lai. Các đoạn môi liên ứng được sử dụng cho peptit dẫn đầu vùng VH chứa bộ ba mở đầu dịch mã làm đoạn môi 5' và đoạn môi 3' đặc hiệu vùng hằng định g2b. Các đoạn môi được lấy làm ví dụ được mô tả trong công bố bằng sáng chế Mỹ số US 2005/0009150 bởi Schenk và đồng tác giả (sau đây gọi là "Schenk"). Các trình tự từ nhiều dòng, thu được độc lập có thể được so sánh để đảm bảo không có thay đổi nào được đưa vào trong quá trình khuếch đại. Trình tự của vùng VH cũng có thể được xác định hoặc được xác nhận bằng cách giải trình tự đoạn VH thu được bằng hệ phương pháp 5' RACE RT-PCR và đoạn môi đặc hiệu 3' g2b.

Vùng VL biến đổi chuỗi nhẹ có thể được tách dòng theo cách tương tự. Trong một phương pháp tiếp cận, tập hợp đoạn môi liên ứng được thiết kế để khuếch đại các vùng VL bằng cách sử dụng đoạn môi 5' được thiết kế để lai với vùng VL chứa bộ ba mở đầu dịch mã và đoạn môi 3' đặc hiệu với vùng Ck xuôi dòng của vùng nối V-J. Trong phương pháp tiếp cận thứ hai, hệ phương pháp 5'RACE RT-PCR được sử dụng để tách dòng cADN mã hóa VL. Các đoạn môi điển hình được mô tả trong Schenk, trên đây. Các trình tự đã tách dòng này sau đó được kết hợp với các trình tự mã hóa các vùng hằng định của người (hoặc loài khác không phải người).

Trong một phương pháp tiếp cận, các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được thao tác di truyền lại để mã hóa các trình tự cho cắt nối xuôi dòng của các khớp nối VDJ hoặc VJ tương ứng và được tách dòng vào vector biểu hiện động vật có vú, như pCMV-hy1 đối với chuỗi nặng và pCMV-Mcl đối với chuỗi nhẹ. Các vector này mã hóa các vùng hằng định $\gamma 1$ và Ck của người như các đoạn exon xuôi dòng của cát xét vùng biến đổi đã được gắn xen. Sau khi kiểm tra trình tự, vector biểu hiện chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có thể được đồng chuyển nhiễm vào các tế bào CHO để tạo ra các kháng thể khảm. Môi trường có điều

kiện được thu gom 48 giờ sau chuyển nhiễm và được thử nghiệm bằng phân tích thẩm tách western về khả năng sản sinh kháng thể hoặc bằng ELISA về khả năng liên kết kháng nguyên. Các kháng thể khảm này được làm tương thích với người như được mô tả trên đây.

Các kháng thể khảm, được nguy trang, được làm tương thích với người, và kháng thể người thường được tạo ra bằng cách biểu hiện tái tổ hợp. Các cấu trúc polynucleotit tái tổ hợp thường bao gồm trình tự kiểm soát biểu hiện được liên kết chức năng với các trình tự mã hóa của các chuỗi kháng thể, bao gồm các yếu tố kiểm soát biểu hiện kết hợp tự nhiên hoặc khác loại, chẳng hạn như trình tự khởi động. Các trình tự kiểm soát biểu hiện này có thể là các hệ trình tự khởi động trong các vector có khả năng biến nạp hoặc chuyển nhiễm các tế bào chủ nhân chuẩn hoặc nhân sơ. Khi vector này được đưa vào vật chủ thích hợp, vật chủ này được nuôi trong các điều kiện thích hợp để biểu hiện ở mức độ cao các trình tự nucleotit này và để thu gom và tinh chế các kháng thể phản ứng chéo.

Các vector biểu hiện này có thể sao chép được trong các sinh vật chủ như là các episom hoặc như một phần nguyên vẹn của ADN nhiễm sắc thể vật chủ. Thông thường, các vector biểu hiện chứa gen đánh dấu chọn lọc, *ví dụ như*, kháng ampicilin hoặc kháng hygromycin, để cho phép phát hiện các tế bào đã được biến nạp bằng các trình tự ADN mong muốn.

E. coli là một vật chủ nhân sơ hữu ích để biểu hiện các kháng thể, cụ thể là các đoạn kháng thể. Vi sinh vật, chẳng hạn như nấm men, cũng là hữu ích cho việc biểu hiện. *Saccharomyces* là vật chủ nấm men với các vector thích hợp có các trình tự kiểm soát biểu hiện, gốc sao chép, các trình tự kết thúc, và các yếu tố tương tự nếu muốn. Các trình tự khởi động điển hình bao gồm 3-phosphoglycerat kinaza và các enzym thủy phân đường khác. Các trình tự khởi động nấm men cảm ứng được bao gồm, trong số các loại khác, các trình tự khởi động từ alcohol dehydrogenaza, isoxytocrom C, và các enzym chịu trách nhiệm về việc sử dụng maltoza và galactoza.

Các tế bào động vật có vú có thể được sử dụng để biểu hiện các đoạn nucleotit mã hóa các globulin miễn dịch hoặc các đoạn của chúng. Xem Winnacker, From Genes to Clones, (VCH Publishers, NY, 1987). Nhiều dòng tế bào chủ thích hợp có khả năng tiết ra các protein khác loại không hoạt động đã được phát triển, và bao gồm các dòng tế bào CHO, nhiều dòng tế bào COS khác nhau, các tế bào HeLa, các tế bào HEK293, các tế bào L, và các tế bào u tủy không sản sinh kháng thể bao gồm Sp2/0 và NS0. Các tế bào này có

thể không phải của người. Các vector biểu hiện cho các tế bào này có thể bao gồm các trình tự kiểm soát biểu hiện, như gốc sao chép, trình tự khởi động, trình tự tăng cường (Queen và đồng tác giả, *Immunol. Rev.* 89:49 (1986)), và các vị trí thông tin xử lý cần thiết, chẳng hạn như vị trí liên kết ribosom, vị trí ghép nối ARN, vị trí polyadenyl hóa, và trình tự kết thúc phiên mã. Các trình tự kiểm soát biểu hiện có thể bao gồm các trình tự khởi động thu được từ các gen nội sinh, cytomegalovirut, SV40, adenovirut, virut u nhú bò, và dạng tương tự. Xem Co và đồng tác giả, *J. Immunol.* 148:1149 (1992).

Ngoài ra, các trình tự mã hóa kháng thể có thể được đưa vào các gen chuyển để đưa vào bộ gen của động vật chuyển gen và biểu hiện tiếp trong sữa của động vật chuyển gen này (xem, ví dụ như, bằng sáng chế Mỹ số 5,741,957; bằng sáng chế Mỹ số 5,304,489; và bằng Sáng Chế Mỹ No. 5.849.992). Các gen chuyển thích hợp bao gồm các trình tự mã hóa cho chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng được liên kết chức năng với trình tự khởi động và trình tự tăng cường từ gen đặc hiệu tuyến vú, như casein hoặc beta lactoglobulin.

Các vector chứa các đoạn ADN cần quan tâm có thể được chuyển vào tế bào chủ bằng các phương pháp tùy theo loại tế bào chủ. Ví dụ, phương pháp chuyển nhiễm canxi clorua thường được sử dụng cho các tế bào nhân sơ, trong khi đó phương pháp xử lý canxi phosphat, đục lỗ điện, chuyển gen bằng liposom, kỹ thuật bắn gen, hoặc chuyển nhiễm dựa vào virut có thể được sử dụng cho các tế bào chủ khác. Các phương pháp khác được sử dụng để biến nạp tế bào động vật có vú bao gồm sử dụng polybrene, dung hợp tế bào trần, liposom, đục lỗ điện, và vi tiêm tế bào. Để tạo ra các động vật chuyển gen, các gen chuyển có thể được tiêm tế bào vào noãn bào đã thụ tinh hoặc có thể được đưa vào bộ gen của tế bào gốc phôi hoặc tế bào gốc đa năng được cảm ứng (iPSC), và nhân của các tế bào này được chuyển vào noãn bào đã được làm mất nhân.

(Các) vector mã hóa các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể được đưa vào môi trường nuôi cấy tế bào, các phần gộp tế bào có thể được sàng lọc về năng suất phát triển và chất lượng sản phẩm trong môi trường không chứa huyết thanh. Sau đó, các phần gộp tế bào có năng suất cao nhất có thể được tách dòng tế bào đơn lẻ dựa vào FACS để tạo ra các dòng đơn dòng. Năng suất cụ thể trên 50 pg hoặc 100 pg mỗi tế bào mỗi ngày, mà tương ứng với các hiệu giá sản phẩm lớn hơn 7,5 g/l môi trường nuôi cấy, có thể được sử dụng. Các kháng thể được sinh ra bởi các dòng tế bào đơn lẻ cũng có thể được kiểm tra về độ đục, các đặc điểm lọc, PAGE, IEF, quét UV, HP-SEC, lập bản đồ hydrat cacbon-oligosacarit, phép đo phổ khối, và thử nghiệm liên kết, chẳng hạn như ELISA hoặc Biacore.

Sau đó dòng được chọn có thể được đưa vào nhiều lọ thủy tinh và được bảo quản đông lạnh để sử dụng tiếp.

Khi đã được biểu hiện, các kháng thể có thể được tinh chế theo các quy trình chuẩn trong lĩnh vực này, bao gồm bất protein A, tinh chế HPLC, sắc ký cột, điện di gel và kỹ thuật tương tự (*xem tổng quan*, Scopes, *Protein Purification* (Springer-Verlag, NY, 1982)).

Hệ phương pháp để sản xuất thương mại các kháng thể có thể được sử dụng, bao gồm tối ưu hóa bộ ba mã hóa, chọn lọc trình tự khởi động, chọn lọc các yếu tố phiên mã, chọn lọc trình tự kết thúc, tách dòng tế bào đơn lẻ không huyết thanh, tạo ngân hàng tế bào, sử dụng các gen đánh dấu chọn lọc để khuếch đại số lượng bản sao, trình tự kết thúc CHO, hoặc cải thiện hiệu giá protein (*xem, ví dụ như*, US 5,786,464; US 6,114,148; US 6,063,598; US 7,569,339; W02004/050884; W02008/012142; W02008/012142; W02005/019442; W02008/107388; W02009/027471; và US 5,888,809).

IV. Chất gây miễn dịch hoạt động

Chất được sử dụng để gây miễn dịch chủ động có tác dụng cảm ứng ở bệnh nhân cùng loại kháng thể được mô tả liên quan đến phương pháp gây miễn dịch thụ động trên đây. Các chất được sử dụng để gây miễn dịch chủ động có thể là cùng loại chất gây miễn dịch được sử dụng để tạo ra các kháng thể đơn dòng ở các động vật thí nghiệm, *ví dụ*, peptit của 3-15 hoặc 3-12 hoặc 5-12, hoặc 5-8 axit amin liên tục từ vùng của tau tương ứng với các gốc 199-213 hoặc 262-276 nêu trong SEQ ID NO:3 (lần lượt tương ứng với các gốc 257-271 hoặc 320-334 nêu trong SEQ ID NO:1), chẳng hạn như, *ví dụ*, peptit bao gồm các gốc 199-213 hoặc 262-276 nêu trong SEQ ID NO:3 (lần lượt tương ứng với các gốc 257-271 hoặc 320-334 nêu trong SEQ ID NO:1) hoặc từ vùng của tau tương ứng với các gốc 259-268 hoặc 290-299 hoặc 321-330 hoặc 353-362 nêu trong SEQ ID NO:1, chẳng hạn như *ví dụ*, peptit bao gồm các gốc 259-268 hoặc 290-299 hoặc 321-330 hoặc 353-362 nêu trong SEQ ID NO:1. Để cảm ứng các kháng thể liên kết với cùng một epitop hoặc epitop gối lên nhau với 3D6, tính đặc hiệu epitop của các kháng thể này có thể được lập bản đồ (*ví dụ*, bằng cách kiểm tra khả năng liên kết với một loạt peptit gối lên nhau kéo dài tau). Sau đó một đoạn của tau bao gồm hoặc chứa hoặc gối lên epitop này có thể được sử dụng làm chất gây miễn dịch. Các đoạn này thường được sử dụng ở dạng không được phosphoryl hóa.

Chất mang và tá dược khác loại, nếu được sử dụng có thể là giống như được sử dụng để tạo ra kháng thể đơn dòng, nhưng cũng có thể được chọn vì thích hợp để làm thuốc để sử dụng cho người hơn. Các chất mang thích hợp bao gồm albumin huyết thanh, hemoxyanin của loài ốc keyhole limpet, các phân tử globulin miễn dịch, thyroglobulin, albumin trứng, biến độc tố uốn ván, hoặc biến độc tố từ vi khuẩn gây bệnh khác, như vi khuẩn gây bệnh bạch hầu (ví dụ, CRM197), *E. coli*, cholera, hoặc *H. pylori*, hoặc dẫn xuất độc tố nhược động. Epitop tế bào B cũng là phân tử chất mang thích hợp. Một số thể liên hợp có thể được tạo ra bằng cách liên kết các chất theo sáng chế với phân tử polyme kích thích miễn dịch (ví dụ, tripalmitoyl-S-glycerin xystein (Pam₃Cys), mannan (polyme mannoza), hoặc glucan (polyme β 1 $\rightarrow$ 2)), xytokin (ví dụ, IL-1, Các peptit IL-1 alpha và β , IL-2, γ -INF, IL-10, GM-CSF), và chemokin (ví dụ, MIP1- α và β , và RANTES). Các chất gây miễn dịch có thể được liên kết với các chất mang có hoặc không có các đoạn axit amin đậm (ví dụ, gly-gly). Các chất mang khác bao gồm các hạt tương tự virus. Các hạt tương tự virus (VLP), còn được gọi là virion giả hoặc các hạt thu được từ virus, là các cấu trúc dưới đơn vị chứa nhiều bản sao của protein vỏ capsit và/hoặc protein vỏ ngoài virus có khả năng tự lắp ráp thành các VLP có cấu trúc đối xứng hình cầu xác định in vivo. (Powilleit, và đồng tác giả, (2007) PLoS ONE 2(5):e415.) Ngoài ra, các chất gây miễn dịch peptit có thể được liên kết với ít nhất một epitop tế bào T nhân tạo có khả năng liên kết với phần lớn các phân tử MHC Lớp II, như epitop pan DR ("PADRE"). PADRE được mô tả trong US 5,736,142, WO 95/07707, và Alexander J và các đồng tác giả, Immunity, 1:751-761 (1994). Các chất gây miễn dịch hoạt động có thể được trình diện ở dạng đa phân tử trong đó nhiều bản sao của chất gây miễn dịch và/hoặc chất mang của nó được trình diện dưới dạng phân tử cộng hóa trị đơn.

Nhiều đoạn thường được sử dụng với các tá dược được dụng. Tá dược này làm tăng hiệu giá của các kháng thể được cảm ứng và/hoặc ái lực liên kết của các kháng thể được cảm ứng so với trường hợp peptit này được sử dụng một mình. Tá dược này làm tăng hiệu giá của các kháng thể được cảm ứng và/hoặc ái lực liên kết của các kháng thể được cảm ứng so với trường hợp peptit này được sử dụng một mình. Tốt hơn nếu các tá dược làm tăng đáp ứng nội tại với chất gây miễn dịch mà không gây ra sự thay đổi cấu hình trong chất gây miễn dịch này mà ảnh hưởng đến dạng định tính của đáp ứng này. Các tá dược được ưu tiên hơn bao gồm các muối nhôm, như nhôm hydroxit và nhôm phosphat, 3 De-O-axyl hóa monophosphoryl lipit A (MPLTM) (xem GB 2220211 (RIBI ImmunoChem

Research Inc., Hamilton, Montana, hiện nay là một phần của Corixa). Stimulon™ QS-21 là triterpen glycosit hoặc saponin được phân lập từ vỏ của cây Quillaja Saponaria Molina được tìm thấy ở Nam Mỹ (xem Kensil và đồng tác giả, trong *Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach* (eds. Powell & Newman, Plenum Press, NY, 1995); US 5,057,540), (Aquila BioPharmaceuticals, Framingham, MA; hiện nay là Antigenics, Inc., New York, NY). Các tá dược khác là các nhũ tương dầu trong nước (như squalen hoặc dầu lạc), tùy ý kết hợp với các chất kích thích miễn dịch, như monophosphoryl lipit A (xem Stoute và đồng tác giả, *N. Engl. J. Med.* 336, 86-91 (1997)), các polyme pluronic, và vi khuẩn mycobacterium bị diệt. Ribit chứa dầu chuyển hóa được (squalen) được tạo nhũ tương với nước muối chứa Tween 80. Ribit còn chứa các sản phẩm mycobacterium được tinh chế mà có tác dụng làm chất kích thích miễn dịch và monophosphoryl lipit A của vi khuẩn. Một tá dược khác là CpG (WO 98/40100). Các tá dược có thể được sử dụng làm thành phần của chế phẩm trị liệu cùng với hoạt chất hoặc có thể được sử dụng riêng, trước, đồng thời với, hoặc sau khi sử dụng chất trị liệu.

Các dạng tương tự của các đoạn tự nhiên của tau mà cảm ứng các kháng thể kháng tau cũng có thể được sử dụng. Ví dụ, một hoặc nhiều hoặc tất cả L-axit amin có thể được thế bằng D axit amin trong các peptit này. Ngoài ra, thứ tự của các axit amin có thể được bảo tồn (retro peptit). Tùy ý một peptit bao gồm tất cả các D-axit amin theo thứ tự bảo tồn (retro-inverso peptit). Peptit và các hợp chất khác mà không nhất thiết phải có sự tương đồng trình tự axit amin đáng kể với các peptit tau nhưng đóng vai trò là các giả peptit tau và cảm ứng đáp ứng miễn dịch tương tự. Các kháng thể kháng idiotyp kháng các kháng thể đơn dòng với tau như được mô tả trên đây cũng có thể được sử dụng. Các kháng thể kháng Id này bắt chước kháng nguyên và tạo ra đáp ứng miễn dịch với nó (xem *Essential Immunology*, Roit ed., Blackwell Scientific Publications, Palo Alto, CA tái bản lần 6, trang 181).

Các peptit (và tùy ý chất mang được dung hợp với peptit này) cũng có thể được sử dụng ở dạng axit nucleic mã hóa peptit này và được biểu hiện tại chỗ ở bệnh nhân. Đoạn axit nucleic mã hóa chất gây miễn dịch thường được liên kết với các yếu tố điều hòa, như trình tự khởi động và trình tự tăng cường mà cho phép biểu hiện đoạn ADN này trong tế bào đích dự kiến của bệnh nhân. Để biểu hiện trong các tế bào máu, như được mong muốn để cảm ứng đáp ứng miễn dịch, trình tự khởi động và yếu tố tăng cường từ các gen globulin miễn dịch chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng hoặc trình tự khởi động rất sớm chính CMV và các

gen tăng cường là thích hợp để điều khiển sự biểu hiện. Các yếu tố điều hòa được liên kết và các trình tự mã hóa thường được tách dòng vào vector. Các kháng thể cũng có thể được sử dụng ở dạng các axit nucleic mã hóa chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ kháng thể. Nếu cả chuỗi nặng và nhẹ đều có mặt, các chuỗi này tốt hơn nếu được liên kết như là một kháng thể chuỗi đơn. Các kháng thể để sử dụng thụ động cũng có thể được tạo ra *ví dụ như*, bằng sắc ký ái lực từ huyết thanh của bệnh nhân được điều trị bằng các chất gây miễn dịch peptit.

ADN có thể được phân phối ở dạng trần (tức là, không có vật liệu keo hoặc vật liệu bao nang). Ngoài ra nhiều hệ vector virus có thể được sử dụng bao gồm các hệ retrovirus (xem, ví dụ như, Lawrie và Tumin, *Cur. Opin. Genet. Develop.* 3, 102-109 (1993)); vector adenovirus {xem, ví dụ như, Bett và đồng tác giả, *J. Virol.* 67, 591-1 (1993)} bao gồm vector có nguồn gốc từ retrovirus như MMLV, HIV-1, và ALV; vector virus kết hợp adeno {xem, ví dụ như, Zhou và đồng tác giả, *J. Exp. Med.* 179, 1867 (1994)}, vector lentivirus chẳng hạn như vector dựa trên các trình tự gag HIV hoặc FIV, các vector virus từ họ pox bao gồm các virus đậu mùa và virus pox ở chim, các vector virus từ giống virus alpha như các vector thu được từ Sindbis và Virus Rừng Semliki (xem, ví dụ như, Dubensky và đồng tác giả, *J. Virol.* 70, 508-519 (1996)), virus gây viêm não ngựa Venezuela (xem US 5,643,576) và rhabdovirus, như virus gây bệnh viêm miệng mụn nước (xem WO 96/34625) và các virus u nhú (Ohe và đồng tác giả, *Human Gene Therapy* 6, 325-333 (1995); Woo và đồng tác giả, WO 94/12629 và Xiao & Brandsma, *Axit nucleic. Res.* 24, 2630-2622 (1996)).

ADN mã hóa cho chất gây miễn dịch, hoặc mã hóa cho chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ kháng thể, hoặc vector chứa chúng, có thể được đóng gói vào liposom. Các lipid thích hợp và các chất tương tự liên quan được mô tả bởi US 5,208,036, US 5,264,618, US 5,279,833, và US 5,283,185. Vector và ADN mã hóa cho chất gây miễn dịch, hoặc mã hóa cho chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ kháng thể cũng có thể được hấp thụ vào hoặc được kết hợp với chất mang dạng hạt, ví dụ về chúng bao gồm polyme polymetyl methacrylat và polylactit và poly(lactit-co-glycolit), (xem, *ví dụ như*, McGee và đồng tác giả, *J. Micro Encap.* 1996).

Vector hoặc đoạn từ chúng mã hóa cho chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ kháng thể có thể được kết hợp trong tế bào ex vivo, ví dụ như vào tế bào được cấy bên ngoài từ bệnh nhân cụ thể (ví dụ như, tế bào lympho, dịch chọc hút tủy xương, mẫu sinh thiết mô) hoặc tế bào gốc tạo máu cho vượn năng, sau đó là sự cấy lại của tế bào vào trong bệnh nhân, thường là sau khi chọn lọc đối với tế bào mà đã kết hợp gen chuyển. (Xem, ví dụ như, WO

2017/091512). Các tế bào có nguồn gốc từ bệnh nhân ví dụ bao gồm tế bào gốc đa năng được gây cảm ứng có nguồn gốc từ bệnh nhân (patient derived induced pluripotent stem cell - iPSC) hoặc các loại khác của tế bào gốc (phôi, tạo máu, thần kinh, hoặc trung mô).

Vectơ hoặc đoạn từ chúng mã hóa cho chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ kháng thể có thể được đưa vào trong vùng bất kỳ được quan tâm trong tế bào ex vivo, chẳng hạn như gen albumin hoặc gen ẩn chứa an toàn khác. Tế bào kết hợp vectơ có thể được cấy có hoặc không có sự biệt hóa từ trước. Tế bào có thể được cấy vào mô cụ thể, chẳng hạn như mô tiết hoặc vị trí bệnh lý, hoặc toàn thân, chẳng hạn như bằng cách truyền vào máu. Ví dụ như, tế bào có thể được cấy vào mô tiết của bệnh nhân, chẳng hạn như gan, tùy ý với sự biệt hóa từ trước thành tế bào có mặt trong mô đó, chẳng hạn như tế bào gan trong trường hợp của gan. Sự biểu hiện của kháng thể trong gan dẫn đến sự tiết của kháng thể vào máu.

H. Các thử nghiệm sàng lọc kháng thể

Các kháng thể có thể được sàng lọc ban đầu về tính đặc hiệu liên kết dự kiến như được mô tả trên đây. Các chất gây miễn dịch hoạt động cũng có thể được sàng lọc như vậy về khả năng cảm ứng các kháng thể có tính đặc hiệu liên kết này. Trong trường hợp này, chất gây miễn dịch hoạt động được sử dụng để gây miễn dịch động vật thí nghiệm và huyết thanh thu được được kiểm tra về tính đặc hiệu liên kết thích hợp.

Sau đó các kháng thể có tính đặc hiệu liên kết mong muốn có thể được kiểm tra trong các mô hình tế bào và động vật. Các tế bào được sử dụng để sàng lọc như vậy tốt hơn, nếu là các tế bào neuron. Mô hình tế bào của bệnh học tau đã được báo cáo trong đó các tế bào u nguyên bào thần kinh được chuyển nhiễm với vùng chức năng lặp bốn của tau, tùy ý với đột biến liên quan đến bệnh học tau (*ví dụ như*, delta K280, xem Khlistunova, Current Alzheimer Research 4, 544-546 (2007)). Trong một mô hình khác, tau được cảm ứng trong dòng tế bào u nguyên bào thần kinh N2a bằng cách bổ sung doxycyclin. Mô hình tế bào này cho phép nghiên cứu về độc tính của tau với các tế bào ở trạng thái hòa tan hoặc kết tụ, hình thức của các khối kết tụ tau sau khi gây ra sự biểu hiện gen tau, sự hòa tan khối kết tụ tau sau khi dừng biểu hiện gen một lần nữa, và tác dụng của các kháng thể trong việc ức chế sự tạo thành các khối kết tụ tau hoặc tách chúng ra.

Các kháng thể hoặc chất gây miễn dịch hoạt động cũng có thể được sàng lọc trong các mô hình động vật chuyển gen của các bệnh gây ra bởi tau. Các động vật chuyển gen

này có thể mang gen chuyển tau (ví dụ như, bất kỳ trong số các đồng phân người) và tùy ý gen chuyển APP người ngoài các gen khác, như kinaza mà phosphoryl hóa tau, ApoE, presenilin hoặc alpha synuclein. Các động vật chuyển gen này được bố trí để phát triển ít nhất một dấu hiệu hoặc triệu chứng của bệnh gây ra bởi tau.

Động vật chuyển gen được lấy làm ví dụ là dòng K3 của chuột (Itner và đồng tác giả, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105(41):15997-6002 (2008)). Các chuột này có gen chuyển tau người với đột biến K369I (đột biến này liên quan đến bệnh Pick) và trình tự khởi động Thy 1.2. Mô hình này thể hiện sự thoái hóa thần kinh, thiếu vận động và thoái hóa các sợi hướng tâm và các tế bào hạt tiểu não trong khoảng thời gian ngắn. Động vật khác điển hình là dòng JNPL3 của chuột. Chuột có gen chuyển tau người với đột biến P301L (đột biến này liên quan đến bệnh sa sút trí tuệ trán thái dương) và trình tự khởi động Thy 1.2 (Taconic, Germantown, N.Y., Lewis, và đồng tác giả, Nat Genet. 25:402-405 (2000)). Các chuột này có khoảng thời gian thoái hóa thần kinh đều đặn hơn. Chuột phát triển các đám rối thần kinh trong một số vùng não và dây rốn, mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ). Đây là mô hình hoàn hảo để nghiên cứu các hậu quả của sự phát triển đám rối và cho liệu pháp sàng lọc mà có thể ức chế sự tạo thành các khối kết tụ này. Ưu điểm khác của các động vật này là sự tấn công của bệnh tương đối sớm. Trong dòng đồng hợp tử, các bất thường về hành vi liên quan đến bệnh học tau có thể được quan sát thấy ở sớm nhất là 3 tháng, nhưng các động vật vẫn tương đối khỏe mạnh ít nhất đến 8 tháng tuổi. Nói cách khác, ở 8 tháng tuổi, các động vật đi loanh quanh, tự ăn, và có thể thực hiện các nhiệm vụ hành vi đủ tốt để cho phép theo dõi được tác dụng điều trị. Việc gây miễn dịch chủ động cho các con chuột này trong 6-13 tháng bằng - AI wI KLH-PHF-1 tạo ra các hiệu giá khoảng 1.000 và thể hiện các đám rối thần kinh ít hơn, pSer422 ít hơn, và sự sụt cân được giảm đi so với chuột đối chứng không được điều trị.

Hoạt tính của các kháng thể hoặc hoạt chất có thể được đánh giá bằng nhiều tiêu chuẩn khác nhau bao gồm giảm lượng tau toàn phần hoặc tau được phosphoryl hóa, giảm các đặc điểm bệnh học khác, như lớp lắng đọng amyloid của A β , và tác dụng ức chế hoặc làm chậm hoặc các khuyết tật hành vi. Các chất gây miễn dịch hoạt động cũng có thể được kiểm tra về khả năng cảm ứng các kháng thể trong huyết thanh. Cả chất gây miễn dịch chủ động và thụ động đều có thể được kiểm tra về sự xâm nhập của kháng thể qua hàng rào máu não vào não của động vật chuyển gen. Các kháng thể hoặc đoạn cảm ứng kháng thể cũng có thể được kiểm tra ở động vật linh trưởng không phải là người mà phát triển các

triệu chứng của bệnh được đặc trưng bởi tau một cách tự nhiên hoặc do cảm ứng. Các thử nghiệm trên kháng thể hoặc hoạt chất thường được thực hiện kết hợp với đối chứng, trong đó một thử nghiệm song song được thực hiện ngoại trừ là kháng thể hoặc hoạt chất không có mặt (ví dụ như, được thay thế bằng tá dược lỏng). Sau đó tác dụng làm giảm, trì hoãn hoặc ức chế các dấu hiệu hoặc triệu chứng của bệnh có thể là do kháng thể hoặc hoạt chất được thử nghiệm có thể được đánh giá so với đối chứng.

V. Các bệnh nhân phù hợp với việc điều trị

Sự có mặt của các đám rối thần kinh đã được phát hiện ra ở một số bệnh bao gồm bệnh Alzheimer, hội chứng Down, suy giảm nhận thức nhẹ, bệnh do protein tau liên quan đến tuổi tác nguyên phát, bệnh Parkinson sau viêm não, chứng sa sút trí tuệ sau chấn thương hoặc sa sút trí tuệ do chấn thương não, bệnh Pick, bệnh Niemann-Pick typ C, bệnh liệt trên nhân, bệnh sa sút trí tuệ trán thái dương, bệnh thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh hạt ưa bạc, bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu, phức hợp bệnh xơ cứng teo cơ một bên/bệnh sa sút trí tuệ do parkinson của Guam, bệnh thoái hóa vỏ não và hạch nền (CBD), chứng sa sút trí tuệ với các thể Lewy, biến thể thể Lewy của bệnh Alzheimer (LBVAD), chứng chấn thương não mãn tính (CTE), bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu (GGT), và bệnh liệt trên nhân tiến triển (PSP). Các phác đồ này cũng có thể được sử dụng để điều trị hoặc phòng ngừa bất kỳ trong số các bệnh này. Do mối liên quan rộng rãi giữa các tình trạng và bệnh thần kinh với tau, các phác đồ hiện nay có thể được sử dụng để điều trị hoặc phòng ngừa cho đối tượng bất kỳ thể hiện các mức nồng độ tau hoặc tau được phosphoryl hóa gia tăng (ví dụ như, trong CSF) so với giá trị trung bình ở các cá thể không bị bệnh thần kinh. Các phác đồ này cũng có thể được sử dụng để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh thần kinh ở các cá thể có đột biến ở tau liên quan đến bệnh thần kinh. Các phương pháp này là đặc biệt thích hợp để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh Alzheimer, và cụ thể là ở các bệnh nhân.

Các bệnh nhân thích hợp để điều trị bao gồm các cá thể có nguy cơ bị bệnh nhưng chưa thể hiện các triệu chứng, cũng như các bệnh nhân đang thể hiện các triệu chứng. Các bệnh nhân có nguy cơ mắc bệnh bao gồm các bệnh nhân có nguy cơ mắc bệnh do di truyền đã biết. Các cá thể này bao gồm các đối tượng có họ hàng đã từng mắc bệnh này, và các đối tượng có nguy cơ được xác định bằng cách phân tích các dấu hiệu di truyền hoặc hóa sinh. Các dấu hiệu di truyền về nguy cơ mắc bệnh bao gồm các đột biến ở tau, như các đột biến đã thảo luận trên đây, cũng như các đột biến trong các gen khác liên quan đến bệnh

thần kinh. Ví dụ, alen ApoE4 ở dạng dị hợp tử và thậm chí còn hơn như vậy ở dạng đồng hợp tử có liên quan đến nguy cơ mắc bệnh Alzheimer. Các dấu hiệu khác về nguy cơ mắc bệnh Alzheimer bao gồm các đột biến ở gen APP, cụ thể là các đột biến ở vị trí 717 và các vị trí 670 và 671 được gọi lần lượt là các đột biến Hardy và Swedish, các đột biến ở gen presenilin, PS1 và PS2, tiền sử gia đình về AD, bệnh tăng cholesterol huyết hoặc chứng xơ vữa động mạch. Các cá thể đang mắc bệnh Alzheimer có thể được nhận biết bằng cách chụp PET, từ chứng suy giảm nhận thức đặc trưng, cũng như sự có mặt của các yếu tố nguy cơ được mô tả trên đây. Ngoài ra, nhiều xét nghiệm chẩn đoán là sẵn có để xác định các cá thể mắc AD. Các xét nghiệm này bao gồm đo các mức nồng độ tau CSF hoặc phospho-tau và A β 42. Các mức nồng độ tau hoặc phospho-tau gia tăng và mức A β 42 giảm thể hiện sự có mặt của AD. Một số đột biến liên quan đến bệnh Parkinson. Ala30Pro hoặc Ala53, hoặc các đột biến trong các gen khác liên quan đến bệnh Parkinson như kinaza lập giàu leuxin, PARK8. Các cá thể cũng có thể được chẩn đoán với bất kỳ trong số các bệnh thần kinh được đề cập trên đây theo tiêu chuẩn của DSM IV TR.

Ở các bệnh nhân không có triệu chứng, việc điều trị có thể bắt đầu ở độ tuổi bất kỳ (ví dụ như, 10, 20, 30). Tuy nhiên, thông thường, không cần bắt đầu điều trị cho đến khi người bệnh 40, 50, 60 hoặc 70 tuổi. Thông thường, việc điều trị đòi hỏi nhiều liều trong một khoảng thời gian. Việc điều trị có thể được theo dõi bằng cách thử nghiệm các mức nồng độ kháng thể theo thời gian. Nếu đáp ứng này giảm, liều tăng cường được chỉ định. Trong trường hợp bệnh nhân mắc hội chứng Down tiềm tàng, việc điều trị có thể bắt đầu từ trước khi sinh bằng cách sử dụng được chất cho mẹ hoặc ngay sau khi sinh.

I. Các axit nucleic

Sáng chế đề xuất thêm các axit nucleic mã hóa bất kỳ trong số các chuỗi nặng và nhẹ được mô tả trên đây (ví dụ như, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:11, các SEQ ID NO:76-80, các SEQ ID NO:90-91, các SEQ ID NO:146-148, các SEQ ID NO:83-85, các SEQ ID NO:93-145, và các SEQ ID NO:178-181). Axit nucleic được lấy làm ví dụ mã hóa chuỗi nặng theo sáng chế là SEQ ID NO:182, và axit nucleic được lấy làm ví dụ mã hóa chuỗi nhẹ theo sáng chế là SEQ ID NO:183. Một cách tùy ý, các axit nucleic này còn mã hóa cho peptit tín hiệu và có thể được biểu hiện với peptit tín hiệu được liên kết với vùng biến đổi. Các trình tự axit nucleic mã hóa có thể được liên kết chức năng với các trình tự điều hòa để đảm bảo sự biểu hiện của các trình tự mã hóa, chẳng hạn như trình tự khởi động, yếu tố

tăng cường, vị trí liên kết ribosom, tín hiệu kết thúc phiên mã, và tương tự. Trình tự điều hòa có thể bao gồm vùng khởi động, ví dụ như, vùng khởi động sinh vật nhân sơ hoặc vùng khởi động sinh vật nhân chuẩn. Các axit nucleic mã hóa cho chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ có thể được tối ưu hóa bộ ba mã hóa để biểu hiện ở tế bào chủ. Các axit nucleic mã hóa cho chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có thể mã hóa cho gen chọn lọc được. Các axit nucleic mã hóa cho chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có thể có mặt ở dạng được phân lập hoặc có thể được tách dòng vào một hoặc nhiều vector. Các axit nucleic này có thể được tổng hợp bằng, ví dụ, phương pháp tổng hợp trạng thái rắn hoặc PCR của các oligonucleotit gồi lên nhau. Các axit nucleic mã hóa các chuỗi nặng và nhẹ có thể được nối thành một axit nucleic liền kề, ví dụ, trong một vector biểu hiện, hoặc có thể là riêng biệt, ví dụ, mỗi axit nucleic được tách dòng vào vector biểu hiện riêng của nó.

J. Kháng thể liên hợp

Các kháng thể liên hợp mà liên kết đặc hiệu với các kháng nguyên như tau, là hữu ích trong việc phát hiện sự có mặt của tau; theo dõi và đánh giá hiệu quả của các dược chất đang được sử dụng để điều trị cho bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh Alzheimer, hội chứng Down, suy giảm nhận thức nhẹ, bệnh do protein tau liên quan đến tuổi tác nguyên phát, bệnh Parkinson sau viêm não, chứng sa sút trí tuệ sau chấn thương hoặc sa sút trí tuệ do chấn thương não, bệnh Pick, bệnh Niemann-Pick typ C, bệnh liệt trên nhân, bệnh sa sút trí tuệ trán thái dương, bệnh thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh hạt ưa bạc, bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu, phức hợp bệnh xơ cứng teo cơ một bên/bệnh sa sút trí tuệ do parkinson của Guam, bệnh thoái hóa vỏ não và hạch nền (CBD), chứng sa sút trí tuệ với các thể Lewy, biến thể thể Lewy của bệnh Alzheimer (LBVAD), chứng chấn thương não mãn tính (CTE), bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu (GGT), hoặc bệnh liệt trên nhân tiến triển (PSP); ức chế hoặc làm giảm sự kết tụ của tau; ức chế hoặc làm giảm sự tạo sợi tau; làm giảm hoặc làm sạch lớp lắng đọng tau; ổn định cấu hình không độc của tau; hoặc điều trị hoặc phòng ngừa bệnh Alzheimer, hội chứng Down, suy giảm nhận thức nhẹ, bệnh do protein tau liên quan đến tuổi tác nguyên phát, bệnh Parkinson sau viêm não, chứng sa sút trí tuệ sau chấn thương hoặc sa sút trí tuệ do chấn thương não, bệnh Pick, bệnh Niemann-Pick typ C, bệnh liệt trên nhân, bệnh sa sút trí tuệ trán thái dương, bệnh thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh hạt ưa bạc, bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu, phức hợp bệnh xơ cứng teo cơ một bên/bệnh sa sút trí tuệ do parkinson của Guam, bệnh thoái hóa vỏ não và hạch nền (CBD), chứng sa sút trí tuệ với các thể Lewy, biến thể thể Lewy của bệnh Alzheimer

(LBVAD), chứng chấn thương não mãn tính (CTE), bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu (GGT), hoặc bệnh liệt trên nhân tiến triển (PSP) ở bệnh nhân. Ví dụ, các kháng thể này có thể được liên hợp với các gốc điều trị khác, các protein khác, các kháng thể khác, và/hoặc các nhãn phát hiện được. Xem WO 03/057838; US 8,455,622. Các gốc điều trị này có thể là hợp chất bất kỳ mà có thể được sử dụng để điều trị, chống, cải thiện, phòng ngừa, hoặc cải thiện bệnh hoặc tình trạng không mong muốn ở bệnh nhân, như bệnh Alzheimer, hội chứng Down, suy giảm nhận thức nhẹ, bệnh do protein tau liên quan đến tuổi tác nguyên phát, bệnh Parkinson sau viêm não, chứng sa sút trí tuệ sau chấn thương hoặc sa sút trí tuệ do chấn thương não, bệnh Pick, bệnh Niemann-Pick typ C, bệnh liệt trên nhân, bệnh sa sút trí tuệ trán thái dương, bệnh thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh hạt ưa bạc, bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu, phức hợp bệnh xơ cứng teo cơ một bên/bệnh sa sút trí tuệ do parkinson của Guam, bệnh thoái hóa vỏ não và hạch nền (CBD), chứng sa sút trí tuệ với các thể Lewy, biến thể thể Lewy của bệnh Alzheimer (LBVAD), chứng chấn thương não mãn tính (CTE), bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu (GGT), hoặc bệnh liệt trên nhân tiến triển (PSP).

Các gốc điều trị được liên hợp có thể bao gồm các chất gây độc tế bào, chất kim hãm tế bào, chất dinh dưỡng thần kinh, chất bảo vệ thần kinh, chất điều trị bằng phóng xạ, chất điều hòa miễn dịch, hoặc chất có tác dụng sinh học bất kỳ mà tạo thuận lợi hoặc tăng cường tác dụng của kháng thể. Chất gây độc tế bào có thể là chất bất kỳ độc với tế bào. Chất kim hãm tế bào có thể là chất bất kỳ ức chế sự tăng sinh của tế bào. Chất dinh dưỡng thần kinh có thể là chất bất kỳ, bao gồm các chất hóa học hoặc chứa protein, mà tăng cường nuôi dưỡng neuron, sự sinh trưởng hoặc biệt hóa neuron. Chất bảo vệ thần kinh có thể là chất, bao gồm các chất hóa học hoặc chứa protein, mà bảo vệ các neuron khỏi quá trình chấn thương cấp tính hoặc các quá trình thoái hóa. Chất điều biến miễn dịch có thể là chất bất kỳ mà kích thích hoặc ức chế sự phát triển hoặc sự duy trì đáp ứng miễn dịch. Chất điều trị bằng phóng xạ có thể là phân tử hoặc hợp chất bất kỳ mà phát ra phóng xạ. Nếu các gốc điều trị này được kết hợp với kháng thể đặc hiệu tau, như các kháng thể được mô tả ở đây, các gốc điều trị kết hợp này sẽ có ái lực đặc hiệu với các tế bào mắc bệnh liên quan đến tau so với các tế bào bình thường. Do đó, việc sử dụng các kháng thể được liên hợp này gắn đích trực tiếp các tế bào ung thư với tác dụng gây tổn thương tối thiểu đến các mô khỏe mạnh, bình thường xung quanh. Điều này có thể đặc biệt hữu ích đối với các gốc điều trị

quá độc để được sử dụng riêng. Thêm vào đó, các lượng nhỏ hơn của các gốc điều trị này có thể được sử dụng.

Một số kháng thể này có thể được biến đổi để có tác dụng như các độc tố miễn dịch. *Xem, ví dụ như*, Bằng Sáng Chế Mỹ Số 5,194,594. Ví dụ, ricin, chất độc tế bào thu được từ thực vật, có thể được kết hợp với các kháng thể bằng cách sử dụng chất phản ứng hai chức S-axetylmercaptosuccinic anhydrit cho kháng thể này và succinimidyl 3-(2-pyridyldithio)propionat cho ricin. *Xem Pietersz và đồng tác giả, Cancer Res.* 48(16):4469-4476 (1998). Sự kết hợp này dẫn đến sự mất hoạt tính liên kết chuỗi B của ricin, trong khi không làm suy yếu khả năng gây độc của chuỗi A của ricin cũng như tác dụng của kháng thể này. Tương tự, saporin, chất ức chế cấu trúc ribosom, có thể được ghép với các kháng thể nhờ liên kết disulfua giữa các nhóm sulfhydryl được gắn xen hóa học. *Xem Polito và đồng tác giả, Leukemia* 18:1215-1222 (2004).

Một số kháng thể này có thể được liên kết với các đồng vị phóng xạ. Ví dụ về các đồng vị phóng xạ bao gồm, ví dụ, ytri⁹⁰ (90Y), indi¹¹¹ (¹¹¹In), ¹³¹I, ^{99m}Tc, bạc phóng xạ-111, bạc phóng xạ-199, và Bitmut²¹³. Sự liên kết các đồng vị phóng xạ với các kháng thể có thể được thực hiện bằng các chelat hai chức thông thường. Đối với liên kết bạc phóng xạ-111 và bạc phóng xạ-199, các cầu nối dựa trên lưu huỳnh có thể được sử dụng. *Xem Hazra và đồng tác giả, Cell Biophys.* 24-25:1-7 (1994). Liên kết của các đồng vị phóng xạ bạc có thể liên quan đến phản ứng khử globulin miễn dịch bằng axit ascorbic. Đối với các đồng vị phóng xạ như ¹¹¹In và 90Y, ibritumomab tiuxetan có thể được sử dụng và sẽ phản ứng với các chất đồng vị này để lần lượt tạo ra ¹¹¹In-ibritumomab tiuxetan và 90Y-ibritumomab tiuxetan. *Xem Witzig, Cancer Chemother. Pharmacol.*, 48 Suppl 1:S91-S95 (2001).

Một số kháng thể này có thể được liên kết với các gốc điều trị khác. Các gốc điều trị này có thể, ví dụ, gây độc tế bào, kìm hãm tế bào, dinh dưỡng thần kinh, hoặc bảo vệ thần kinh. Ví dụ, các kháng thể có thể được liên hợp với các dược chất hóa trị liệu gây độc như maytansine, geldanamycin, chất ức chế tubulin như chất liên kết tubulin (*ví dụ như*, auristatin), hoặc chất liên kết rãnh nhỏ như calicheamicin. Các gốc điều trị điển hình khác bao gồm các chất đã biết là hữu ích để điều trị, quản lý, hoặc cải thiện bệnh Alzheimer, hội chứng Down, suy giảm nhận thức nhẹ, bệnh do protein tau liên quan đến tuổi tác nguyên phát, bệnh Parkinson sau viêm não, chứng sa sút trí tuệ sau chấn thương hoặc sa sút trí tuệ

do chấn thương não, bệnh Pick, bệnh Niemann-Pick typ C, bệnh liệt trên nhân, bệnh sa sút trí tuệ trán thái dương, bệnh thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh hạt ưa bạc, bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu, phức hợp bệnh xơ cứng teo cơ một bên/bệnh sa sút trí tuệ do parkinson của Guam, bệnh thoái hóa vỏ não và hạch nền (CBD), chứng sa sút trí tuệ với các thể Lewy, biến thể thể Lewy của bệnh Alzheimer (LBVAD), chứng chấn thương não mãn tính (CTE), bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu (GGT), hoặc bệnh liệt trên nhân tiến triển (PSP).

Các kháng thể cũng có thể được kết hợp với các protein khác. Ví dụ, các kháng thể có thể được kết hợp với các Fynomer. Fynomer là các protein liên kết nhỏ (*ví dụ như*, 7 kDa) thu được từ miền Fyn SH3 của người. Chúng có thể ổn định và hòa tan được, và chúng có thể thiếu các gốc xystein và các liên kết disulfua. Fynomer có thể được thao tác di truyền để liên kết với các phân tử đích với cùng ái lực và tính đặc hiệu với các kháng thể. Chúng là thích hợp để tạo ra các protein dung hợp đa đặc hiệu dựa trên các kháng thể. Ví dụ, Fynomer có thể được dung hợp với đầu cùng N và/hoặc đầu cùng C của các kháng thể để tạo ra FynomAb đặc hiệu kép và đặc hiệu ba với các cấu trúc khác nhau. Các Fynomer có thể được lựa chọn bằng cách sử dụng các thư viện Fynomer nhờ các công nghệ sàng lọc sử dụng các thử nghiệm FACS, Biacore, và thử nghiệm dựa trên tế bào cho phép lựa chọn hiệu quả Fynomer có các đặc điểm tối ưu. Các ví dụ về Fynomer được mô tả trong Grabulovski và đồng tác giả, *J. Biol. Chem.* 282:3196-3204 (2007); Bertschinger và đồng tác giả, *Protein Eng. Des. Sel.* 20:57-68 (2007); Schlatter và đồng tác giả, *MAbs.* 4:497-508 (2011); Banner và đồng tác giả, *Acta. Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* 69(Pt6):1124-1137 (2013); và Brack và đồng tác giả, *Mol. Cancer Ther.* 13:2030-2039 (2014).

Các kháng thể đã mô tả ở đây cũng có thể được kết hợp hoặc liên hợp với một hoặc nhiều kháng thể khác (*ví dụ như*, để tạo ra các kháng thể cộng hợp đa loài). Các kháng thể khác này có thể liên kết với các epitop khác nhau trong tau hoặc có thể liên kết với kháng nguyên đích khác.

Các kháng thể cũng có thể được kết hợp với nhãn phát hiện được. Các kháng thể này có thể được sử dụng, ví dụ, để chẩn đoán bệnh Alzheimer, hội chứng Down, suy giảm nhận thức nhẹ, bệnh do protein tau liên quan đến tuổi tác nguyên phát, bệnh Parkinson sau viêm não, chứng sa sút trí tuệ sau chấn thương hoặc sa sút trí tuệ do chấn thương não, bệnh Pick, bệnh Niemann-Pick typ C, bệnh liệt trên nhân, bệnh sa sút trí tuệ trán thái dương,

bệnh thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh hạt ưa bạc, bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu, phức hợp bệnh xơ cứng teo cơ một bên/bệnh sa sút trí tuệ do parkinson của Guam, bệnh thoái hóa vỏ não và hạch nền (CBD), chứng sa sút trí tuệ với các thể Lewy, biến thể thể Lewy của bệnh Alzheimer (LBVAD), chứng chấn thương não mãn tính (CTE), bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu (GGT), hoặc bệnh liệt trên nhân tiền triển (PSP), và/hoặc để đánh giá tác dụng điều trị. Các kháng thể này là đặc biệt hữu ích để thực hiện các kỹ thuật xác định như vậy ở đối tượng mắc hoặc dễ bị mắc bệnh Alzheimer, hội chứng Down, suy giảm nhận thức nhẹ, bệnh do protein tau liên quan đến tuổi tác nguyên phát, bệnh Parkinson sau viêm não, chứng sa sút trí tuệ sau chấn thương hoặc sa sút trí tuệ do chấn thương não, bệnh Pick, bệnh Niemann-Pick typ C, bệnh liệt trên nhân, bệnh sa sút trí tuệ trán thái dương, bệnh thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh hạt ưa bạc, bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu, phức hợp bệnh xơ cứng teo cơ một bên/bệnh sa sút trí tuệ do parkinson của Guam, bệnh thoái hóa vỏ não và hạch nền (CBD), chứng sa sút trí tuệ với các thể Lewy, biến thể thể Lewy của bệnh Alzheimer (LBVAD), chứng chấn thương não mãn tính (CTE), bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu (GGT), hoặc bệnh liệt trên nhân tiền triển (PSP), hoặc trong các mẫu sinh học thích hợp thu được từ các đối tượng này. Các nhãn phát hiện được điển hình mà có thể được kết hợp hoặc liên kết với kháng thể bao gồm nhiều enzym khác nhau, như peroxidaza cây cải ngựa, phosphataza kiềm, beta-galactosidaza, hoặc axetylcholinesteraza; các nhóm giả, như streptavidin/biotin và avidin/biotin; các nguyên liệu huỳnh quang, như umbelliferone, floresxein, floresxein isothioxyanat, rodamin, diclotriazinylamin floresxein, dansyl clorua hoặc phycoerythrin; các nguyên liệu phát quang, như luminol; các nguyên liệu phát quang sinh học, như luciferaza, luxiferin, và aequorin; các nguyên liệu hoạt động phóng xạ, chẳng hạn như bạc phóng xạ-111, bạc phóng xạ-199, Bitmut²¹³, iot (¹³¹I, ¹²⁵I, ¹²³I, ¹²¹I), cacbon (¹⁴C), lưu huỳnh (⁵S), triti (³H), indi (¹¹⁵In, ¹¹³In, ¹¹²In, ¹¹¹In), tecneti (⁹⁹Tc), tali (²⁰¹Ti), gali (⁶⁸Ga, ⁶⁷Ga), paladi (¹⁰³Pd), molypden (⁹⁹Mo), xenon (¹³³Xe), flo (¹⁸F), ¹⁵³Sm, ¹⁷⁷Lu, ¹⁵⁹Gd, ¹⁴⁹Pm, ¹⁴⁰La, ¹⁷⁵Yb, ¹⁶⁶Ho, ⁹⁰Y, ⁴⁷Sc, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ¹⁴²Pr, ¹⁰⁵Rh, ⁹⁷Ru, ⁶⁸Ge, ⁵⁷Co, ⁶⁵Zn, ⁸⁵Sr, ³²P, ¹⁵³Gd, ¹⁶⁹Yb, ⁵¹Cr, ⁵⁴Mn, ⁷⁵Se, ¹¹³Sn, và ¹¹⁷Thiếc; kim loại phát xạ positron sử dụng nhiều kỹ thuật chụp cắt lớp phát xạ positron khác nhau; các ion kim loại thuận từ không có hoạt tính phóng xạ; và các phân tử được gắn nhãn phóng xạ hoặc được liên kết với các đồng vị phóng xạ đặc hiệu.

Sự liên kết các đồng vị phóng xạ với các kháng thể có thể được thực hiện bằng các chelat hai chức thông thường. Đối với liên kết bạc phóng xạ-111 và bạc phóng xạ-199, các

cầu nối dựa trên lưu huỳnh có thể được sử dụng. Xem Hazra và đồng tác giả, *Cell Biophys.* 24-25:1-7 (1994). Liên kết của các đồng vị phóng xạ bạc có thể liên quan đến phản ứng khử globulin miễn dịch bằng axit ascorbic. Đối với các đồng vị phóng xạ như ^{111}In và ^{90}Y , ibritumomab tiuxetan có thể được sử dụng và sẽ phản ứng với các chất đồng vị này để lần lượt tạo ra ^{111}In -ibritumomab tiuxetan và ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan. Xem Witzig, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 48 Suppl 1:S91-S95 (2001).

Các gốc điều trị, các protein khác, các kháng thể khác, và/hoặc các nhãn phát hiện được có thể được kết hợp hoặc được liên hợp, trực tiếp hoặc gián tiếp qua chất trung gian (ví dụ như, cầu nối), với kháng thể theo sáng chế. Xem ví dụ như, Arnon và đồng tác giả, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy," in *Monoclonal Antibodies và Cancer Therapy*, Reisfeld và đồng tác giả (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom và đồng tác giả, "Antibodies For Drug Delivery," in *Controlled Drug Delivery (2nd Ed.)*, Robinson và đồng tác giả (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review," in *Monoclonal Antibodies 84: Biological và Clinical Applications*, Pinchera và đồng tác giả (eds.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, và Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy," in *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection và Therapy*, Baldwin và đồng tác giả (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985); và Thorpe và đồng tác giả, *Immunol. Rev.*, 62:119-58 (1982). Cầu nối thích hợp bao gồm, ví dụ như, cầu nối có thể phân cắt được và cầu nối không thể phân cắt. Các cầu nối khác nhau mà giải phóng các gốc điều trị, các protein, các kháng thể và/hoặc các nhãn phát hiện được đã kết hợp trong các điều kiện axit hóa hoặc khử, khi tiếp xúc với các proteaza đặc hiệu, hoặc trong các điều kiện xác định khác có thể được sử dụng.

VI. Dược phẩm và phương pháp sử dụng

Trong các ứng dụng điều trị dự phòng, kháng thể hoặc chất cảm ứng kháng thể hoặc dược phẩm chứa kháng thể này được sử dụng cho bệnh nhân nhạy cảm với, hoặc có nguy cơ bị bệnh (ví dụ như, bệnh Alzheimer) theo phác đồ (liều, tần suất sử dụng và đường dùng) hữu hiệu để làm giảm nguy cơ, làm giảm mức độ nghiêm trọng của bệnh, hoặc làm chậm sự khởi phát của ít nhất một dấu hiệu hoặc triệu chứng của bệnh này. Cụ thể là, tốt hơn, nếu phác đồ này có tác dụng ức chế hoặc làm chậm sự tạo thành tau hoặc phospho-tau và các sợi tạo cặp được tạo thành từ nó trong não, và hoặc ức chế hoặc làm chậm tác

dụng gây độc của nó và/hoặc ức chế/hoặc làm chậm sự phát triển của tình trạng khuyết tật hành vi. Trong các ứng dụng điều trị, kháng thể hoặc chất cảm ứng kháng thể được sử dụng cho bệnh nhân bị nghi ngờ, hoặc đã mắc bệnh (ví dụ như, bệnh Alzheimer) theo phác đồ (liều, tần suất và đường sử dụng) hữu hiệu để cải thiện hoặc ít nhất là ức chế sự hủy hoại thêm của ít nhất là một dấu hiệu hoặc triệu chứng của bệnh này. Cụ thể là, tốt hơn, nếu phác đồ này là hữu hiệu để làm giảm hoặc ít nhất là ức chế sự tăng thêm các mức nồng độ tau, phospho-tau, hoặc các sợi được tạo cặp được tạo ra từ nó, các tác dụng gây độc có liên quan và/hoặc tình trạng khuyết tật hành vi.

Một phác đồ được coi là hữu hiệu để điều trị hoặc phòng ngừa nếu từng bệnh nhân được điều trị thu được kết quả tốt hơn so với kết quả trung bình ở nhóm đối chứng gồm các bệnh nhân tương tự không được điều trị bằng các phương pháp theo sáng chế, hoặc nếu kết quả tốt hơn được chứng minh ở các bệnh nhân được điều trị so với các bệnh nhân đối chứng trong thử nghiệm lâm sàng có đối chứng (*ví dụ như*, thử nghiệm giai đoạn II, giai đoạn II/III hoặc giai đoạn III) ở $p < 0,05$ hoặc 0,01 hoặc thậm chí ở mức 0,001.

Các liều hữu hiệu thay đổi tùy theo nhiều yếu tố khác nhau, chẳng hạn như cách thức sử dụng, vị trí đích, tình trạng sinh lý của bệnh nhân, bất kể bệnh nhân là người mang ApoE hay không, bất kể bệnh nhân là người hay động vật, các thuốc khác được sử dụng, và bất kể phương pháp điều trị là phòng ngừa hay chữa bệnh.

Các khoảng liều được lấy làm ví dụ cho các kháng thể là từ khoảng 0,01 đến 60 mg/kg, hoặc từ khoảng 0,1 đến 3 mg/kg hoặc 0,15-2 mg/kg hoặc 0,15-1,5 mg/kg, thể trọng của bệnh nhân. Kháng thể có thể được sử dụng với các liều hàng ngày, cách ngày, hàng tuần, hai tuần một lần, hàng tháng, hàng quý hoặc theo lịch bất kỳ khác được xác định bằng phân tích theo kinh nghiệm. Phương pháp điều trị được lấy làm ví dụ đòi hỏi sử dụng nhiều liều trong một khoảng thời gian dài, ví dụ, ít nhất là 6 tháng. Các phác đồ điều trị được lấy làm ví dụ khác đòi hỏi sử dụng hai tuần một lần hoặc một tháng một lần hoặc 3 đến 6 tháng một lần.

Lượng chất để sử dụng chủ động thay đổi từ 0,1-500 μg trên mỗi bệnh nhân và thường xuyên hơn là từ 1-100 hoặc 1-10 μg trên mỗi lần tiêm để sử dụng cho người. Lịch tiêm có thể thay đổi đáng kể từ mỗi ngày một lần, đến mỗi năm một lần, đến mỗi thập kỷ một lần. Phác đồ được lấy làm ví dụ bao gồm gây miễn dịch sau đó tiêm liều tăng cường cách nhau các khoảng thời gian, như cách nhau 6 tuần hoặc hai tháng. Một phác đồ khác bao gồm gây miễn dịch sau đó tiêm liều tăng cường 1, 2 và 12 tháng sau đó. Một phác đồ

khác đòi hỏi việc tiêm mỗi hai tháng một lần suốt cuộc đời. Ngoài ra, các lần tiêm tăng cường có thể dựa trên cơ sở không lặp lại đều đặn như được chỉ ra bằng cách theo dõi đáp ứng miễn dịch.

Tốt hơn, nếu các kháng thể hoặc chất cảm ứng kháng thể được sử dụng qua đường ngoại vi (*tức là*, đường trong đó kháng thể được sử dụng hoặc được cảm ứng đi qua hàng rào máu não để tới được vị trí dự định trong não. Các đường sử dụng bao gồm khu trú, trong tĩnh mạch, dùng qua đường miệng, dùng dưới da, dùng trong động mạch, dùng trong hộp sọ, dùng nội tủy mạc, dùng trong màng bụng, dùng trong mũi, trong mắt hoặc trong cơ. Các đường sử dụng kháng thể ưu tiên hơn là trong tĩnh mạch và dưới da. Các đường gây miễn dịch chủ động được ưu tiên hơn là dưới da và trong cơ. Kiểu tiêm này được thực hiện nhiều nhất ở cơ cánh tay hoặc bắp chân. Theo một vài phương pháp, các chất được tiêm trực tiếp vào mô cụ thể nơi mà tích tụ các chất lắng đọng, ví dụ tiêm trong hộp sọ.

Dược phẩm để sử dụng ngoài đường tiêu hóa tốt hơn, nếu là vô trùng và gần như đẳng trương và được sản xuất theo các điều kiện GMP. Các dược phẩm có thể được cung cấp ở dạng liều đơn vị (*tức là*, liều để sử dụng một lần duy nhất). Dược phẩm có thể được bào chế bằng cách sử dụng một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng, tá dược hoặc chất phụ gia được chấp nhận về mặt sinh lý. Dạng bào chế phụ thuộc vào đường sử dụng đã chọn. Để tiêm, các kháng thể có thể được bào chế trong dung dịch nước, tốt hơn, nếu trong dung dịch đệm tương thích về mặt sinh lý như dung dịch Hank, dung dịch Ringer, hoặc nước muối sinh lý hoặc đệm axetat (để làm giảm sự khó chịu ở vị trí tiêm). Dung dịch này có thể chứa tá dược chẳng hạn như các chất tạo huyền phù, chất ổn định và/hoặc phân tán. Các kháng thể khác có thể là ở dạng đông khô để hoàn nguyên với tá dược lỏng thích hợp, *ví dụ như*, nước tiệt trùng không chứa chất gây sốt, trước khi sử dụng.

Các phác đồ này có thể được sử dụng kết hợp với một chất khác hữu hiệu để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh đang được điều trị. Ví dụ, trong trường hợp bệnh Alzheimer, các phác đồ này có thể được kết hợp với liệu pháp miễn dịch kháng A β (WO/2000/072880), các chất ức chế cholinesteraza hoặc memantin hoặc trong trường hợp của bệnh Parkinson liệu pháp miễn dịch kháng alpha synuclein WO/2008/103472, Levodopa, chất chủ vận dopamin, các chất ức chế COMT, các chất ức chế MAO-B, Amantadine, hoặc các chất kháng tiết cholin.

Các kháng thể được sử dụng trong phác đồ hữu hiệu có nghĩa là liều, đường sử dụng và tần suất sử dụng mà trì hoãn sự phát bệnh, làm giảm mức độ nghiêm trọng, ức chế sự

hủy hoại thêm nữa, và/hoặc cải thiện ít nhất là một dấu hiệu hoặc triệu chứng của rối loạn đang được điều trị. Nếu bệnh nhân đã mắc sẵn một rối loạn, phác đồ này có thể được gọi là phác đồ hữu hiệu để điều trị. Nếu bệnh nhân có nguy cơ cao mắc rối loạn này so với nhóm chung nhưng vẫn chưa thể hiện các triệu chứng, phác đồ này có thể được gọi là phác đồ hữu hiệu để phòng ngừa. Trong một số trường hợp, tác dụng điều trị hoặc phòng ngừa có thể được quan sát thấy ở từng bệnh nhân so với các đối chứng trong quá khứ hoặc theo kinh nghiệm trước đây ở cùng một bệnh nhân. Trong các trường hợp khác, tác dụng điều trị hoặc phòng ngừa có thể được chứng minh trong các thử nghiệm tiền lâm sàng hoặc lâm sàng ở nhóm các bệnh nhân được điều trị so với nhóm đối chứng gồm các bệnh nhân không được điều trị.

Liều được lấy làm ví dụ cho kháng thể là 0,1-60 mg/kg (ví dụ, 0,5, 3, 10, 30, hoặc 60 mg/kg), hoặc 0,5-5 mg/kg thể trọng (ví dụ, 0,5, 1, 2, 3, 4 hoặc 5 mg/kg) hoặc 10-4000 mg hoặc 10-1500 mg làm liều cố định. Liều này phụ thuộc vào tình trạng của bệnh nhân và đáp ứng với điều trị trước đó, nếu có, dù phương pháp điều trị này là phòng ngừa hay chữa bệnh và dù rối loạn này là cấp tính hay mãn tính, trong số các yếu tố khác.

Đường sử dụng có thể là ngoài đường tiêu hóa, trong tĩnh mạch, trong miệng, dưới da, trong động mạch, trong sọ, nội tủy mạc, trong màng bụng, khu trú, trong mũi hoặc trong cơ. Một số kháng thể có thể được sử dụng trong hệ tuần hoàn toàn thân bằng cách sử dụng trong tĩnh mạch hoặc dưới da. Việc sử dụng trong tĩnh mạch có thể, ví dụ, bằng cách truyền trong khoảng thời gian như 30 đến 90 phút.

Tần suất sử dụng phụ thuộc vào thời gian bán thải của kháng thể trong hệ tuần hoàn, tình trạng của bệnh nhân và đường sử dụng trong số các yếu tố khác. Tần suất này có thể là hàng ngày, hàng tuần, hàng tháng, hàng quý, hoặc cách nhau các khoảng thời gian không đồng đều tương ứng với các thay đổi về tình trạng của bệnh nhân hoặc tiến triển của rối loạn đang được điều trị. Tần suất điển hình để sử dụng trong tĩnh mạch là từ hàng tuần đến hàng quý qua một đợt điều trị liên tục, mặc dù cũng có thể sử dụng liều thường xuyên hơn hoặc ít thường xuyên hơn. Đối với sử dụng dưới da, tần suất sử dụng liều điển hình là hàng ngày đến hàng tháng, mặc dù cũng có thể sử dụng liều thường xuyên hơn hoặc ít thường xuyên hơn.

Số lượng liều được sử dụng phụ thuộc vào việc rối loạn là cấp tính hay mãn tính và đáp ứng của rối loạn với việc điều trị. Đối với các rối loạn cấp tính hoặc tình trạng trầm

trọng cấp tính của rối loạn mãn tính, từ 1 đến 10 liều thường là đủ. Đôi khi, một liều lớn duy nhất, tùy ý ở dạng được chia nhỏ, là đủ cho rối loạn cấp tính hoặc tình trạng trầm trọng cấp tính của rối loạn mãn tính. Việc điều trị có thể được lặp lại khi tái phát rối loạn cấp tính hoặc tình trạng trầm trọng cấp tính. Đối với các rối loạn mãn tính, kháng thể có thể được sử dụng cách nhau các khoảng thời gian đều đặn, *ví dụ như*, hàng tuần, hai tuần một lần, hàng tháng, hàng quý, mỗi sáu tháng một lần, trong ít nhất là 1, 5 hoặc 10 năm, hoặc toàn bộ cuộc đời của bệnh nhân.

A. Phương pháp theo dõi và chẩn đoán

Chụp ảnh in vivo, các phương pháp chẩn đoán, và liệu pháp miễn dịch tối ưu hóa.

Sáng chế đề xuất các phương pháp chụp ảnh in vivo lớp lắng đọng protein tau (*ví dụ như*, các đám rối thần kinh và các thể vùi tau) ở bệnh nhân. Phương pháp này hoạt động bằng cách sử dụng chất phản ứng, như kháng thể liên kết với tau (*ví dụ*, kháng thể 3D6 của chuột, được làm tương thích với người, khảm hoặc được nguy trang), cho bệnh nhân và sau đó phát hiện chất này sau khi nó được liên kết. Kháng thể liên kết với epitop của tau trong các gốc axit amin 199-213 hoặc 262-276 nêu trong SEQ ID NO:3 (lần lượt tương ứng với các gốc axit amin 257-271 hoặc 320-334 nêu trong SEQ ID NO:1) hoặc trong các gốc axit amin 259-268 hoặc 290-299 hoặc 321-330 hoặc 353-362 nêu trong SEQ ID NO:1, được ưu tiên. Trong một số phương pháp, kháng thể liên kết với epitop trong các gốc axit amin 199-213 nêu trong SEQ ID NO:3 (tương ứng với các gốc axit amin 257-271 nêu trong SEQ ID NO:1), hoặc trong axit amin 262-276 nêu trong SEQ ID NO:3 (tương ứng với các gốc axit amin 320-334 nêu trong SEQ ID NO:1). Trong một số phương pháp, kháng thể liên kết với epitop trong các gốc axit amin 259-268 nêu trong SEQ ID NO:1, trong axit amin 290-299 nêu trong SEQ ID NO:1, trong axit amin 321-330 nêu trong SEQ ID NO:1, hoặc trong các axit amin 353-362 nêu trong SEQ ID NO:1. Phản ứng đào thải đối với các kháng thể đã sử dụng có thể tránh được hoặc được làm giảm bằng cách sử dụng các đoạn kháng thể thiếu vùng hằng định có chiều dài đầy đủ, như Fab. Trong một số phương pháp, cùng một kháng thể có thể có tác dụng vừa làm chất điều trị và vừa làm chất chẩn đoán.

Các chất chẩn đoán có thể được sử dụng bằng cách tiêm trong tĩnh mạch vào cơ thể của bệnh nhân, hoặc trực tiếp vào não bằng cách tiêm trong hộp sọ hoặc bằng cách khoan lỗ qua hộp sọ. Liều của chất phản ứng nên nằm trong các khoảng giống như đối với các phương pháp điều trị. Thông thường, chất phản ứng này được gắn nhãn, mặc dù trong một

số phương pháp, chất phản ứng chính có ái lực với tau không được gắn nhãn và chất đánh dấu phụ được sử dụng để liên kết với chất phản ứng chính. Việc lựa chọn nhãn phụ thuộc vào cách thức phát hiện. Ví dụ, nhãn huỳnh quang là thích hợp để phát hiện bằng mắt thường. Việc sử dụng các nhãn thuận từ là thích hợp để phát hiện bằng cách chụp cắt lớp mà không cần can thiệp phẫu thuật. Các nhãn hoạt động phóng xạ cũng có thể được phát hiện bằng cách sử dụng kỹ thuật chụp cắt lớp phát xạ positron (PET) hoặc kỹ thuật ghi hình cắt lớp vi tính bằng bức xạ photon đơn (SPECT).

Các phương pháp chụp ảnh in vivo lớp lắng đọng protein tau là hữu ích để chẩn đoán hoặc xác nhận chẩn đoán bệnh do protein tau, như bệnh Alzheimer, bệnh thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh liệt trên nhân tiến triển và bệnh Pick, hoặc khả năng dễ bị mắc các bệnh này. Ví dụ, nhiều phương pháp có thể được sử dụng trên bệnh nhân thể hiện các triệu chứng suy giảm nhận thức. Nếu bệnh nhân này có các đám rối thần kinh bất thường, thì bệnh nhân này có thể mắc bệnh Alzheimer. Ngoài ra, nếu bệnh nhân này có các thể vùi tau bất thường, thì tùy theo vị trí của thể vùi, bệnh nhân có thể mắc bệnh thoái hóa thùy trán thái dương. Các phương pháp này cũng có thể được sử dụng trên các bệnh nhân không có triệu chứng. Sự có mặt của các dạng lắng đọng protein tau bất thường chỉ ra khả năng dễ mắc bệnh có triệu chứng trong tương lai. Các phương pháp này cũng là hữu ích để theo dõi tiến trình của bệnh và/hoặc đáp ứng với việc điều trị ở bệnh nhân đã được chẩn đoán trước đó là mắc bệnh liên quan đến tau.

Việc chẩn đoán có thể được thực hiện bằng cách so sánh số lượng, kích thước, và/hoặc mật độ của các locut được gắn nhãn, với các trị số đường cơ sở tương ứng. Các trị số đường cơ sở này có thể thể hiện các mức nồng độ trung bình trong nhóm gồm các cá thể không mắc bệnh. Các trị số đường cơ sở cũng có thể thể hiện nhiều mức nồng độ trước đó đã được xác định ở cùng một bệnh nhân. Ví dụ, các trị số đường cơ sở có thể được xác định ở bệnh nhân trước khi bắt đầu điều trị bằng liệu pháp miễn dịch tau, và các trị số đo được sau đó được so sánh với các trị số đường cơ sở. Sự giảm các trị số so với đường cơ sở báo hiệu đáp ứng tích cực với điều trị.

Ở một số bệnh nhân, việc chẩn đoán bệnh do protein tau có thể được hỗ trợ bằng cách thực hiện kỹ thuật quét PET. Kỹ thuật quét PET có thể được thực hiện bằng cách sử dụng, ví dụ, thiết bị chụp ảnh PET thông thường và thiết bị bổ trợ. Kỹ thuật quét thường bao gồm một hoặc nhiều vùng của não nói chung đã được biết là liên quan đến lớp lắng

động protein tau và một hoặc nhiều vùng trong đó một vài lắng đọng, nếu có, thường có mặt để đóng vai trò làm đối chứng.

Dấu hiệu phát hiện được bằng cách quét PET có thể được thể hiện dưới dạng hình ảnh đa chiều. Hình ảnh đa chiều có thể là ở hai chiều thể hiện mặt cắt qua não, ba chiều, thể hiện não ba chiều, hoặc bốn chiều thể hiện các thay đổi trong não ba chiều theo thời gian. Thang màu có thể được sử dụng với nhiều màu sắc khác nhau chỉ ra các lượng khác nhau của nhãn và, do đó, phát hiện được lớp lắng đọng protein tau. Các kết quả của việc quét cũng có thể được thể hiện bằng số, với các số liên quan đến lượng nhãn phát hiện được và do đó là lượng lắng đọng protein tau. Nhãn có mặt trong vùng não đã được biết là liên quan đến lớp lắng đọng đối với một bệnh do protein tau cụ thể (*ví dụ như*, bệnh Alzheimer) có thể được so sánh với nhãn có mặt trong vùng đã biết là không liên quan đến lớp lắng đọng để tạo ra tỷ lệ thể hiện mức độ của lớp lắng đọng trong vùng ban đầu. Với cùng một phối tử được gắn nhãn phóng xạ, các tỷ lệ này cung cấp số đo có thể so sánh được của lớp lắng đọng protein tau và các thay đổi của chúng giữa các bệnh nhân khác nhau.

Trong một số phương pháp, kỹ thuật quét PET được thực hiện đồng thời với hoặc trong cùng một lần khám của bệnh nhân với kỹ thuật quét MRI hoặc CAT. Kỹ thuật quét MRI hoặc CAT cung cấp giải phẫu chi tiết hơn về bộ não so với kỹ thuật quét PET. Tuy nhiên, hình ảnh từ kỹ thuật quét PET có thể được chồng lên hình ảnh quét MRI hoặc CAT chỉ ra một cách chính xác hơn vị trí của phối tử PET và do đó lớp lắng đọng tau so với các cấu trúc giải phẫu trong não. Một số máy có thể thực hiện cả quét PET và quét MRI hoặc CAT mà bệnh nhân không cần thay đổi các vị trí giữa các lần quét tạo thuận lợi cho việc chồng các hình ảnh.

Các phối tử PET thích hợp bao gồm các kháng thể được gắn nhãn phóng xạ theo sáng chế (*ví dụ như*, kháng thể 3D6 của chuột, được làm tương thích với người, khảm hoặc được ngưng trang). Các chất đồng vị phóng xạ được sử dụng có thể là, ví dụ như, C^{11} , N^{13} , O^{15} , F^{18} , hoặc I^{123} . Khoảng cách giữa việc sử dụng phối tử PET và việc thực hiện kỹ thuật quét này có thể phụ thuộc vào phối tử PET và cụ thể là tốc độ hấp thu và đào thải của nó trong não, và thời gian bán thải của nhãn phóng xạ.

Kỹ thuật quét PET cũng có thể được thực hiện như là một biện pháp phòng bệnh ở bệnh nhân không có triệu chứng hoặc ở bệnh nhân có triệu chứng suy giảm nhận thức nhẹ

nhưng vẫn chưa được chẩn đoán mắc bệnh do protein tau nhưng có nguy cơ phát triển bệnh do protein tau ngày càng tăng. Đối với bệnh nhân không có triệu chứng, kỹ thuật quét là đặc biệt hữu ích cho các cá thể được xem là có nguy cơ mắc bệnh do protein tau tăng do tiền sử gia đình, yếu tố di truyền hoặc các yếu tố nguy cơ hóa sinh, hoặc tuổi trưởng thành. Kỹ thuật quét phòng bệnh có thể bắt đầu, ví dụ, ở độ tuổi của bệnh nhân nằm trong khoảng từ 45 đến 75 tuổi. Ở một số bệnh nhân, lần quét đầu tiên được thực hiện ở 50 tuổi.

Các lần quét phòng bệnh có thể được thực hiện ở các khoảng cách là, ví dụ như, từ sáu tháng đến mười năm, tốt hơn, nếu từ 1-5 năm. Ở một số bệnh nhân, kỹ thuật quét phòng bệnh được thực hiện hàng năm. Nếu kỹ thuật quét PET được thực hiện như là một biện pháp phòng bệnh chỉ ra mức lắng đọng protein tau cao bất thường, liệu pháp miễn dịch có thể được bắt đầu và kỹ thuật quét PET tiếp theo được thực hiện như ở bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh do protein tau. Nếu kỹ thuật quét PET được thực hiện như là biện pháp phòng bệnh chỉ ra các mức lắng đọng protein tau nằm trong giới hạn bình thường, các lần quét PET khác có thể được thực hiện ở các khoảng cách từ sáu tháng đến 10 năm, và tốt hơn, từ 1 đến 5 năm, như trước đây, hoặc tương ứng với sự xuất hiện của các dấu hiệu và triệu chứng của bệnh do protein tau hoặc chứng suy giảm nhận thức nhẹ. Bằng cách kết hợp kỹ thuật quét phòng bệnh với việc sử dụng liệu pháp miễn dịch hướng đến tau nếu và khi mức lắng đọng protein tau trên mức bình thường được phát hiện, các mức lắng đọng protein tau có thể được làm giảm xuống, hoặc gần hơn với, các mức bình thường, hoặc ít nhất là được ức chế không tăng thêm, và bệnh nhân này có thể duy trì tình trạng không mắc bệnh do protein tau trong khoảng thời gian dài hơn so với khi không nhận được kỹ thuật quét phòng bệnh và liệu pháp miễn dịch hướng tới tau (ví dụ như, ít nhất 5, 10, 15 hoặc 20 năm, hoặc trong suốt cuộc đời còn lại của bệnh nhân).

Các mức lắng đọng protein tau bình thường có thể được xác định bằng lượng đám rối thần kinh hoặc thể vùi tau trong não của mẫu đại diện của các cá thể trong nhóm bình thường mà chưa được chẩn đoán mắc bệnh do protein tau cụ thể (ví dụ như, bệnh Alzheimer) và không được xem là có nguy cơ phát triển bệnh này tăng (ví dụ như, mẫu đại diện của các cá thể không mắc bệnh dưới 50 tuổi). Ngoài ra, mức bình thường có thể được nhận biết ở bệnh nhân đơn lẻ nếu tín hiệu PET theo các phương pháp này trong một vùng của não, trong đó lớp lắng đọng protein tau được biết là có phát triển, không khác biệt (trong khoảng chính xác của phép đo) với tín hiệu từ một vùng của não trong đó được biết là lớp lắng đọng này bình thường không phát triển. Mức gia tăng ở cá thể có thể được nhận

biết bằng cách so sánh với các mức bình thường (*ví dụ như*, giá trị trung bình cao nhất và phương sai của độ lệch chuẩn) hoặc đơn giản từ tín hiệu tăng vượt quá sai số thử nghiệm trong một vùng của não liên quan đến lớp lắng đọng protein tau so với vùng không được biết là có liên quan đến lớp lắng đọng. Với mục đích so sánh các mức lắng đọng protein tau ở cá thể và nhóm, lớp lắng đọng protein tau tốt hơn, nên được xác định trong (các) vùng não giống nhau, các vùng này bao gồm ít nhất một vùng trong đó lớp lắng đọng protein tau liên quan đến bệnh do protein tau cụ thể (*ví dụ như*, bệnh Alzheimer) được biết là tạo thành. Bệnh nhân có mức lắng đọng protein tau tăng là ứng viên để bắt đầu liệu pháp miễn dịch.

Sau khi bắt đầu liệu pháp miễn dịch, sự giảm mức lắng đọng protein tau có thể được quan sát thấy đầu tiên như là dấu hiệu cho thấy việc điều trị đang có tác dụng mong muốn. Sự giảm được quan sát được có thể, ví dụ, nằm trong khoảng từ 1 đến 100%, 1 đến 50%, hoặc 1 đến 25% trị số đường cơ sở. Các tác dụng này có thể được đo trong một hoặc nhiều vùng của não trong đó lớp lắng đọng được biết là tạo ra hoặc có thể được đo từ trị số trung bình của các vùng này. Tác dụng chung của việc điều trị có thể được dự tính bằng cách cộng tỷ lệ phần trăm giảm so với đường cơ sở với sự tăng lớp lắng đọng protein tau mà nếu không sẽ xảy ra ở bệnh nhân không được điều trị trung bình.

Sự duy trì lớp lắng đọng protein tau ở mức gần như không đổi hoặc ngay cả sự tăng nhẹ lớp lắng đọng protein tau cũng có thể là dấu hiệu về sự đáp ứng với điều trị dù là đáp ứng dưới mức tối ưu. Các đáp ứng này có thể được so sánh với sự thay đổi theo thời gian của các mức lắng đọng protein tau ở bệnh nhân mắc bệnh do protein tau cụ thể (*ví dụ như*, bệnh Alzheimer) mà không nhận được điều trị, để xác định liệu pháp miễn dịch này có tác dụng trong việc ức chế sự tăng thêm lớp lắng đọng protein tau hay không.

Việc theo dõi các thay đổi ở lớp lắng đọng protein tau cho phép điều chỉnh liệu pháp miễn dịch hoặc phác đồ điều trị khác đáp ứng với việc điều trị này. Việc theo dõi bằng PET cung cấp chỉ báo về bản chất và mức độ của đáp ứng với phương pháp điều trị. Sau đó có thể quyết định có điều chỉnh phương pháp điều trị hay không và nếu muốn, phương pháp điều trị có thể được điều chỉnh đáp ứng với việc theo dõi bằng PET. Do đó việc theo dõi bằng PET cho phép liệu pháp miễn dịch hướng tới tau hoặc phác đồ điều trị khác được điều chỉnh trước khi các chất đánh dấu sinh học khác, MRI hoặc các biện pháp theo kinh nghiệm đáp ứng theo cách phát hiện được. Thay đổi đáng kể có nghĩa là việc so sánh trị số của một tham số sau khi điều trị so với nền cung cấp một số bằng chứng cho thấy việc điều trị có

hoặc không gây ra tác dụng có lợi. Trong một số trường hợp, sự thay đổi các trị số của một tham số ở chính bệnh nhân cung cấp bằng chứng cho thấy việc điều trị có hoặc không gây ra tác dụng có lợi. Trong các trường hợp khác, sự thay đổi của các trị số, nếu có, ở bệnh nhân, được so sánh với sự thay đổi của các trị số, nếu có, ở nhóm bệnh nhân đối chứng đại diện không trải qua liệu pháp miễn dịch. Sự khác biệt về đáp ứng ở một bệnh nhân cụ thể so với đáp ứng bình thường ở bệnh nhân đối chứng (*ví dụ như*, trị số trung bình cộng phương sai của độ lệch chuẩn) cũng có thể cung cấp bằng chứng là phác đồ liệu pháp miễn dịch này đang đạt được hoặc không đạt được tác dụng có lợi ở bệnh nhân.

Ở một số bệnh nhân, việc theo dõi chỉ ra sự giảm phát hiện được của lớp lắng đọng protein tau nhưng mức lắng đọng protein tau này vẫn trên mức bình thường. Ở các bệnh nhân này, nếu không có tác dụng phụ không chấp nhận được, phác đồ điều trị này có thể được tiếp tục như vậy hoặc thậm chí được gia tăng về tần suất sử dụng và/hoặc liều nếu vẫn chưa phải ở liều được đề nghị cao nhất.

Nếu việc theo dõi chỉ ra các mức lắng đọng protein tau ở bệnh nhân đã được làm giảm đến các mức lắng đọng protein tau bình thường hoặc gần như bình thường, phác đồ liệu pháp miễn dịch có thể được điều chỉnh từ liều cảm ứng (*tức là*, làm giảm các mức lắng đọng protein tau) đến liều duy trì (*tức là*, duy trì lớp lắng đọng protein tau ở mức gần như không đổi). Phác đồ này có thể được tác động bằng cách làm giảm liều và hoặc tần suất sử dụng liệu pháp miễn dịch.

Ở các bệnh nhân khác, việc theo dõi có thể chỉ ra là liệu pháp miễn dịch đang có một số tác dụng có lợi nhưng là tác dụng dưới mức tối ưu. Tác dụng tối ưu có thể được xác định là tỷ lệ phần trăm giảm mức lắng đọng protein tau nằm trong khoảng nửa trên hoặc điểm tứ phân vị của sự thay đổi về lớp lắng đọng protein tau (được đo hoặc được tính trên toàn bộ não hoặc (các) vùng đại diện của não, trong đó đã biết là tạo ra lớp lắng đọng protein tau) xảy ra ở mẫu đại diện của các bệnh nhân mắc bệnh do protein tau đang điều trị bằng liệu pháp miễn dịch ở thời điểm đã cho sau liệu pháp ban đầu. Bệnh nhân trải qua sự giảm nhẹ hơn hoặc bệnh nhân có lớp lắng đọng protein tau vẫn duy trì không đổi hoặc thậm chí là tăng, nhưng ở mức độ thấp hơn so với được dự kiến khi không có liệu pháp miễn dịch (*ví dụ như*, như được suy luận từ nhóm đối chứng gồm các bệnh nhân không được sử dụng liệu pháp miễn dịch) có thể được phân loại là có đáp ứng tích cực nhưng dưới mức

tối ưu. Các bệnh nhân này có thể tùy ý là đối tượng để điều chỉnh phác đồ trong đó liệu và/hoặc tần suất sử dụng của một chất được gia tăng.

Ở một số bệnh nhân, lớp lắng đọng protein tau có thể gia tăng theo cách tương tự hoặc mạnh hơn so với lắng đọng tau ở bệnh nhân không nhận được liệu pháp miễn dịch. Nếu sự tăng này vẫn tiếp tục trong một khoảng thời gian, như 18 tháng hoặc 2 năm, thậm chí cả sau khi tăng tần suất hoặc liều hoạt chất bất kỳ, liệu pháp miễn dịch có thể, nếu muốn, được dừng lại để thay thế bằng các phương pháp điều trị khác.

Phần mô tả trên đây về việc chẩn đoán, theo dõi và điều chỉnh việc điều trị các bệnh gây ra bởi protein tau đã được tập trung nhiều vào việc sử dụng kỹ thuật quét PET. Tuy nhiên, kỹ thuật khác bất kỳ để quan sát và/hoặc đo lớp lắng đọng protein tau mà thích hợp với việc sử dụng các kháng thể tau theo sáng chế (ví dụ như, kháng thể 3D6 của chuột, được làm tương thích với người, khảm hoặc được ngưng trang) có thể được sử dụng thay cho kỹ thuật quét PET để thực hiện các phương pháp này.

Cũng được đề xuất là các phương pháp phát hiện đáp ứng miễn dịch kháng tau ở bệnh nhân mắc bệnh hoặc dễ nhiễm bệnh liên quan đến tau. Các phương pháp này có thể được sử dụng để theo dõi liệu trình điều trị phòng ngừa và chữa bệnh bằng các chất được đề xuất ở đây. Biên dạng kháng thể sau khi gây miễn dịch thụ động thường thể hiện đỉnh tức thời của nồng độ kháng thể sau đó giảm theo hàm số mũ. Nếu không có liều bổ sung, sự suy giảm này đạt tới mức nồng độ trước điều trị trong khoảng vài ngày đến vài tháng tùy theo thời gian bán thải của kháng thể được sử dụng. Ví dụ, thời gian bán thải của một số kháng thể của người là khoảng 20 ngày.

Trong một số phương pháp, phép đo đường cơ sở của kháng thể với tau ở đối tượng này được thực hiện trước khi sử dụng, phép đo thứ hai được thực hiện ngay sau đó để xác định mức nồng độ kháng thể đỉnh, và một hoặc nhiều phép đo khác được thực hiện cách quãng để theo dõi sự giảm nồng độ kháng thể. Khi mức nồng độ kháng thể đã giảm đến đường cơ sở hoặc tỷ lệ phần trăm xác định trước của đỉnh trừ đi đường cơ sở (ví dụ như, 50%, 25% hoặc 10%), việc sử dụng liều kháng thể khác được thực hiện. Trong một số phương pháp, đỉnh hoặc các mức nồng độ đo được tiếp theo trừ nền được so sánh với các mức nồng độ tham chiếu được xác định trước đó để thiết lập phác đồ điều trị phòng ngừa hoặc chữa bệnh có lợi ở các đối tượng khác. Nếu mức nồng độ kháng thể đo được là thấp hơn đáng kể so với mức nồng độ tham chiếu (ví dụ như, thấp hơn so với giá trị trung bình

trừ một hoặc tốt hơn, nếu hai độ lệch chuẩn của giá trị tham chiếu trong quần thể bao gồm các đối tượng được lợi từ phương pháp điều trị) việc sử dụng một liều kháng thể bổ sung được chỉ định.

Cũng được đề xuất là các phương pháp phát hiện tau ở đối tượng, ví dụ, bằng cách đo tau trong mẫu từ đối tượng hoặc bằng cách chụp ảnh *in vivo* tau ở đối tượng. Các phương pháp này là hữu ích để chẩn đoán hoặc xác nhận chẩn đoán các bệnh gây ra bởi tau, hoặc khả năng bị mắc bệnh này. Các phương pháp này cũng có thể được sử dụng trên các đối tượng không có triệu chứng. Sự có mặt của tau chỉ ra khả năng dễ bị mắc bệnh có triệu chứng trong tương lai. Các phương pháp này cũng là hữu ích để theo dõi sự tiến triển của bệnh và/hoặc đáp ứng với việc điều trị ở các đối tượng đã được chẩn đoán trước đó là mắc bệnh Alzheimer, hội chứng Down, suy giảm nhận thức nhẹ, bệnh do protein tau liên quan đến tuổi tác nguyên phát, bệnh Parkinson sau viêm não, chứng sa sút trí tuệ sau chấn thương hoặc sa sút trí tuệ do chấn thương não, bệnh Pick, bệnh Niemann-Pick typ C, bệnh liệt trên nhân, bệnh sa sút trí tuệ trán thái dương, bệnh thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh hạt ưa bạc, bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu, phức hợp bệnh xơ cứng teo cơ một bên/bệnh sa sút trí tuệ do parkinson của Guam, bệnh thoái hóa vỏ não và hạch nền (CBD), chứng sa sút trí tuệ với các thể Lewy, biến thể thể Lewy của bệnh Alzheimer (LBVAD), chứng chấn thương não mãn tính (CTE), bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu (GGT), hoặc bệnh liệt trên nhân tiến triển (PSP).

Các mẫu sinh học thu được từ đối tượng mắc, bị nghi ngờ mắc, hoặc nguy cơ mắc bệnh Alzheimer, hội chứng Down, suy giảm nhận thức nhẹ, bệnh do protein tau liên quan đến tuổi tác nguyên phát, bệnh Parkinson sau viêm não, chứng sa sút trí tuệ sau chấn thương hoặc sa sút trí tuệ do chấn thương não, bệnh Pick, bệnh Niemann-Pick typ C, bệnh liệt trên nhân, bệnh sa sút trí tuệ trán thái dương, bệnh thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh hạt ưa bạc, bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu, phức hợp bệnh xơ cứng teo cơ một bên/bệnh sa sút trí tuệ do parkinson của Guam, bệnh thoái hóa vỏ não và hạch nền (CBD), chứng sa sút trí tuệ với các thể Lewy, biến thể thể Lewy của bệnh Alzheimer (LBVAD), chứng chấn thương não mãn tính (CTE), bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu (GGT), hoặc bệnh liệt trên nhân tiến triển (PSP) có thể được cho tiếp xúc với các kháng thể được mô tả ở đây để đánh giá sự có mặt của tau. Ví dụ, các mức tau ở các đối tượng này có thể được so sánh với mức thể hiện ở đối tượng khỏe mạnh. Ngoài ra, các mức nồng độ tau ở đối tượng nhận được điều trị cho bệnh này có thể được so sánh với mức nồng độ tau của đối tượng không

được điều trị cho bệnh Alzheimer, hội chứng Down, suy giảm nhận thức nhẹ, bệnh do protein tau liên quan đến tuổi tác nguyên phát, bệnh Parkinson sau viêm não, chứng sa sút trí tuệ sau chấn thương hoặc sa sút trí tuệ do chấn thương não, bệnh Pick, bệnh Niemann-Pick typ C, bệnh liệt trên nhân, bệnh sa sút trí tuệ trán thái dương, bệnh thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh hạt ura bạc, bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu, phức hợp bệnh xơ cứng teo cơ một bên/bệnh sa sút trí tuệ do parkinson của Guam, bệnh thoái hóa vỏ não và hạch nền (CBD), chứng sa sút trí tuệ với các thể Lewy, biến thể thể Lewy của bệnh Alzheimer (LBVAD), chứng chấn thương não mãn tính (CTE), bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu (GGT), hoặc bệnh liệt trên nhân tiến triển (PSP). Một số thử nghiệm này bao gồm sinh thiết mô thu được từ các đối tượng này. Các thử nghiệm ELISA cũng có thể là các phương pháp hữu ích, ví dụ, để đánh giá tau trong mẫu lỏng.

VII. Bộ Kit

Sáng chế còn đề xuất bộ kit (*ví dụ như*, vật chứa) chứa kháng thể được mô tả ở đây và các nguyên liệu liên quan, chẳng hạn như các hướng dẫn sử dụng (*ví dụ như*, vật gói bao gói). Các hướng dẫn sử dụng có thể bao gồm, ví dụ, hướng dẫn để sử dụng kháng thể và tùy ý một hoặc nhiều chất bổ sung. Các vật chứa chứa kháng thể có thể là các liều đơn vị, các gói gộp (*ví dụ như*, gói nhiều liều), hoặc các liều dưới đơn vị.

Vật gói bao gói dùng để chỉ hướng dẫn sử dụng thường nằm trong các gói thương mại của dược phẩm mà chứa thông tin về các chỉ định, cách sử dụng, liều, đường sử dụng, chống chỉ định và/hoặc các khuyến cáo liên quan đến việc sử dụng các dược phẩm này.

Bộ kit có thể còn bao gồm vật chứa thứ hai chứa dung dịch đệm được dụng, như nước kim khuẩn dùng để tiêm (BWFI), nước muối được đệm phosphat, dung dịch Ringer và dung dịch dextroza. Nó cũng có thể chứa các nguyên liệu khác được mong muốn theo quan điểm thương mại và bởi người sử dụng, bao gồm các dung dịch đệm khác, chất pha loãng, bộ lọc, kim tiêm và xylanh.

VIII. Các ứng dụng khác

Các kháng thể có thể được sử dụng để phát hiện tau hoặc các đoạn của nó, trong trường hợp chẩn đoán hoặc điều trị lâm sàng hoặc trong nghiên cứu. Ví dụ, các kháng thể này có thể được sử dụng để phát hiện sự có mặt của tau trong mẫu sinh học như là dấu hiệu chỉ ra rằng mẫu sinh học này chứa lắng đọng tau. Sự liên kết của các kháng thể này với mẫu sinh học có thể được so sánh với khả năng liên kết của các kháng thể với mẫu đối

chúng. Mẫu đối chứng này và mẫu sinh học này có thể chứa các tế bào có cùng nguồn gốc mô. Các mẫu đối chứng và các mẫu sinh học có thể thu được từ cùng một cá thể hoặc nhiều cá thể khác nhau và tại cùng một thời điểm hoặc vào nhiều thời điểm khác nhau. Nếu muốn, nhiều mẫu sinh học và nhiều mẫu đối chứng được đánh giá vào nhiều thời điểm để bảo vệ chống lại sự biến đổi ngẫu nhiên không phụ thuộc vào sự khác biệt giữa các mẫu này. Sau đó so sánh trực tiếp có thể được thực hiện giữa (các) mẫu sinh học và (các) mẫu đối chứng này để xác định sự liên kết của kháng thể (*tức là*, sự có mặt của tau) với (các) mẫu sinh học được gia tăng, giảm đi hay giữ nguyên so với sự liên kết của kháng thể với (các) mẫu đối chứng. Sự liên kết của kháng thể với (các) mẫu sinh học tăng lên so với (các) mẫu đối chứng chỉ ra sự có mặt của tau trong (các) mẫu sinh học này. Trong một số trường hợp, sự liên kết của kháng thể tăng có ý nghĩa thống kê. Tùy ý, sự liên kết của kháng thể với mẫu sinh học cao hơn ít nhất là 1,5 lần, 2 lần, 3 lần, 4 lần, 5 lần, 10 lần, 20 lần, hoặc 100 lần so với sự liên kết của kháng thể này với mẫu đối chứng.

Ngoài ra, các kháng thể này có thể được sử dụng để phát hiện sự có mặt của tau trong mẫu sinh học để theo dõi và đánh giá hiệu quả của dược chất đang được sử dụng để điều trị cho bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh Alzheimer, hội chứng Down, suy giảm nhận thức nhẹ, bệnh do protein tau liên quan đến tuổi tác nguyên phát, bệnh Parkinson sau viêm não, chứng sa sút trí tuệ sau chấn thương hoặc sa sút trí tuệ do chấn thương não, bệnh Pick, bệnh Niemann-Pick typ C, bệnh liệt trên nhân, bệnh sa sút trí tuệ trán thái dương, bệnh thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh hạt ưa bạc, bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu, phức hợp bệnh xơ cứng teo cơ một bên/bệnh sa sút trí tuệ do parkinson của Guam, bệnh thoái hóa vỏ não và hạch nền (CBD), chứng sa sút trí tuệ với các thể Lewy, biến thể thể Lewy của bệnh Alzheimer (LBVAD), chứng chấn thương não mãn tính (CTE), bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu (GGT), hoặc bệnh liệt trên nhân tiến triển (PSP). Mẫu sinh học từ bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh Alzheimer, hội chứng Down, suy giảm nhận thức nhẹ, bệnh do protein tau liên quan đến tuổi tác nguyên phát, bệnh Parkinson sau viêm não, chứng sa sút trí tuệ sau chấn thương hoặc sa sút trí tuệ do chấn thương não, bệnh Pick, bệnh Niemann-Pick typ C, bệnh liệt trên nhân, bệnh sa sút trí tuệ trán thái dương, bệnh thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh hạt ưa bạc, bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu, phức hợp bệnh xơ cứng teo cơ một bên/bệnh sa sút trí tuệ do parkinson của Guam, bệnh thoái hóa vỏ não và hạch nền (CBD), chứng sa sút trí tuệ với các thể Lewy, biến thể thể Lewy của bệnh Alzheimer (LBVAD), chứng chấn thương não mãn tính (CTE), bệnh do tau thần

kinh đệm hình cầu (GGT), hoặc bệnh liệt trên nhân tiến triển (PSP) được đánh giá để xây dựng đường cơ sở cho sự liên kết của kháng thể với mẫu này (*tức là*, đường cơ sở về sự có mặt của tau trong mẫu này) trước khi bắt đầu liệu pháp với dược chất. Trong một số trường hợp, nhiều mẫu sinh học của bệnh nhân được đánh giá tại nhiều thời điểm để xây dựng cả đường cơ sở và đo biến đổi ngẫu nhiên không phụ thuộc vào điều trị. Sau đó một dược chất được sử dụng theo phác đồ. Phác đồ này có thể bao gồm nhiều lần sử dụng dược chất này trong một khoảng thời gian. Một cách tùy ý, sự liên kết của kháng thể (*tức là*, sự có mặt của tau) được đánh giá vào nhiều thời điểm trong nhiều mẫu sinh học của bệnh nhân, để xây dựng phép đo biến đổi ngẫu nhiên và thể hiện xu hướng đáp ứng với liệu pháp miễn dịch. Sau đó nhiều đánh giá khác nhau về khả năng liên kết của kháng thể với mẫu sinh học được so sánh. Nếu chỉ có hai đánh giá được thực hiện, việc so sánh trực tiếp có thể được thực hiện giữa hai đánh giá này để xác định sự liên kết của kháng thể (*tức là*, sự có mặt của tau) đã tăng, giảm hay giữ nguyên giữa hai đánh giá này. Nếu nhiều hơn hai phép đo được thực hiện, các phép đo này có thể được phân tích theo dòng thời gian bắt đầu từ trước khi điều trị bằng dược chất và tiếp tục xuyên suốt thời gian điều trị. Ở các bệnh nhân mà sự liên kết kháng thể với mẫu sinh học giảm (*tức là*, sự có mặt của tau), có thể kết luận là dược chất là hiệu quả trong việc điều trị bệnh Alzheimer, hội chứng Down, suy giảm nhận thức nhẹ, bệnh do protein tau liên quan đến tuổi tác nguyên phát, bệnh Parkinson sau viêm não, chứng sa sút trí tuệ sau chấn thương hoặc sa sút trí tuệ do chấn thương não, bệnh Pick, bệnh Niemann-Pick typ C, bệnh liệt trên nhân, bệnh sa sút trí tuệ trán thái dương, bệnh thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh hạt ưa bạc, bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu, phức hợp bệnh xơ cứng teo cơ một bên/bệnh sa sút trí tuệ do parkinson của Guam, bệnh thoái hóa vỏ não và hạch nền (CBD), chứng sa sút trí tuệ với các thể Lewy, biến thể thể Lewy của bệnh Alzheimer (LBVAD), chứng chấn thương não mãn tính (CTE), bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu (GGT), hoặc bệnh liệt trên nhân tiến triển (PSP) ở bệnh nhân. Sự giảm liên kết của kháng thể có thể có ý nghĩa thống kê. Một cách tùy ý, sự liên kết giảm ít nhất là 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, hoặc 100%. Đánh giá sự liên kết kháng thể có thể được thực hiện kết hợp với đánh giá các dấu hiệu và triệu chứng khác của bệnh Alzheimer, hội chứng Down, suy giảm nhận thức nhẹ, bệnh do protein tau liên quan đến tuổi tác nguyên phát, bệnh Parkinson sau viêm não, chứng sa sút trí tuệ sau chấn thương hoặc sa sút trí tuệ do chấn thương não, bệnh Pick, bệnh Niemann-Pick typ C, bệnh liệt trên nhân, bệnh sa sút trí tuệ trán thái dương, bệnh

thoái hóa thùy trán thái dương, bệnh hạt ưa bạc, bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu, phức hợp bệnh xơ cứng teo cơ một bên/bệnh sa sút trí tuệ do parkinson của Guam, bệnh thoái hóa vỏ não và hạch nền (CBD), chứng sa sút trí tuệ với các thể Lewy, biến thể thể Lewy của bệnh Alzheimer (LBVAD), chứng chấn thương não mãn tính (CTE), bệnh do tau thần kinh đệm hình cầu (GGT), hoặc bệnh liệt trên nhân tiền triển (PSP).

Các kháng thể này cũng có thể được sử dụng làm thuốc thử nghiên cứu cho nghiên cứu trong phòng thí nghiệm để phát hiện tau, hoặc các đoạn của nó. Trong các ứng dụng này, các kháng thể có thể được gắn nhãn bằng các phân tử huỳnh quang, các phân tử được gắn nhãn spin, enzym, hoặc các đồng vị phóng xạ, và có thể được cung cấp dưới dạng kit với tất cả các thuốc thử cần thiết để thực hiện thử nghiệm phát hiện. Các kháng thể này cũng có thể được sử dụng để tinh chế tau, hoặc các đối tác liên kết của tau, *ví dụ như*, bằng sắc ký ái lực.

Tất cả các patent lưu trữ, các website, các công bố khác, các số truy cập và các tài liệu tương tự được trích dẫn trên đây hoặc dưới đây được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ cho tất cả các mục đích ở mức độ giống như thể từng tài liệu này được chỉ ra cụ thể và riêng biệt để được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Nếu nhiều dạng khác nhau của một trình tự đi kèm theo một số truy cập ở nhiều thời điểm khác nhau, dạng đi kèm theo số truy cập này tại ngày nộp đơn hiệu lực được dự định. Ngày nộp đơn hiệu lực nghĩa là ngày trước ngày nộp đơn thực sự hoặc ngày nộp đơn ưu tiên viện dẫn đến số truy cập này nếu áp dụng được. Tương tự, nếu nhiều bản khác nhau của một công bố, website hoặc tương tự được công bố ở nhiều thời điểm khác nhau, bản được công bố gần nhất vào ngày nộp đơn hiệu lực của đơn này được dự định, trừ khi có quy định khác. Dấu hiệu, bước, yếu tố, phương án hoặc khía cạnh bất kỳ của sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với dấu hiệu, bước, yếu tố, phương án hoặc khía cạnh bất kỳ khác, trừ khi có quy định khác. Mặc dù sáng chế đã được mô tả chi tiết bằng cách minh họa và lấy ví dụ nhằm mục đích rõ ràng và dễ hiểu, rõ ràng là một số thay đổi và cải biến có thể được thực hiện trong phạm vi của yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1. Xác định các kháng thể đơn dòng tau

Các kháng thể đơn dòng kháng tau được tạo ra như sau. Các lần gây miễn dịch được thực hiện với tau người 383 a.a. có gắn đuôi His đầu cùng N tái tổ hợp (4R0N), chứa đột

biến P301S [chất gây miễn dịch A] hoặc tau người 383 a.a. tái tổ hợp (4R0N), chứa đột biến P301S, thiếu đuôi His đầu cùng N [chất gây miễn dịch B]. Các chất gây miễn dịch được nhũ hóa trong tá dược RIBI.

Chuột Balb/c cái năm tuần tuổi được gây miễn dịch trong màng bụng bằng 25µg chất gây miễn dịch A vào ngày 0, và 10µg chất gây miễn dịch A vào mỗi ngày thứ 7, 14, 21, 27, 34, 48, 55, và 62. Chuột được gây miễn dịch bằng 10µg chất gây miễn dịch B vào các ngày 76 và 90. Vào các ngày 43 và 98, chuột được lấy máu và được đo hiệu giá kháng chất gây miễn dịch A; vào ngày 101 các con vật có hiệu giá cao nhất được tăng cường với liều gây miễn dịch cuối cùng là 50µg chất gây miễn dịch B, được phân phối $\frac{1}{2}$ trong màng bụng và $\frac{1}{2}$ trong tĩnh mạch. Các tế bào lai đã dung hợp được sàng lọc bằng ELISA dựa trên cả hai chất gây miễn dịch, và các tế bào dương tính với tín hiệu cao nhất được lập bản đồ epitop (xem Ví dụ 2). 3D6 phản ứng với các peptit tương ứng với các gốc axit amin 199-213 nêu trong SEQ ID NO:3 và với các gốc axit amin 262-276 nêu trong SEQ ID NO:3 (theo cách đánh số đồng dạng CNS dài nhất của tau, đồng dạng này tương ứng với các gốc axit amin 257-271 nêu trong SEQ ID NO:1 và với các gốc axit amin 320-334 nêu trong SEQ ID NO:1).

Ví dụ 2. Lập bản đồ epitop của kháng thể 3D6

Khoảng gồm các peptit được biotinyl hóa gộp lên nhau kéo dài toàn bộ protein tau người 383aa 4R0N được sử dụng để lập bản đồ kháng thể 3D6 của chuột. Các peptit bổ sung được sử dụng để tạo mô hình các cải biến sau dịch mã tiềm tàng của các đầu cùng C và N của protein này.

Các peptit được biotinyl hóa được liên kết với các giếng riêng biệt của đĩa ELISA được phủ streptavidin. Các đĩa được phong bế và được xử lý bằng 3D6 chuột, sau đó ủ với kháng thể kháng chuột được liên hợp với peroxidaza cây cải ngựa. Sau khi rửa kỹ, OPD được phủ lên đĩa này và được để cho phát triển. Đĩa được đọc ở độ hấp thụ 450nm. Việc trừ nền được thực hiện với các trị số độ hấp thụ từ các giếng không chứa kháng thể sơ cấp, và ngưỡng đối với liên kết dương được đặt bằng 0,2 đơn vị hấp thụ. Liên kết dương được phát hiện cho các gốc axit amin kéo dài peptit 199-213 (nêu trong SEQ ID NO:3), và các gốc axit amin 262-276 (nêu trong SEQ ID NO:3). Bằng cách sử dụng cách đánh số protein tau người 4R2N có chiều dài đầy đủ (441 axit amin) các peptit này tương ứng với các gốc

axit amin 257-271 (nêu trong SEQ ID NO:1) và 320-334 (nêu trong SEQ ID NO:1). (Hình 1)

Ví dụ 3. Thiết kế các kháng thể 3D6 được làm tương thích với người

Điểm khởi đầu hoặc kháng thể cho để làm tương thích với người là kháng thể chuột 3D6. Trình tự axit amin biến đổi chuỗi nặng của m3D6 trưởng thành được nêu dưới dạng SEQ ID NO:7. Trình tự axit amin biến đổi chuỗi nhẹ của m3D6 trưởng thành được nêu dưới dạng SEQ ID NO:11. Trình tự axit amin CDR1, CDR2, và CDR3 tổ hợp Kabat/Chothia chuỗi nặng được nêu dưới dạng lần lượt là SEQ ID NO:8-10. Trình tự axit amin CDR1, CDR2, và CDR3 Kabat chuỗi nhẹ được nêu dưới dạng lần lượt là SEQ ID NO:12-14. Cách đánh số Kabat được sử dụng trong toàn bộ phần này.

Kapa biến đổi (Vk) của 3D6 thuộc phân nhóm 2 Kabat chuột mà tương ứng với phân nhóm 2 Kabat người và chuỗi nặng biến đổi (Vh) thuộc phân nhóm 2c Kabat chuột mà tương ứng với phân nhóm 1 Kabat người [Kabat E.A., và đồng tác giả, (1991), Sequences of Proteins of Immunological Interest, tái bản lần thứ 5. NIH Publication No. 91-3242]. CDR-L1 Chothia 16 gốc thuộc lớp chính tắc 4, CDR-L2 Chothia 7 gốc thuộc lớp 1, CDR-L3 Chothia 9 gốc thuộc lớp 1 trong Vk [Martin A.C, và Thornton J.M. (1996) J. Mol. Biol. 263:800-15. [Martin & Thornton, 1996]. CDR-H1 Chothia 10 gốc thuộc lớp 1, CDR-H2 Chothia 17 gốc thuộc lớp 2 [Martin & Thornton, 1996]]. CDR-H3 không có lớp chính tắc. Một nghiên cứu được thực hiện trên các trình tự protein trong cơ sở dữ liệu PDB [Deshpande N, và đồng tác giả, (2005) Nucleic Acids Res. 33: D233-7.] để tìm ra các cấu trúc sẽ cung cấp mô hình cấu trúc thô của 3D6. Để xây dựng mô hình Fv của 3D6, cấu trúc của kháng thể kháng pyroglutamat-Abeta chuột Fab c#24 (mã pdb 5MYX) [Piechotta, A. và đồng tác giả, 2017, J Biol Chem. 292: 12713–12724] có độ phân giải 1,4 Å được sử dụng. Nó giữ lại cấu trúc chính tắc cho các vòng này giống như 3D6.

Các vùng khung của VH 3D6 có chung độ tương tự trình tự cao với các vùng tương ứng của Fab 48G7 được làm tương thích với người PDB: 2RCS, ký hiệu bởi Wedemayer, G. J., và đồng tác giả (1997; Science 276: 1665-1669). Miền biến đổi của 3D6 và Fab 48G7 cũng có chiều dài giống nhau đối với các vòng CDR-H1, H2. Tương tự, các vùng khung của VL 3D6 có chung độ tương tự trình tự cao với các vùng tương ứng của kháng thể người VL ARX71335, được tách dòng bởi Dafferner, A. J., và đồng tác giả (2017; Direct Submission). Miền biến đổi chuỗi nhẹ của 3D6 và kháng thể ARX71335 cũng có chiều dài

giống nhau đối với các vòng CDR-L1, L2 và L3. Theo đó, các vùng khung của VH 48G7 (2RCS-VH) và VL ARX71335 được chọn làm trình tự nhận đối với các CDR của 3D6. Mô hình của các CDR 3D6 ghép trên các vùng khung người tương ứng đối với VH và VL được xây dựng và dùng làm đoạn dẫn cho các đột biến ngược khác.

Các trình tự biến đổi chuỗi nặng và nhẹ thu được từ quá trình làm tương thích kháng thể với người được sắp xếp thẳng hàng tiếp với các trình tự dòng mầm của người bằng cách sử dụng công cụ IMGT Domain GapAlign để đánh giá tính chất người của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ như được chỉ ra bởi hướng dẫn của hội đồng INN WHO. (WHO-INN: International nonproprietary names (INN) for biological và biotechnological substances (a review) (Internet) 2014. Có trên: <http://www.who.int/medicines/services/inn/BioRev2014.pdf>). Các gốc được thay đổi để bắt cặp với trình tự dòng mầm của người tương ứng, nếu có thể, để làm tăng tính chất người và làm giảm khả năng gây miễn dịch tiềm năng. Đối với các biến thể VLvb2 và VLvb3 được làm tương thích với người, các đột biến được đưa vào để làm cho các trình tự tương tự hơn với gen dòng mầm người IGKV2-30*02 (SEQ ID NO:27). Đối với các biến thể VHvb2, VHvb3, VHvb4, VHvb5, VHvb6, và VHvb6 được làm tương thích với người, các đột biến được đưa vào để làm cho các trình tự tương tự hơn với gen dòng mầm người IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25)

Các phiên bản của hu3D6-VH và hu3D6-VL được thiết kế để có thể đánh giá các gốc vùng khung khác nhau về đóng góp của chúng cho sự liên kết kháng nguyên, độ ổn định nhiệt, và khả năng gây miễn dịch, và để tối ưu hóa sự glycosyl hóa, sự kết tụ, tính không đồng nhất đầu cùng N, độ ổn định nhiệt, miêng tích điện bộc lộ bề mặt, miêng tích điện bộc lộ bề mặt, sự khử amin, và tính nhạy proteinaza. Các vị trí được xem xét để đột biến bao gồm các vị trí mà:

- xác định cấu hình CDR chính tắc (được tóm tắt trong Martin, A.C.R. (2010) Protein sequence and structure analysis of antibody variable domains. In: Kontermann R và Dübel S (eds). *Antibody Engineering*. Heidelberg, Germany: Springer International Publishing AG.),
- ở trong khu vực Vecnê (Foote J và Winter G. (1992) Antibody framework residue affecting the conformation of the hypervariable loops. *J Mol Biol.* 224(2):487-99.),

- khu trú ở mặt phân cách miền VH/VL (được tóm tắt trong Léger OJP và Saldanha J. (2000) Preparation of recombinant antibodies from immune rodent spleens and the design of their humanisation by CDR grafting. In: Shepherd P và Dean C (eds). *Monoclonal Antibodies: a Practical Approach*. Oxford, UK: Oxford University Press.),
- nhạy với sự cải biến sau dịch mã, chẳng hạn như sự glycosyl hóa hoặc sự pyroglutamin hóa,
- được chiếm bởi các gốc mà được dự đoán là va chạm với các CDR, theo mô hình của các CDR 3D6 ghép trên các vùng khung VH và VL, hoặc
- được chiếm bởi các gốc mà hiếm gặp trong số kháng thể người được xác định trình tự, trong đó gốc 3D6 chuột nhất ban đầu hoặc một số gốc khác phổ biến hơn nhiều ở trong kho kháng thể người.

Sự sắp xếp thẳng hàng của kháng thể 3D6 chuột và các kháng thể được làm tương thích với người khác nhau được thể hiện đối với các vùng biến đổi chuỗi nhẹ (Bảng 4 và Hình 3), và các vùng biến đổi chuỗi nặng (Bảng 3 và Hình 2).

7 biến thể vùng biến đổi chuỗi nặng được làm tương thích với người và 3 biến thể vùng biến đổi chuỗi nhẹ được làm tương thích với người được tạo cấu trúc chứa các hoán vị khác nhau của sự thể: hu3D6VHvb1, hu3D6VHvb2, hu3D6VHvb3, hu3D6VHvb4, hu3D6Hvb5, hu3D6VHvb6, hoặc hu3D6VHvb7 (lần lượt là các SEQ ID NO:76-80 và 90-91); và hu3D6VLvb1, hu3D6VLvb2, hoặc hu3D6VLvb3 (lần lượt là các SEQ ID NO:83-85) (Bảng 3 và Bảng 4). Các thiết kế Vk và Vh được làm tương thích với người ví dụ, với đột biến ngược và các đột biến khác dựa trên các vùng khung người được chọn, được thể hiện lần lượt trong Bảng 3 và Bảng 4. Các khu vực in đậm trong Bảng 3 và Bảng 4 chỉ ra các CDR như định nghĩa bởi Tổ hợp Kabat/Chothia. Các SEQ ID NO:76-80 và các SEQ ID NO:90-91 chứa đột biến ngược và các đột biến khác như thể hiện trong Bảng 5. Các axit amin tại các vị trí trong hu3D6VHvb1, hu3D6VHvb2, hu3D6VHvb3, hu3D6VHvb4, hu3D6VHvb5, hu3D6VHvb6, và hu3D6VHvb7 được liệt kê trong Bảng 6. Các axit amin tại các vị trí trong hu3D6VLvb1, hu3D6VLvb2, và hu3D6VLvb3 được liệt kê trong Bảng 7.

Bảng 3

Gốc Kabat #	Gốc tuyến tính #	FR hoặc CDR	3D6 VH chuột nhắt (SEQ ID NO:7)	IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25)	2RCS-VH_huFrwk (SEQ ID NO:75)	Hu3D6 VHvb1 (SEQ ID NO:76)	Hu3D6 VHvb2 (SEQ ID NO:77)	Hu3D6 VHvb3 (SEQ ID NO:78)	Hu3D6 VHvb4 (SEQ ID NO:79)	Hu3D6 VHvb5 (SEQ ID NO:80)	Hu3D6 VHvb6 (SEQ ID NO:90)	Hu3D6 VHvb7 (SEQ ID NO:91)
1	1	Fr1	E	E	Q	Q	E	E	E	E	E	E
2	2	Fr1	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
3	3	Fr1	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q
4	4	Fr1	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
5	5	Fr1	Q	V	Q	Q	V	V	V	V	V	V
6	6	Fr1	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q
7	7	Fr1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
8	8	Fr1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
9	9	Fr1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
10	10	Fr1	D	E	E	E	E	E	E	E	E	E
11	11	Fr1	L	V	L	L	V	V	V	V	V	V
12	12	Fr1	V	K	V	V	V	V	V	V	V	V
13	13	Fr1	R	K	K	K	K	K	K	K	K	K
14	14	Fr1	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
15	15	Fr1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
16	16	Fr1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
17	17	Fr1	L	T	S	S	S	T	T	T	T	T
18	18	Fr1	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
19	19	Fr1	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
20	20	Fr1	L	I	L	L	I	I	I	I	I	I
21	21	Fr1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
22	22	Fr1	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
23	23	Fr1	K	K	T	T	K	K	K	K	K	K
24	24	Fr1	A	V	A	A	A	A	A	A	A	A

Gốc Kabat #	Gốc tuyến tính #	FR hoặc CDR	3D6 VH chuột nhắt (SEQ ID NO:7)	IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25)	2RCS-VH_huFrwk (SEQ ID NO:75)	Hu3D6 VHvb1 (SEQ ID NO:76)	Hu3D6 VHvb2 (SEQ ID NO:77)	Hu3D6 VHvb3 (SEQ ID NO:78)	Hu3D6 VHvb4 (SEQ ID NO:79)	Hu3D6 VHvb5 (SEQ ID NO:80)	Hu3D6 VHvb6 (SEQ ID NO:90)	Hu3D6 VHvb7 (SEQ ID NO:91)
25	25	Fr1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
26	26	CDR-H1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
27	27	CDR-H1	F	Y	F	F	F	F	F	F	F	F
28	28	CDR-H1	N	T	N	N	N	N	T	T	T	T
29	29	CDR-H1	I	F	I	I	I	I	I	I	I	I
30	30	CDR-H1	K	T	K	K	K	K	K	K	K	K
31	31	CDR-H1	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
32	32	CDR-H1	Y	Y	T	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
33	33	CDR-H1	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
34	34	CDR-H1	L	M	M	L	L	L	L	L	L	L
35	35	CDR-H1	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
35A		CDR-H1	-		-	-	-	-	-	-	-	-
35B		CDR-H1	-		-	-	-	-	-	-	-	-
36	36	Fr2	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W
37	37	Fr2	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
38	38	Fr2	R	Q	K	K	R	R	R	R	R	R
39	39	Fr2	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q
40	40	Fr2	R	A	R	R	R	R	R	R	R	R
41	41	Fr2	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
42	42	Fr2	E	G	E	E	G	G	G	G	G	G
43	43	Fr2	Q	K	Q	Q	K	K	K	K	K	K

Gốc Kabat #	Gốc tuyến tính #	FR hoặc CDR	3D6 VH chuột nhất (SEQ ID NO:7)	IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25)	2RCS-VH_huFrvk (SEQ ID NO:75)	Hu3D6 VHvb1 (SEQ ID NO:76)	Hu3D6 VHvb2 (SEQ ID NO:77)	Hu3D6 VHvb3 (SEQ ID NO:78)	Hu3D6 VHvb4 (SEQ ID NO:79)	Hu3D6 VHvb5 (SEQ ID NO:80)	Hu3D6 VHvb6 (SEQ ID NO:90)	Hu3D6 VHvb7 (SEQ ID NO:91)
44	44	Fr2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
45	45	Fr2	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
46	46	Fr2	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
47	47	Fr2	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W
48	48	Fr2	I	M	I	I	I	I	I	I	I	I
49	49	Fr2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
50	50	CDR-H2	W	L	R	W	W	W	W	W	W	W
51	51	CDR-H2	I	V	I	I	I	I	I	I	I	I
52	52	CDR-H2	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
52A	53	CDR-H2	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P
52B		CDR-H2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52C		CDR-H2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
53	54	CDR-H2	E	E	A	E	E	E	E	E	E	E
54	55	CDR-H2	N	D	N	N	N	N	N	D	D	D
55	56	CDR-H2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
56	57	CDR-H2	D	E	N	D	D	D	D	E	E	E
57	58	CDR-H2	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
58	59	CDR-H2	V	I	K	V	V	I	I	I	V	V
59	60	CDR-H2	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
60	61	CDR-H2	D	A	D	D	D	D	D	D	D	D

Gốc Kabat #	Gốc tuyến tính #	FR hoặc CDR	3D6 VH chuột nhắt (SEQ ID NO:7)	IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25)	2RCS-VH_huFrwk (SEQ ID NO:75)	Hu3D6 VHvb1 (SEQ ID NO:76)	Hu3D6 VHvb2 (SEQ ID NO:77)	Hu3D6 VHvb3 (SEQ ID NO:78)	Hu3D6 VHvb4 (SEQ ID NO:79)	Hu3D6 VHvb5 (SEQ ID NO:80)	Hu3D6 VHvb6 (SEQ ID NO:90)	Hu3D6 VHvb7 (SEQ ID NO:91)
61	62	CDR-H2	P	E	P	P	P	P	P	P	P	P
62	63	CDR-H2	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
63	64	CDR-H2	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
64	65	CDR-H2	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q
65	66	CDR-H2	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
66	67	Fr3	K	R	K	K	R	R	R	R	R	R
67	68	Fr3	A	V	A	A	A	A	V	V	V	V
68	69	Fr3	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
69	70	Fr3	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
70	71	Fr3	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
71	72	Fr3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
72	73	Fr3	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
73	74	Fr3	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
74	75	Fr3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
75	76	Fr3	S	T	S	S	T	T	T	T	T	T
76	77	Fr3	N	D	N	N	D	D	D	D	D	D
77	78	Fr3	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
78	79	Fr3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
79	80	Fr3	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
80	81	Fr3	L	M	L	L	L	M	M	M	M	M
81	82	Fr3	Q	E	Q	Q	E	E	E	E	E	E
82	83	Fr3	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
82A	84	Fr3	G	S	S	S	S	S	S	S	S	S
82B	85	Fr3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Gốc Kabat #	Gốc tuyến tính #	FR hoặc CDR	3D6 VH chuột nhắt (SEQ ID NO:7)	IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25)	2RCS-VH_huFrwk (SEQ ID NO:75)	Hu3D6 VHvb1 (SEQ ID NO:76)	Hu3D6 VHvb2 (SEQ ID NO:77)	Hu3D6 VHvb3 (SEQ ID NO:78)	Hu3D6 VHvb4 (SEQ ID NO:79)	Hu3D6 VHvb5 (SEQ ID NO:80)	Hu3D6 VHvb6 (SEQ ID NO:90)	Hu3D6 VHvb7 (SEQ ID NO:91)
82C	86	Fr3	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
83	87	Fr3	T	R	T	T	T	R	R	R	R	R
84	88	Fr3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
85	89	Fr3	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
86	90	Fr3	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
87	91	Fr3	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
88	92	Fr3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
89	93	Fr3	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
90	94	Fr3	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
91	95	Fr3	F	Y	Y	F	F	Y	Y	Y	F	Y
92	96	Fr3	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
93	97	Fr3	S	A	A	S	S	S	S	S	S	S
94	98	Fr3	T	T	S	T	T	T	T	T	T	T
95	99	CDR-H3	L		Y	L	L	L	L	L	L	L
96		CDR-H3	-		Y	-	-	-	-	-	-	-
97		CDR-H3	-		G	-	-	-	-	-	-	-
98		CDR-H3	-		-	-	-	-	-	-	-	-
99		CDR-H3	-		-	-	-	-	-	-	-	-
100		CDR-H3	-		-	-	-	-	-	-	-	-
100A		CDR-H3	-		-	-	-	-	-	-	-	-
100B		CDR-H3	-		-	-	-	-	-	-	-	-
100C		CDR-H3	-		-	-	-	-	-	-	-	-

Gốc Kabat #	Gốc tuyến tính #	FR hoặc CDR	3D6 VH chuột nhất (SEQ ID NO:7)	IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25)	2RCS-VH_huFrwk (SEQ ID NO:75)	Hu3D6 VHvb1 (SEQ ID NO:76)	Hu3D6 VHvb2 (SEQ ID NO:77)	Hu3D6 VHvb3 (SEQ ID NO:78)	Hu3D6 VHvb4 (SEQ ID NO:79)	Hu3D6 VHvb5 (SEQ ID NO:80)	Hu3D6 VHvb6 (SEQ ID NO:90)	Hu3D6 VHvb7 (SEQ ID NO:91)
100D		CDR-H3	-		-	-	-	-	-	-	-	-
100E		CDR-H3	-		-	-	-	-	-	-	-	-
100F		CDR-H3	-		-	-	-	-	-	-	-	-
100G		CDR-H3	-		-	-	-	-	-	-	-	-
100H		CDR-H3	-			-	-	-	-	-	-	-
100I		CDR-H3	-			-	-	-	-	-	-	-
100J		CDR-H3	-			-	-	-	-	-	-	-
100K		CDR-H3	-			-	-	-	-	-	-	-
101	100	CDR-H3	D	Q	I	D	D	D	D	D	D	D
102	101	CDR-H3	F	H	Y	F	F	F	F	F	F	F
103	102	Fr4	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W
104	103	Fr4	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
105	104	Fr4	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q
106	105	Fr4	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
107	106	Fr4	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
108	107	Fr4	T	L	T	T	L	L	L	L	L	L
109	108	Fr4	L	V	L	L	V	V	V	V	V	V
110	109	Fr4	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
111	110	Fr4	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
112	111	Fr4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
113	112	Fr4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Bảng 4

Gốc Kabat #	Gốc tuyến tính #	FR hoặc CDR	VL 3D6 chuột nhắt (SEQ ID NO:11)	ARX71335-VL_huFrwk (SEQ ID NO:82)	IMGT#IGKV2-30*02 (SEQ ID NO:27)	Hu3D6VLvb1 (SEQ ID NO:83)	Hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84)	Hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85)
1	1	Fr1	D	D	D	D	D	D
2	2	Fr1	V	V	V	V	V	V
3	3	Fr1	V	V	V	V	V	V
4	4	Fr1	M	M	M	M	M	M
5	5	Fr1	T	T	T	T	T	T
6	6	Fr1	Q	Q	Q	Q	Q	Q
7	7	Fr1	T	T	S	T	S	S
8	8	Fr1	P	P	P	P	P	P
9	9	Fr1	L	L	L	L	L	L
10	10	Fr1	T	T	S	T	S	S
11	11	Fr1	L	L	L	L	L	L
12	12	Fr1	S	S	P	S	S	S
13	13	Fr1	V	V	V	V	V	V
14	14	Fr1	T	T	T	T	T	T
15	15	Fr1	I	I	L	I	L	L
16	16	Fr1	G	G	G	G	G	G
17	17	Fr1	Q	Q	Q	Q	Q	E
18	18	Fr1	P	P	P	P	P	P
19	19	Fr1	A	A	A	A	A	A
20	20	Fr1	S	S	S	S	S	S
21	21	Fr1	I	I	I	I	I	I
22	22	Fr1	S	S	S	S	S	S
23	23	Fr1	C	C	C	C	C	C
24	24	CDR-L1	K	K	R	K	K	R
25	25	CDR-L1	S	S	S	S	S	S
26	26	CDR-L1	S	S	S	S	S	S
27	27	CDR-L1	Q	Q	Q	Q	Q	Q

Gốc Kabat #	Gốc tuyến tính #	FR hoặc CDR	VL 3D6 chuột nhắt (SEQ ID NO:11)	ARX71335-VL_huFrwk (SEQ ID NO:82)	IMGT#IGKV2-30*02 (SEQ ID NO:27)	Hu3D6VLvb1 (SEQ ID NO:83)	Hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84)	Hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85)
27A	28	CDR-L1	S	S	S	S	S	S
27B	29	CDR-L1	L	L	L	L	L	L
27C	30	CDR-L1	L	L	V	L	L	L
27D	31	CDR-L1	D	Y	H	D	D	D
27E	32	CDR-L1	S	S	S	S	S	S
27F		CDR-L1	-					
28	33	CDR-L1	D	N	D	D	D	D
29	34	CDR-L1	G	G	G	G	G	G
30	35	CDR-L1	K	K	N	K	K	K
31	36	CDR-L1	T	T	T	T	T	T
32	37	CDR-L1	Y	Y	Y	Y	Y	Y
33	38	CDR-L1	L	L	L	L	L	L
34	39	CDR-L1	N	N	N	N	N	N
35	40	Fr2	W	W	W	W	W	W
36	41	Fr2	L	L	F	L	L	L
37	42	Fr2	L	L	Q	L	L	Q
38	43	Fr2	Q	Q	Q	Q	Q	Q
39	44	Fr2	R	R	R	R	R	R
40	45	Fr2	P	P	P	P	P	P
41	46	Fr2	G	G	G	G	G	G
42	47	Fr2	Q	Q	Q	Q	Q	Q
43	48	Fr2	S	S	S	S	S	S
44	49	Fr2	P	P	P	P	P	P
45	50	Fr2	K	K	R	K	K	R
46	51	Fr2	R	R	R	R	R	R
47	52	Fr2	L	L	L	L	L	L
48	53	Fr2	I	I	I	I	I	I

Gốc Kabat #	Gốc tuyến tính #	FR hoặc CDR	VL 3D6 chuột nhất (SEQ ID NO:11)	ARX71335-VL_huFrwk (SEQ ID NO:82)	IMGT#IGKV2-30*02 (SEQ ID NO:27)	Hu3D6VLvb1 (SEQ ID NO:83)	Hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84)	Hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85)
49	54	Fr2	Y	Y	Y	Y	Y	Y
50	55	CDR-L2	L	L	K	L	L	L
51	56	CDR-L2	V	V	V	V	V	V
52	57	CDR-L2	S	S	S	S	S	S
53	58	CDR-L2	K	K	N	K	K	K
54	59	CDR-L2	L	L	R	L	L	L
55	60	CDR-L2	D	D	D	D	D	D
56	61	CDR-L2	S	S	S	S	S	S
57	62	Fr3	G	G	G	G	G	G
58	63	Fr3	V	V	V	V	V	V
59	64	Fr3	P	P	P	P	P	P
60	65	Fr3	D	D	D	D	D	D
61	66	Fr3	R	R	R	R	R	R
62	67	Fr3	F	F	F	F	F	F
63	68	Fr3	T	S	S	S	S	S
64	69	Fr3	G	G	G	G	G	G
65	70	Fr3	S	S	S	S	S	S
66	71	Fr3	G	G	G	G	G	G
67	72	Fr3	S	S	S	S	S	S
68	73	Fr3	G	G	G	G	G	G
69	74	Fr3	T	T	T	T	T	T
70	75	Fr3	D	D	D	D	D	D
71	76	Fr3	F	F	F	F	F	F
72	77	Fr3	T	T	T	T	T	T
73	78	Fr3	L	L	L	L	L	L
74	79	Fr3	K	K	K	K	K	K
75	80	Fr3	I	I	I	I	I	I
76	81	Fr3	S	S	S	S	S	S

Gốc Kabat #	Gốc tuyến tính #	FR hoặc CDR	VL 3D6 chuột nhắt (SEQ ID NO:11)	ARX71335-VL_huFrwk (SEQ ID NO:82)	IMGT#IGKV2-30*02 (SEQ ID NO:27)	Hu3D6VLvb1 (SEQ ID NO:83)	Hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84)	Hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85)
77	82	Fr3	R	R	R	R	R	R
78	83	Fr3	V	V	V	V	V	V
79	84	Fr3	E	E	E	E	E	E
80	85	Fr3	A	A	A	A	A	A
81	86	Fr3	E	E	E	E	E	E
82	87	Fr3	D	D	D	D	D	D
83	88	Fr3	L	L	V	L	V	V
84	89	Fr3	G	G	G	G	G	G
85	90	Fr3	V	V	V	V	V	V
86	91	Fr3	Y	H	Y	H	Y	Y
87	92	Fr3	Y	Y	Y	Y	Y	Y
88	93	Fr3	C	C	C	C	C	C
89	94	CDR-L3	W	E	M	W	W	W
90	95	CDR-L3	Q	Q	Q	Q	Q	Q
91	96	CDR-L3	G	G	G	G	G	G
92	97	CDR-L3	T	T	T	T	T	T
93	98	CDR-L3	H	H	H	H	H	H
94	99	CDR-L3	F	F	W	F	F	F
95	100	CDR-L3	P	P	P	P	P	P
95A		CDR-L3	-	-	-	-	-	-
95B		CDR-L3	-	-	-	-	-	-
95C		CDR-L3	-	-	-	-	-	-
95D		CDR-L3	-	-	-	-	-	-
95E		CDR-L3	-	-	-	-	-	-
95F		CDR-L3	-	-	-	-	-	-
96	101	CDR-L3	Y	L	Y	Y	Y	Y
97	102	CDR-L3	T	T	T	T	T	T

Gốc Kabat #	Gốc tuyến tính #	FR hoặc CDR	VL 3D6 chuột nhắt (SEQ ID NO:11)	ARX71335-VL_huFrwk (SEQ ID NO:82)	IMGT#IGKV2-30*02 (SEQ ID NO:27)	Hu3D6VLvb1 (SEQ ID NO:83)	Hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84)	Hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85)
98	103	Fr4	F	F	F	F	F	F
99	104	Fr4	G	G	G	G	G	G
100	105	Fr4	G	A	Q	A	A	Q
101	106	Fr4	G	G	G	G	G	G
102	107	Fr4	T	T	T	T	T	T
103	108	Fr4	K	K	K	K	K	K
104	109	Fr4	L	L	L	L	L	L
105	110	Fr4	E	E	E	E	E	E
106	111	Fr4	I	L	I	L	I	I
106 A	112	Fr4	K	K	K	K	K	K

Bảng 5: Các đột biến ngược V_H, V_L và các đột biến khác đối với 3D6 được làm tương thích với người

Biến thể V _H hoặc V _L	Trình tự nhận exon V _H hoặc V _L	Các thay đổi từ các gốc khung nhận (hoặc CDR) (dựa trên các CDR tổ hợp Kabat/Chothia)
Hu3D6VHvb1 (SEQ ID NO:76)	PDB ID 2RCS-VH_huFrwk (SEQ ID NO:75) IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO: 25)	H91, H93, H94
Hu3D6VHvb2 (SEQ ID NO:77)	PDB ID 2RCS-VH_huFrwk (SEQ ID NO:75) IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO: 25)	H1, H5, H11, H20, H23, H38, H42, H43, H66, H67, H75, H76, H81, H91, H93, H94
Hu3D6VHvb3 (SEQ ID NO:78)	PDB ID 2RCS-VH_huFrwk (SEQ ID NO:75) IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO: 25)	H1, H5, H11, H17, H20, H23, H38, H42, H43, H58, H66, H67, H75, H76, H80, H81, H83, H93, H94, H108, H109
Hu3D6VHvb4 (SEQ ID NO:79)	PDB ID 2RCS-VH_huFrwk (SEQ ID NO:75) IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO: 25)	H1, H5, H11, H17, H20, H23, H28, H38, H42, H43, H58, H66, H67, H75, H76, H80, H81, H83, H93, H94, H108, H109

Hu3D6VHvb5 (SEQ ID NO:80)	PDB ID 2RCS-VH_huFrwk (SEQ ID NO:75) IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO: 25)	H1, H5, H11, H17, H20, H23, H28, H38, H42, H43, H54, H56, H58, H66, H67, H75, H76, H80, H81, H83, H93, H94, H108, H109
Hu3D6 VHvb6 (SEQ ID NO:90)	PDB ID 2RCS-VH_huFrwk (SEQ ID NO:75) IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO: 25)	H1, H5, H11, H17, H20, H23, H28, H38, H42, H43, H54, H56, H66, H67, H75, H76, H80, H81, H83, H91, H93, H94, H108, H109
Hu3D6 VHvb7 (SEQ ID NO:91)	PDB ID 2RCS-VH_huFrwk (SEQ ID NO:75) IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO: 25)	H1, H5, H11, H17, H20, H23, H28, H38, H42, H43, H54, H56, H66, H67, H75, H76, H80, H81, H83, H93, H94, H108, H109
Hu3D6VLvb1 (SEQ ID NO:83)	PDB ID ARX71335-VL_huFrwk (SEQ ID NO:82); IMGT#IGKV2-30*02 (SEQ ID NO: 27)	
Hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84)	PDB ID ARX71335-VL_huFrwk (SEQ ID NO:82); IMGT#IGKV2-30*02 (SEQ ID NO: 27)	L7, L10, L15, L83, L86, L106
Hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85)	PDB ID ARX71335-VL_huFrwk (SEQ ID NO:82); IMGT#IGKV2-30*02 (SEQ ID NO: 27)	L7, L10, L15, L17, L24, L37, L45, L83, L86, L100, L106

Bảng 6: Cách đánh số Kabat của các gốc khung (hoặc CDR) (dựa trên các CDR tổ hợp Kabat/Chothia) đối với đột biến ngược và các đột biến khác trong chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người

Gốc	2RCS-VH_huFrwk (SEQ ID NO:75)	(Chuỗi nặng)IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25)	3D6 chuột nhắt (SEQ ID NO:7)	Hu3D6 VHvb1 (SEQ ID NO:76)	Hu3D6 VHvb2 (SEQ ID NO:77)	Hu3D6 VHvb3 (SEQ ID NO:78)	Hu3D6 VHvb4 (SEQ ID NO:79)	Hu3D6 VHvb5 (SEQ ID NO:80)	Hu3D6 VHvb6 (SEQ ID NO:90)	Hu3D6 VHvb7 (SEQ ID NO:91)
H1	Q	E	E	Q	E	E	E	E	E	E
H5	Q	V	Q	Q	V	V	V	V	V	V
H11	L	V	L	L	V	V	V	V	V	V
H17	S	T	L	S	S	T	T	T	T	T
H20	L	I	L	L	I	I	I	I	I	I
H23	T	K	K	T	K	K	K	K	K	K
H28	N	T	N	N	N	N	T	T	T	T
H38	K	Q	R	K	R	R	R	R	R	R
H42	E	G	E	E	G	G	G	G	G	G
H43	Q	K	Q	Q	K	K	K	K	K	K
H54	N	D	N	N	N	N	N	D	D	D
H56	N	E	D	D	D	D	D	E	E	E
H58	K	I	V	V	V	I	I	I	V	V
H66	K	R	K	K	R	R	R	R	R	R
H67	A	V	A	A	A	A	V	V	V	V
H75	S	T	S	S	T	T	T	T	T	T
H76	N	D	N	N	D	D	D	D	D	D
H80	L	M	L	L	L	M	M	M	M	M
H81	Q	E	Q	Q	E	E	E	E	E	E
H83	T	R	T	T	T	R	R	R	R	R
H91	Y	Y	F	F	F	Y	Y	Y	F	Y
H93	A	A	S	S	S	S	S	S	S	S
H94	S	T	T	T	T	T	T	T	T	T
H10 ₈	T	L	T	T	L	L	L	L	L	L
H10 ₉	L	V	L	L	V	V	V	V	V	V

Bảng 7: Cách đánh số Kabat của các gốc khung (dựa trên các CDR tổ hợp Kabat/Chothia) đối với đột biến ngược và các đột biến khác trong chuỗi nhẹ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người

<u>Gốc</u>	<u>ARX71335-VL huFrwk (SEQ ID NO:82)</u>	<u>(Chuỗi nhẹ) IMG#IGKV2-30*02 (SEQ ID NO:27)</u>	<u>3D6 chuột nhất (SEQ ID NO:11)</u>	<u>Hu3D6VLyb1 (SEQ ID NO:83)</u>	<u>Hu3D6VLyb2 (SEQ ID NO:84)</u>	<u>Hu3D6VLyb3 (SEQ ID NO:85)</u>
<u>L7</u>	<u>T</u>	<u>S</u>	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>S</u>	<u>S</u>
<u>L10</u>	<u>T</u>	<u>S</u>	<u>T</u>	<u>T</u>	<u>S</u>	<u>S</u>
<u>L15</u>	<u>I</u>	<u>L</u>	<u>I</u>	<u>I</u>	<u>L</u>	<u>L</u>
<u>L17</u>	<u>Q</u>	<u>Q</u>	<u>Q</u>	<u>Q</u>	<u>Q</u>	<u>E</u>
<u>L24</u>	<u>K</u>	<u>R</u>	<u>K</u>	<u>K</u>	<u>K</u>	<u>R</u>
<u>L37</u>	<u>L</u>	<u>Q</u>	<u>L</u>	<u>L</u>	<u>L</u>	<u>Q</u>
<u>L45</u>	<u>K</u>	<u>R</u>	<u>K</u>	<u>K</u>	<u>K</u>	<u>R</u>
<u>L83</u>	<u>L</u>	<u>V</u>	<u>L</u>	<u>L</u>	<u>V</u>	<u>V</u>
<u>L86</u>	<u>H</u>	<u>Y</u>	<u>Y</u>	<u>H</u>	<u>Y</u>	<u>Y</u>
<u>L100</u>	<u>A</u>	<u>Q</u>	<u>G</u>	<u>A</u>	<u>A</u>	<u>Q</u>
<u>L106</u>	<u>L</u>	<u>I</u>	<u>I</u>	<u>L</u>	<u>I</u>	<u>I</u>

Các vị trí mà tại đó các gốc chính tắc, gốc được ngụy trang, hoặc gốc ở mặt phân cách khác nhau giữa các trình tự nhận của chuột và người là các ứng viên cho sự thế. Ví dụ về các gốc chính tắc/tương tác CDR bao gồm các gốc Kabat H54 và H94 trong Bảng 3. Ví dụ về các gốc Vecnê bao gồm các gốc Kabat H28, H67, H93, và H94 trong Bảng 3. Ví dụ về các gốc mặt phân cách/gói (VH+VL) bao gồm các gốc Kabat H91 và H93 trong Bảng 3.

Lý do để lựa chọn các vị trí này được chỉ ra trong Bảng 3 trong vùng biến đổi chuỗi nặng làm ứng viên cho sự thế là như sau.

Các vùng biến đổi chuỗi nặng

hu3D6VHvb1

- gồm có các vòng CDR-H1, H2, và H3 của 3D6-VH ghép trên khung của 48G7-VH (RCS-VH), với đột biến ngược tại các vị trí H91 (Y91F), H93 (A93S), và H94 (S94T).

hu3D6VHvb2

- khôi phục lại tất cả sự thể vùng khung tại các vị trí quan trọng để xác định các lớp chính tắc Chothia, là một phần của khu vực Vecnê, hoặc khu trú ở mặt phân cách miền VH/VL hoặc góp phần vào độ ổn định cấu trúc. 3D6-VH_vb2 kết hợp đột biến ngược hoặc sự thể Q1E, Q5V, L11V, L20I, T23K, K38R, E42G, Q43K, K66R, S75T, N76D, Q81E, Y91F, A93S, S94T T108L, và L109V, để có thể đánh giá sự đóng góp của các vị trí này vào ái lực liên kết kháng nguyên và khả năng gây miễn dịch.

hu3D6VHvb3, hu3D6VHvb4, hu3D6VHvb5, hu3D6VHvb6, và hu3D6VHvb7

gồm có sự thể khác và bổ sung vào độ ổn định kháng thể và/hoặc để tối ưu hóa sự glycosyl hóa, sự kết tụ, tính không đồng nhất đầu cùng N, độ ổn định nhiệt, miêng tích điện bộc lộ bề mặt, miêng điện tích bộc lộ bề mặt, sự khử amin, và tính nhạy proteinaza.

Q1E: là đột biến tăng cường độ ổn định để làm giảm nhẹ khả năng tạo thành pyroglutamat (Liu, nêu trên)

Q5V: là đột biến dựa trên tần suất và sắp thẳng hàng dòng mầm. Val phổ biến nhất ở trong trình tự người tại vị trí này. Val ở trong gen dòng mầm người IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ (ID NO:25) tại vị trí này.

L11V: là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Val ở trong gen dòng mầm người IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ (ID NO:25) tại vị trí này.

S17T: là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Thr ở trong gen dòng mầm người IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ (ID NO:25) tại vị trí này.

L20I: là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Ile ở trong gen dòng mầm người IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ (ID NO:25) tại vị trí này.

T23K: là đột biến dựa trên tần suất và sắp thẳng hàng dòng mầm. Lys phổ biến hơn tại vị trí này. Lys ở trong gen dòng mầm người IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ (ID NO:25) tại vị trí này.

N28T: Đây là sự thể gốc CDR-H1 thành Thr.

K38R: là đột biến ngược dựa trên tần suất. Arg phổ biến nhất tại vị trí này. Arg tại vị trí này được dự đoán là tạo ra hai liên kết H với Glu 46 ngoài mỗi một liên kết H với Asp86 và Tyr 90 trong chuỗi nặng; do đó, sự thể Arg có thể tăng cường độ ổn định hơn là Lys tại vị trí này.

E42G: là đột biến dựa trên tần suất và sắp thẳng hàng dòng mầm. Gly ở trong gen dòng mầm người IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ (ID NO:25) tại vị trí này. Gly phổ biến nhất tại vị trí này. Sự thể Gly được dự đoán là không ảnh hưởng đến độ ổn định.

Q43K: Chuỗi bên Lys tại vị trí này được dự đoán là tạo ra liên kết H với G42 bên cạnh chuỗi chính tạo ra liên kết H với Gln 39 và Arg 40, nhờ đó sự thể Lys có thể tăng cường độ ổn định hơn là Q tại vị trí này.

N54D và D56E là sự thể của các gốc CDR và được dự đoán là các vị trí không tiếp xúc kháng nguyên theo mô hình tương đồng. Sự thể N54D và D56E được dự đoán là làm ổn định cấu trúc kháng thể.

V58I: là sự thể của gốc CDR-H2. Gen dòng mầm IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ (ID NO:25) có Ile tại vị trí này. Gốc này được dự đoán là không tiếp xúc kháng nguyên.

K66R: Arg tại vị trí này được dự đoán là tạo ra liên kết H với Ser 82a và Thr 83 ngoài việc tạo ra liên kết H và cầu nối muối với Asp 86.

A67V: là sự thể của gốc khu vực Vecnê. Gen dòng mầm IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ (ID NO:25) có Val tại vị trí này.

S75T: Ser tại vị trí này được dự đoán là tạo ra liên kết H với Asp 72 và Tyr 76. Thr tại vị trí này được dự đoán là cũng tạo ra các tiếp xúc này nhưng được bộc lộ bề mặt gốc Thr có thể tăng cường độ ổn định kháng thể.

N76D: Asp là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Asp ở trong gen dòng mầm người IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ (ID NO:25) tại vị trí này.

L80M: Met là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Met ở trong gen dòng mầm người IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ (ID NO:25) tại vị trí này.

Q81E: Glu được dự đoán là tạo ra liên kết H cộng với cầu nối muối với K19; do đó Glu tại vị trí này làm tăng cường độ ổn định kháng thể.

T83R tăng cường độ ổn định nhiệt và làm tăng tính chất người. Arg là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Arg ở trong gen dòng mầm người IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO: 25) tại vị trí này. Arg phổ biến nhất tại vị trí này.

F91Y: là đột biến của gốc mặt phân cách, và là đột biến ngược dựa trên tần suất. Tyr thường nằm ở vị trí này, và có thể tăng cường độ ổn định kháng thể.

A93S: là đột biến ngược của gốc khu vực Vecnê và khu vực mặt phân cách.

S94T: là đột biến ngược của gốc cấu trúc chính tắc xác định bởi Chothia và gốc vecnê.

T108L: Leu là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Leu ở trong gen dòng mầm người IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ (ID NO:25) tại vị trí này. Leu tại vị trí này được dự đoán là tạo ra kháng thể ít gây miễn dịch hơn và không ảnh hưởng đến độ ổn định kháng thể.

L109V: là đột biến dựa trên tần suất. Val phổ biến nhất tại vị trí này.

Lý do để lựa chọn các vị trí này được chỉ ra trong Bảng 4 trong vùng biến đổi chuỗi nhẹ làm ứng viên cho sự thể là như sau.

Các vùng biến đổi chuỗi nhẹ kapa

hu3D6VLvb1

- gồm có các vòng CDR-L1, L2, và L3 của 3D6-VL ghép trên khung của VL ARX71335.

hu3D6VLvb2 và hu3D6VLvb3

- khôi phục lại tất cả sự thể vùng khung tại các vị trí quan trọng để xác định các lớp chính tắc Chothia, là một phần của khu vực Vecnê, hoặc khu trú ở mặt phân cách miền VH/VL. Hu3D6-VLvb2 & Hu3D6-VLvb3 còn bao gồm sự thể mà góp phần vào độ ổn định cấu trúc; hu3D6-VL_vb2 kết hợp các đột biến ngược T7S, I15L, L83V, H86Y và L106I, để có thể đánh giá sự đóng góp của các vị trí này vào ái lực liên kết kháng nguyên và khả năng gây miễn dịch.

Hu3D6-VL_vb3 tất cả sự thể được đề cập đối với vb2 cùng với các thay đổi bổ sung tại Q17E, K24R, L37Q, K45R, và L106I

T7S: là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Ser ở trong gen dòng mầm người IGKV2-30*02 (SEQ (ID NO:27) tại vị trí này.

T10S: là đột biến dựa trên tần suất và sắp thẳng hàng dòng mầm. Ser phổ biến tại vị trí này. Ser ở trong gen dòng mầm người IGKV2-30*02 (SEQ (ID NO:27) tại vị trí này.

I15L: là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Leu ở trong gen dòng mầm người IGKV2-30*02 (SEQ (ID NO:27) tại vị trí này.

Q17E: Glu tại vị trí này được dự đoán là tạo ra liên kết H với T14 và cầu nối muối với Lys 107, cả hai gốc chuỗi nhẹ, và để tăng cường độ ổn định kháng thể.

K24R: là đột biến của gốc CDR. Cả Lys và Arg được dự đoán là tạo ra liên kết H và cầu nối muối với Asp 70 trong chuỗi nhẹ. Arg được dự đoán là phù hợp hơn trong cấu hình. Arg cũng là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Arg ở trong gen dòng mầm người IGKV2-30*02 (SEQ (ID NO:27) tại vị trí này.

L37Q: Nó được dự đoán là gốc chôn sâu, Leu không được dự đoán là tương tác với các gốc xung quanh, trong khi đó, Gln được dự đoán là tạo ra liên kết H với Q38 và Asp 82 trong chuỗi nhẹ. Gln cũng là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Gln ở trong gen dòng mầm người IGKV2-30*02 (SEQ (ID NO:27) tại vị trí này.

K45R: Mặc dù Lys được dự đoán là tạo ra liên kết H với S56 và Gly 57; sự tương tác được dự đoán của Arg với các gốc lân cận bao quát hơn nhiều vì nó được dự đoán là tạo thành cầu nối muối với D55, liên kết H với Arg46 và liên kết H kép với S56. Arg cũng là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Arg ở trong gen dòng mầm người IGKV2-30*02 (SEQ (ID NO:27) tại vị trí này.

L83V: Đây là đột biến dựa trên tần suất của gốc được dự đoán là được bộc lộ bề mặt. Val cũng là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Val ở trong gen dòng mầm người IGKV2-30*02 (SEQ (ID NO:27) tại vị trí này.

H86Y: VL 3D6 chuột nhất có Tyr tại vị trí này. Tyr cũng là gốc phổ biến nhất tại vị trí này.

A100Q: Ala hiếm gặp tại vị trí này. Ala được dự đoán là gốc được bộc lộ bề mặt và không được dự đoán là tương tác với các gốc xung quanh. Gln phổ biến nhất tại vị trí này và cũng là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Gln ở trong gen dòng mầm người IGKV2-30*02 (SEQ (ID NO:27) tại vị trí này. Gln được dự đoán là tạo ra liên kết H với Ser 7 làm ổn định nội chuỗi.

L106I: là đột biến dựa trên tần suất và sắp thẳng hàng dòng mầm. Ile phổ biến nhất tại vị trí này. Ile ở trong gen dòng mầm người IGKV2-30*02 (SEQ (ID NO:27) tại vị trí này.

Các thiết kế dựa trên các vùng khung người này là:

vùng biến đổi chuỗi nặng

>hu3D6VHvb1 (SEQ ID NO:76)

QVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDYLLHWVKQRPEQGLEWIG
WIDPENGDTVYDPKFQGKATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYFCSTLDFWGQ
GTTLTVSS

>hu3D6VHvb2 (SEQ ID NO:77)

EVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPGKGLEWIG
WIDPENGDTVYDPKFQGRATITADTSTDYALELSSLTSEDTAVYFCSTLDFWGQ
GTLVTVSS

>hu3D6VHvb3 (SEQ ID NO:78)

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPGKGLEWIG
WIDPENGDTIYDPKFQGRATITADTSTDYAMELSSLRSEDTAVYYCSTLDFWGQ
GTLVTVSS

hu3D6VHvb4 (SEQ ID NO:79)

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYLLHWVRQRPGKGLEWIG
WIDPENGDTIYDPKFQGRVTITADTSTDYAMELSSLRSEDTAVYYCSTLDFWGQ
GTLVTVSS

>hu3D6VHvb5 (SEQ ID NO:80)

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYLLHWVRQRPGKGLEWIG
WIDPEDGETIYDPKFQGRVTITADTSTDYAMELSSLRSEDTAVYYCSTLDFWGQ
GTLVTVSS

>hu3D6VHvb6 (SEQ ID NO:90)

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYLLHWVRQRPGKGLEWIG
WIDPEDGETVYDPKFQGRVTITADTSTDYAMELSSLRSEDTAVYFCSTLDFWG
QGTLVTVSS

>hu3D6VHvb7 (SEQ ID NO:91)

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYHLHWVRQRPGLGLEWIG
WIDPEDGETVYDPKFKQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCSTLDFWG
QGTLVTVSS

vùng biến đổi chuỗi nhẹ kapa

hu3D6VLvb1 (SEQ ID NO:83)

DVVMQTQPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPGLQSPKR
LIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVHYCWQGTHFPYTFGAG
TKLELK

>hu3D6VLvb2 (SEQ ID NO:84)

DVVMTQSPLSLSVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPGLQSPKR
LIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGAG
TKLEIK

>hu3D6VLvb3 (SEQ ID NO:85)

DVVMTQSPLSLSVTLGEPASISCRSSQSLLDSDGKTYLNWLQRPGLQSPRR
LIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQG
TKLEIK

Các trình tự được làm tương thích với người được tạo ra bằng cách sử dụng quy trình PCR hai bước cho phép đưa vào nhiều đột biến, sự làm khuyết, và sự cài xen bằng cách sử dụng kỹ thuật gây đột biến định hướng điểm QuikChange [Wang, W. và Malcolm, B.A. (1999) BioTechniques 26:680-682).

Ví dụ 4. Kháng thể đơn dòng chuột liên kết với tau trong thử nghiệm ELISA

Phương pháp: ELISA gián tiếp: Các đĩa polystyren 96 giếng được phủ bằng kháng thể bắt giữ kháng 6xHis (Hình 4A) hoặc đa dòng kháng tau (Dako #A0024, Hình 4B) được tạo huyền phù trong 1xPBS trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng hoặc 16 giờ ở 4°C. Lớp phủ được loại bỏ, và các đĩa được phong bế trong 1 giờ với BSA 1% trong 1xPBS, sau đó ủ với tau người tái tổ hợp, với (Hình 5A) hoặc không cùng với (Hình 4B) đuôi polyhistidin ở đầu cùng N của protein này. Sau khi rửa, các đĩa được ủ với các kháng thể đã chỉ định, được

rửa và được ủ với kháng thể thứ cấp dê kháng chuột được liên hợp HRP. Các đĩa được phát triển với TMB, và A_{450} được đo với máy đọc đĩa.

ELISA bánh kẹp: Các đĩa polystyren 96 giếng được phủ bằng các kháng thể kháng chuột trong 1xPBS trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng hoặc 16 giờ ở 4°C. Lớp phủ được loại bỏ, và các đĩa được phong bế trong 1 giờ với BSA 1% trong 1xPBS. Đĩa này được ủ tiếp với các kháng thể đã chỉ định ở các nồng độ giống nhau, được pha loãng trong BSA 0,1% trong 1xPBS. Các đĩa được xử lý liên tục với tau người, kháng thể đa dòng thổ kháng tau (Dako #A0024), và kháng thể dê kháng thổ được liên hợp HRP, tất cả được pha loãng trong BSA 0,1% trong PBS và việc rửa được thực hiện giữa mỗi bước. Streptavidin-HRP được bổ sung vào, các đĩa được phát triển với TMB, và A_{450} được đo với máy đọc đĩa. Xem Hình 4C.

Kết quả: Panen chứa kháng thể sản sinh bởi tế bào lai được thử nghiệm về khả năng liên kết với tau qua nhiều phương thức ELISA khác nhau. Sự phát hiện tau được xác nhận bằng cách sử dụng phương thức gián tiếp, sử dụng protein tau được cố định bởi đuôi polyhistidin được dung hợp đầu cùng N của nó (Hình 4A). Sự liên kết với protein tự nhiên, không gắn đuôi cũng được xác nhận (Hình 4B). Để đánh giá ái lực dung dịch của nhiều kháng thể khác nhau, phương thức ELISA bánh kẹp được sử dụng, trong đó các kháng thể tế bào lai đã thử nghiệm được sử dụng làm chất phản ứng bắt giữ (Hình 4C).

Ví dụ 5. Ái lực của các kháng thể đơn dòng chuột với tau

Phương pháp: Phân tích SPR được thực hiện bằng cách sử dụng Biacore T200 để xác định động học liên kết của kháng thể chuột với tau người tái tổ hợp. Để chuẩn bị bề mặt cảm biến, kháng thể kháng chuột (GE Life Sciences) được cố định trên chip cảm biến CM5 nhờ phản ứng tạo cặp amin, và kháng thể bị bắt giữ ở mức đảm bảo sự liên kết tối đa là 50 RU. Nhiều nồng độ khác nhau của tau tái tổ hợp nằm trong khoảng từ 10-0,14 nM được cho đi qua phôi tử đã bị bắt giữ ở tốc độ dòng là 50 μ l/phút trong đệm chạy (HBS + 0,05% P-20, BSA 1 mg/ml), để kết hợp 180 giây và phân ly 900 giây. Dữ liệu được tham chiếu hai lần đến cả bộ cảm biến không liên quan không chứa phôi tử kháng thể, và nồng độ chất điện phân 0 nM để tính toán sự phân ly của phôi tử từ gốc bắt giữ. Sau đó dữ liệu được phân tích bằng cách sử dụng mô hình chỉnh hợp chung 1:1.

Kết quả: Nhiều kháng thể chuột được chọn dựa vào hoạt động của chúng trong bộ thử nghiệm ELISA, và ái lực liên kết của chúng được đánh giá bằng SPR. Các kháng thể

được thử nghiệm trong các bộ song song, và tốc độ phân ly và kết hợp liên kết của chúng được so sánh với nhau để chọn ra chất liên kết mạnh nhất với tau người tái tổ hợp. Ái lực liên kết cao nhất được quan sát thấy đối với dòng kháng thể 3D6. Các ái lực liên kết được thể hiện trên Hình 5.

Ví dụ 6. Các kháng thể chuột đơn dòng ngăn cản sự liên kết của tau người với bề mặt của tế bào neuron đã được làm bất tử

Phương pháp: Sự ức chế của sự liên kết Tau với các tế bào u nguyên bào thần kinh B103 bằng các kháng thể đơn dòng kháng Tau

1. Các tế bào B103 đã được tạo huyền phù lại trong PBS ở 5×10^5 tế bào/ml. Đĩa 50 μ l huyền phù tế bào mỗi giếng trong đĩa Liên Kết Cao MSD. Bước này tạo ra 25K tế bào/giếng. Đậy đĩa này và để cho các tế bào gắn kết ở 37°C, CO₂ 5%, trong 2 giờ.
2. Sau khi gắn kết tế bào, loại bỏ PBS khỏi các giếng bằng cách lộn ngược đĩa và vỗ nhẹ để loại bỏ chất đệm dư. Bổ sung 50 μ l chất phong bế A MSD 3% trong PBS hoặc chất đệm phong bế thích hợp khác vào mỗi giếng và ủ đĩa ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ mà không lắc.
3. Trong bước phong bế đĩa này ủ đồng thời Tau và các kháng thể kháng Tau như sau:
 - a. Bắt đầu với kháng thể kháng Tau ở 2 mg/ml và pha loãng theo dãy trong PBS, 1:2, cho 7 dung dịch pha loãng bổ sung.
 - b. Pha loãng Tau đến 20 nM trong PBS. Nồng độ Tau sẽ là không đổi trong mỗi giếng.
 - c. Trộn Tau và kháng thể kháng Tau, 1:1, cho nồng độ Tau cuối cùng là 10 nM và nồng độ khởi đầu của kháng thể kháng Tau là 1 mg/ml.
 - d. Ủ hỗn hợp này trong xấp xỉ 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng kèm theo lắc (600 vòng/phút).
4. Sau khi phong bế đĩa, bước 2, loại bỏ chất đệm phong bế khỏi các giếng bằng cách lật ngược đĩa và vỗ nhẹ và rửa đĩa 2x với PBS bằng cách sử dụng pipet nhiều kênh. Đảm bảo là đệm dư được loại bỏ hoàn toàn. Làm lạnh các tế bào đã được phủ thành lớp mỏng đến 4°C trước khi bổ sung các phức hợp Tau: kháng-Tau.

5. Bổ sung 50µl phức hợp đã làm lạnh, bước 3, vào các tế bào đã được phủ thành lớp mỏng và ủ trên đá trong 30 phút.
6. Rửa đĩa 2x với PBS đông lạnh như đã mô tả trước đây.
7. Bổ sung 50µl 16B5.SULFO-TAG vào mỗi giếng để phát hiện Tau đã liên kết bề mặt tế bào. Ủ trong 30 phút trên đá.
8. Rửa đĩa 2x bằng PBS được làm đông lạnh một lần nữa như được mô tả trên đây.
9. Bổ sung 150 µl mỗi giếng 1X đệm đọc T không có chất hoạt động bề mặt (được pha loãng trong H₂O) và đọc ngay trên thiết bị MSD SECTOR™ 600. Tránh đưa bong bóng vào khi bổ sung đệm đọc.
10. Báo cáo về các tín hiệu MSD so với nồng độ của kháng thể kháng Tau.

Kháng thể được thử nghiệm là kháng thể kháng tau 3D6, 16G7, 3H9, 4C5, và 5G8, và đối chứng isotyp.

Kết quả:

Tín hiệu kháng tau SulfoTag giảm dần xảy ra với kháng thể thử nghiệm tăng dần chỉ ra tác dụng phong bế chức năng sự liên kết tau với bề mặt tế bào noron. Không có tác dụng phong bế nào được quan sát thấy với đối chứng isotyp, 16G7, hoặc 3H9. Các lượng tăng dần của hoạt tính phong bế chức năng được quan sát thấy với 4C5, 5G8, và 3D6. 3D6 thể hiện hoạt tính phong bế sâu nhất của các kháng thể được thử nghiệm. Xem Hình 6.

Ví dụ 7. Hoạt tính phá vỡ kết tụ

Phương pháp: Sự kết tụ của tau tái tổ hợp—Tau tái tổ hợp đã tinh chế với đuôi 6xHis đầu cùng N được kết hợp với lượng đẳng mol của heparin khối lượng phân tử thấp trong 1xPBS (độ pH=7,4), và được ủ ở 37°C trong 96 giờ trên máy tạo chuyển động lắc lư. Sự kết tụ của mẫu được xác nhận bằng cách liên kết với Thioflavin T.

Ủ với các kháng thể —Các kháng thể được ủ với tau tái tổ hợp, đã kết tụ ở các tỷ lệ mol đã chỉ định được ủ ở 37°C trong 96 giờ mà không quay tròn hoặc lắc lư. Ở thời điểm kết thúc thử nghiệm, sự kết tụ được đo bằng cách ủ các mẫu với Thioflavin T 25 mM, và đo huỳnh quang phát ra (450/482 kích thích/phát xạ). Các tín hiệu được trừ nền đối với các mẫu đệm.

Kết quả: Như thể hiện trên Hình 7, 3D6 phân tách ưu tiên các sợi tau nguyên vẹn. Các tỷ lệ mol khác nhau của 3D6 (hình tam giác), đối chứng isotyp (hình tròn) và 16G7 (hình vuông) được ủ với các sợi tau chứa amyloid trong 96 giờ. Tại thời điểm kết thúc giai đoạn này, mức độ kết tụ được đánh giá bằng sự liên kết với Thioflavin T. 3D6 ưu tiên làm giảm tín hiệu Thioflavin T có mặt trong mẫu này, so với cả kháng thể đối chứng isotyp cũng như 16G7, kháng thể kháng tau mà liên kết với vùng khác của tau.

Ví dụ 8. 3D6 và 5G8 bắt giữ miễn dịch tau từ mô bệnh của người.

Phương pháp: Các phân đoạn protein hòa tan hàm lượng muối cao được điều chế đến 1 mg/ml. Đối với mỗi kết tủa miễn dịch, 200 μ g mẫu được sử dụng. 10 μ g kháng thể đã chỉ định (đối chứng isotyp, 3D6, hoặc kháng thể kháng tau 5G8) được bổ sung vào chế phẩm mẫu có hàm lượng muối cao, và được ủ trong 2 giờ. Sau đó các hạt từ tính protein G được bổ sung vào các hỗn hợp, và được ủ thêm một giờ nữa để bắt giữ phức hợp kháng thể/kháng nguyên. Các mẫu được rửa kỹ bằng 1xPBS, và các hạt được đun sôi trong đệm mẫu khử/biến tính để giải phóng các protein bị bắt giữ. Các mẫu thu được được phân tích bằng SDS-PAGE và phân tích thâm tách western được thực hiện bằng cách sử dụng kháng thể đa dòng kháng tau (Dako, #A0024).

Kết quả: Như thể hiện trên Hình 8, 3D6 và 5G8 gây kết tủa miễn dịch tau từ mô bệnh Alzheimer. Các phân đoạn hòa tan có hàm lượng muối cao được kết tủa miễn dịch bằng kháng thể đã chỉ định, và được phát hiện bằng kháng thể đa dòng kháng tau được định hướng đến vùng riêng biệt của phân tử tau từ các vị trí liên kết cho 3D6 và kháng thể tau A. 3D6 bắt giữ mạnh tau từ phân đoạn này. Đầu vào (mẫu hòa tan có hàm lượng muối cao) được thể hiện ở bên phải.

Ví dụ 9. Phản ứng miễn dịch hóa học mô miễn dịch của 3D6,

Vỏ não trán thái dương thu được từ bệnh nhân không mắc bệnh thoái hóa thần kinh hoặc bệnh Alzheimer, được xác nhận nhờ đánh giá xét nghiệm tử thi. Hóa học mô miễn dịch được thực hiện trên lát cắt đông lạnh được gắn trên phiến kính 10 μ m, được cố định nhẹ nhàng bằng axeton. Tất cả các bước nhuộm được thực hiện bằng cách sử dụng máy nhuộm tự động Leica BOND Rx, sử dụng vật tư tiêu hao Leica. Dạng chuột hoặc người của 3D6 được ủ với các lát cắt mô sau đó bổ sung các kháng thể thứ cấp phù hợp loài được liên hợp với polyme HRP. Để tránh liên kết không đặc hiệu của globulin miễn dịch nội sinh khi sử dụng các kháng thể được làm tương thích với người trên mô người, các kháng

thể này được gắn nhãn không cộng hóa trị bằng đoạn Fab hóa trị một kháng người được liên hợp biotin trên in vitro trước khi ủ trên mô. Mô được gắn nhãn bằng phức hợp kháng thể sơ cấp-đoạn Fab biotin được khuếch đại thêm bằng cách sử dụng hệ khuếch đại avidin-biotin (Vector Laboratories, Burlingame, CA). Sự bắt màu được quan sát với chất tạo màu DAB, mà tạo ra sự bắt màu nâu. Đối chứng âm bao gồm thực hiện toàn bộ quy trình hóa học mô miễn dịch trên các lát cắt liên kề với kháng thể đối chứng isotyp IgG.

Các kháng thể được kiểm tra là CD6 chuột, 3D6 khảm (chứa VH và VL từ kháng thể chuột với vùng hằng định của người, chuỗi nặng SEQ ID NO:72 và chuỗi nhẹ SEQ ID NO:73), và biến thể được làm tương thích với người hu3D6VHv5/hu3D6VLv2.

Bước nhuộm được thực hiện với các dạng của chuột, khảm, và được làm tương thích với người của 3D6 được so sánh định tính và được đánh giá về độ đậm và mật độ của sự bắt màu, cũng như định vị phản ứng miễn dịch. Cường độ của sự bắt màu là tương tự đối với các dạng khảm và được làm tương thích với người của 3D6, và thể hiện các mẫu định vị tương tự so với dạng chuột của kháng thể này. Tau được phát hiện trong các đám rối thần kinh, sợi, sợi mạng thần kinh, và trong các sợi trục thoái hóa. Cũng có sự bắt màu soma đáng chú ý được phát hiện.

Ví dụ 10. Ái lực của các biến thể được làm tương thích với người đối với tau

Phương pháp: Các đĩa polystyren 96 giếng ELISA gián tiếp được phủ bằng tau người tái tổ hợp được tạo huyền phù trong 1xPBS trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng hoặc 16 giờ ở 4°C. Lớp phủ được loại bỏ, và các đĩa được phong bế trong 1 giờ với BSA 1% trong 1xPBS. Các kháng thể biến thể được làm tương thích với người ở 1 µg/ml trong BSA 0,1% trong 1xPBS được bổ sung vào các đĩa trong 1 giờ sau đó rửa, và kháng thể dê kháng người liên hợp HRP được bổ sung vào. Các đĩa được phát triển với TMB, và A₄₅₀ được đo với máy đọc đĩa.

Các đĩa polystyren 96 giếng ELISA kẹp được phủ bằng các kháng thể kháng người trong 1xPBS trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng hoặc 16 giờ ở 4°C. Lớp phủ được loại bỏ, và các đĩa được phong bế trong 1 giờ với BSA 1% trong 1xPBS. Các kháng thể biến thể được làm tương thích với người ở các nồng độ thay đổi được pha loãng trong BSA 0,1% trong 1xPBS được bổ sung vào các đĩa trong thời gian 1 giờ sau đó là rửa, và tau người tái tổ hợp đã biotinyl hóa được pha loãng trong BSA 0,1% trong 1xPBS được bổ sung. Sau

khi rửa, streptavidin-HRP được bổ sung vào, các đĩa được phát triển với TMB, và A₄₅₀ được đo với máy đọc đĩa.

Phân tích SPR được thực hiện bằng cách sử dụng Biacore T200 để xác định động học liên kết của h3D6-VHv5-L2 với tau người tái tổ hợp. Để chuẩn bị bề mặt cảm biến, kháng thể kháng người (GE Life Sciences) được cố định trên chip cảm biến CM5 nhờ phản ứng tạo cặp amin, và kháng thể biến thể được làm tương thích với người bị bắt giữ ở mức đảm bảo sự liên kết tối đa là 50 RU. Các nồng độ tau tái tổ hợp khác nhau nằm trong khoảng từ 10-0,14 nM được cho đi qua phôi tử đã bị bắt giữ ở tốc độ dòng là 50 µL/phút trong đệm chạy (HBS + P-20 0,05%, BSA 1 mg/mL), để kết hợp 180 giây và phân ly 900 giây. Dữ liệu được tham chiếu hai lần đến cả bộ cảm biến không liên quan không chứa phôi tử kháng thể, và nồng độ chất điện phân 0 nM để tính toán sự phân ly của phôi tử từ gốc bắt giữ. Sau đó dữ liệu được phân tích bằng cách sử dụng mô hình chỉnh hợp chung 1:1.

Ví dụ 11. Khả năng gây miễn dịch của vùng biến đổi chuỗi nhẹ hu3D6VLv2

Các trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ hu3D6VLv2 (SEQ ID NO:21) được phân tích bằng cách sử dụng công cụ phần mềm khử miễn dịch iedb.org (Dhanda và các đồng tác giả, Immunology. 2018 Jan;153(1):118-132). Bảng 9 thể hiện peptit có thể được chọn để khử miễn dịch hu3D6VLv2, nghĩa là, cho thấy các vùng nơi sự thể khác có thể được thực hiện để làm giảm khả năng gây miễn dịch tiềm tàng.

Bảng 9. Các kết quả của phân tích khả năng gây miễn dịch xác định peptit tiềm năng để khử miễn dịch

Vị trí khởi đầu (tuyến tính)	Vị trí kết thúc (tuyến tính)	Xếp hạng phần trăm trung bình	Peptit
1	15	14,845	DVVMTQSPLSLPVTL
51	65	15,745	RLIYLVSKLD SGVPD
46	60	18,58	GQSPRRLIYLVSKLD

Dựa trên các kết quả phân tích được chỉ ra trong Bảng 9, các biến thể của vùng biến đổi chuỗi nhẹ hu3D6VLv2 được thiết kế, hướng đích các gốc axit amin được in đậm

trong Bảng 10. Mỗi biến thể kết hợp với một trong các đột biến thể axit amin sau đây, như được chỉ ra trong Bảng 11.

Bảng 10. Các gốc axit amin trong hu3D6VLv2 được hướng đích đối với sự thể.

Các gốc được hướng đích của vùng biến đổi chuỗi nhẹ hu3D6VLv2	SEQ ID NO gốc
DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCKSSQSLL DSDGKTYLNWLLQRPQGSPRR LIYLVSKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCWQGTHTFPYTFGGGTKLEIK	21

Bảng 11. Sự thế axit amin ở hu3D6VLv2 được thiết kế để làm giảm khả năng gây miễn dịch

Số tuyến tính	Số Kabat	Tên biến thể	SEQ ID NO của vùng biến đổi chuỗi nhẹ tạo thành
L59D	L54D	hu3D6VLv2 L54D (còn được gọi là L2-DIM21)	SEQ ID NO:93
L59G	L54G	hu3D6VLv2 L54G (còn được gọi là L2-DIM7)	SEQ ID NO:94
L59N	L54N	hu3D6VLv2 L54N	SEQ ID NO:95
L59E	L54E	hu3D6VLv2 L54E	SEQ ID NO:96
L55E	L50E	hu3D6VLv2 L50E	SEQ ID NO:97
L59Q	L54Q	hu3D6VLv2 L54Q	SEQ ID NO:98
L55D	L50D	hu3D6VLv2 L50D	SEQ ID NO:99
L59K	L54K	hu3D6VLv2 L54K	SEQ ID NO:100
L59R	L54R	hu3D6VLv2 L54R	SEQ ID NO:101
L59T	L54T	hu3D6VLv2 L54T	SEQ ID NO:102
L55G	L50G	hu3D6VLv2 L50G (còn được gọi là L2-DIM22)	SEQ ID NO:103
I53G	I48G	hu3D6VLv2 I48G	SEQ ID NO:104
I53D	I48D	hu3D6VLv2 I48D	SEQ ID NO:105
L52G	L47G	hu3D6VLv2 L47G	SEQ ID NO:106
Y54E	Y49E	hu3D6VLv2 Y49E	SEQ ID NO:107
L59V	L54V	hu3D6VLv2 L54V	SEQ ID NO:108
L59S	L54S	hu3D6VLv2 L54S	SEQ ID NO:109
S57G	S52G	hu3D6VLv2 S52G (còn được gọi là L2-DIM9)	SEQ ID NO:110
L52N	L47N	hu3D6VLv2 L47N	SEQ ID NO:111
L52D	L47D	hu3D6VLv2 L47D	SEQ ID NO:112
L52E	L47E	hu3D6VLv2 L47E	SEQ ID NO:113
L52P	L47P	hu3D6VLv2 L47P	SEQ ID NO:114

L52T	L47T	hu3D6VLv2 L47T	SEQ ID NO:115
L52S	L47S	hu3D6VLv2 L47S	SEQ ID NO:116
L52A	L47A	hu3D6VLv2 L47A	SEQ ID NO:117
L55V	L50V	hu3D6VLv2 L50V	SEQ ID NO:118

Các biến thể khác của vùng biến đổi chuỗi nhẹ hu3D6VLv2 được thiết kế, như được chỉ ra trong Bảng 12, mà kết hợp với đột biến thể tại một hoặc hai gốc trong số các gốc axit amin được bôi đậm trong Bảng 10. Một số biến thể trong Bảng 12 còn kết hợp với đột biến thể L37Q (các SEQ ID NO:119-135, và 145), hoặc cả hai đột biến thể L37Q và đột biến thể G100Q (các SEQ ID NO:136-142).

Lý do để lựa chọn các vị trí L37Q và G100Q được chỉ ra trong Bảng 12 và Bảng 13 trong vùng biến đổi chuỗi nhẹ này làm ứng viên cho sự thể là như sau.

L37Q là đột biến làm tăng tính chất người của trình tự này. Gln là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Gln trong gen dòng mầm người IGKV2-30*02 (SEQ (ID NO: 27) tại vị trí này.

G100Q là đột biến làm tăng tính chất người của trình tự này. Gln là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Gln trong gen dòng mầm người IGKV2-30*02 (SEQ (ID NO: 27) tại vị trí này.

Bảng 12: Sự thể axit amin ở hu3D6VLv2 được thiết kế để làm giảm khả năng gây miễn dịch

Sự thể ở các biến thể bổ sung trong hu3D6VLv2 được thiết kế để làm giảm khả năng gây miễn dịch (Số Kabat của (các) đột biến được chỉ định)	Tên biến thể	SEQ ID NO: của vùng biến đổi chuỗi nhẹ tạo thành
L37Q_L50G_L54R	hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R (còn được gọi là L2-DIM1)	SEQ ID NO:119

Sự thể ở các biến thể bổ sung trong hu3D6VLv2 được thiết kế để làm giảm khả năng gây miễn dịch (Số Kabat của (các) đột biến được chỉ định)	Tên biến thể	SEQ ID NO: của vùng biến đổi chuỗi nhẹ tạo thành
L37Q_L50G_L54G	hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G (còn được gọi là L2-DIM2)	SEQ ID NO:120
L37Q_S52G_L54G	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G (còn được gọi là L2-DIM3)	SEQ ID NO:121
L37Q_S52G_L54R	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (còn được gọi là L2-DIM4)	SEQ ID NO:122
L37Q_S52G_L54T	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T (còn được gọi là L2-DIM5)	SEQ ID NO:123
L37Q_S52G_L54D	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D (còn được gọi là L2-DIM6)	SEQ ID NO:124
L37Q_L54R	hu3D6VLv2 L37Q_L54R	SEQ ID NO:125
L37Q_L54G	hu3D6VLv2 L37Q_L54G	SEQ ID NO:126
L37Q_L54D	hu3D6VLv2 L37Q_L54D (còn được gọi là L2-DIM12)	SEQ ID NO:127
L37Q_L50G	hu3D6VLv2 L37Q_L50G (còn được gọi là L2-DIM13)	SEQ ID NO:128
L37Q_L50D	hu3D6VLv2 L37Q_L50D (còn được gọi là L2-DIM14)	SEQ ID NO:129
L37Q_L54T	hu3D6VLv2 L37Q_L54T	SEQ ID NO:130
L37Q_S52G	hu3D6VLv2 L37Q_S52G	SEQ ID NO:131
L37Q_L54E	hu3D6VLv2 L37Q_L54E	SEQ ID NO:145

Sự thể ở các biến thể bổ sung trong hu3D6VLv2 được thiết kế để làm giảm khả năng gây miễn dịch (Số Kabat của (các) đột biến được chỉ định)	Tên biến thể	SEQ ID NO: của vùng biến đổi chuỗi nhẹ tạo thành
L37Q_L50D_L54G	hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G (còn được gọi là L2-DIM17)	SEQ ID NO:132
L37Q_L50D_L54R	hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R (còn được gọi là L2-DIM18)	SEQ ID NO:133
L37Q_L50E_L54G	hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G (còn được gọi là L2-DIM19)	SEQ ID NO:134
L37Q_L50E_L54R	hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R (còn được gọi là L2-DIM20)	SEQ ID NO:135
L37Q_L50G_L54R_G100Q	hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q	SEQ ID NO:136
L37Q_L50G_L54G_G100Q	hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q	SEQ ID NO:137
L37Q_S52G_L54R_G100Q	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q	SEQ ID NO:138
L37Q_S52G_L54D_G100Q	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q	SEQ ID NO:139
L37Q_L50D_L54G_G100Q	hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q	SEQ ID NO:140
L37Q_L50D_L54R_G100Q	hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q	SEQ ID NO:141
L37Q_L50V_L54D_G100Q	hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q	SEQ ID NO:142

Các biến thể khác của vùng biến đổi chuỗi nhẹ hu3D6VLv2 được thiết kế để kết hợp với L37Q (SEQ ID NO:143) hoặc để kết hợp với G100Q (SEQ ID NO:144), như được chỉ ra trong Bảng 13.

Bảng 13: Các đột biến thể axit amin ở hu3D6VLv2

Đột biến thể ở các biến thể bổ sung trong hu3D6VLv2 (Số Kabat của (các) đột biến được chỉ định)	Tên biến thể	SEQ ID NO: của vùng biến đổi chuỗi nhẹ tạo thành
L37Q	hu3D6VLv2 L37Q (còn được gọi là L2-DIM8)	SEQ ID NO:143
G100Q	hu3D6VLv2 G100Q	SEQ ID NO:144

Các hình 10A, 10B, 10C, và 10D thể hiện sự sắp xếp thẳng hàng của vùng biến đổi chuỗi nhẹ này của các biến thể được làm tương thích với người của kháng thể 3D6: hu3D6VLv2 (SEQ ID NO:21), hu3D6VLv2 L37Q (SEQ ID NO:143), hu3D6VLv2 L50G (SEQ ID NO:103), hu3D6VLv2 S52G (SEQ ID NO:110), hu3D6VLv2 L54G (SEQ ID NO:94), hu3D6VLv2 L54D (SEQ ID NO:93), hu3D6VLv2 L54K (SEQ ID NO:100), hu3D6VLv2 L54R (SEQ ID NO:101), hu3D6VLv2 L54T (SEQ ID NO:102), hu3D6VLv2 L37Q_L50G (SEQ ID NO:128), hu3D6VLv2 L37Q_L50D (SEQ ID NO:129), hu3D6VLv2 L37Q_S52G (SEQ ID NO:131), hu3D6VLv2 L37Q_L54G (SEQ ID NO:126), hu3D6VLv2 L37Q_L54R (SEQ ID NO:125), hu3D6VLv2 L37Q_L54T (SEQ ID NO:130), hu3D6VLv2 L37Q_L54D (SEQ ID NO:127), hu3D6VLv2 L37Q_L54E (SEQ ID NO:145), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R (SEQ ID NO:119), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G (SEQ ID NO:120), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R (SEQ ID NO:133), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G (SEQ ID NO:132), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D (SEQ ID NO:124), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G (SEQ ID NO:121), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T (SEQ ID NO:123), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R (SEQ ID NO:122), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q (SEQ ID NO:140), hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q (SEQ ID NO:141), hu3D6VLv2

L37Q_L50G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:136), hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q (SEQ ID NO:137), hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q (SEQ ID NO:142), hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q (SEQ ID NO:139), và hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q (SEQ ID NO:138).

Ví dụ 12. Khả năng gây miễn dịch của hu3D6VHv1bA11 (vùng biến đổi chuỗi nặng)

Các biến thể vùng biến đổi chuỗi nặng khác của hu3D6VHv1bA11 (còn được gọi là h3D6Hu5) (SEQ ID NO:18) được thiết kế, như được chỉ ra trong Bảng 14.

Các hình 9A và 9B thể hiện sự sắp xếp thẳng hàng của vùng biến đổi chuỗi nặng của 3D6 chuột (SEQ ID NO:7) và của các biến thể được làm tương thích với người của kháng thể 3D6 (hu3D6VHvb1, hu3D6VHvb2, hu3D6VHvb3, hu3D6VHvb4, hu3D6VHvb5, hu3D6VHvb6, hu3D6VHvb7, hu3D6VHv1bA11, h3D6VHvb8, và h3D6VHvb9) với trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng dòng mầm của người IGHV1-69-2*01 (SEQ ID NO:25) và với trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng thể nhận của người 2RCS VH hFrwk (SEQ ID NO:75). hu3D6VHvb1 là SEQ ID NO:76, hu3D6VHvb2 là SEQ ID NO:77, hu3D6VHvb3 là SEQ ID NO:78, hu3D6VHvb4 là SEQ ID NO:79, hu3D6VHvb5 là SEQ ID NO:80, hu3D6VHvb6 là SEQ ID NO:90, hu3D6VHvb7 là SEQ ID NO:91, hu3D6VHv1bA11 là SEQ ID NO:18, h3D6VHvb8 là SEQ ID NO:146, và h3D6VHvb9 là SEQ ID NO:148.

Bảng 14: Các đột biến thể axit amin khác ở hu3D6VHv1bA11 (còn được gọi là h3D6Hu5)

Đột biến thể ở các biến thể bổ sung ở hu3D6VHv1bA11 (Số Kabat của (các) đột biến được chỉ định)	Tên biến thể	SEQ ID NO của vùng biến đổi chuỗi nặng thu được
D60E	hu3D6VHv1bA11 D60E (còn được gọi là h3D6VHvb8)	SEQ ID NO:146
L82cV	hu3D6VHv1bA11 L82cV	SEQ ID NO:147

D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R	hu3D6VHv1bA11 D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R (còn được gọi là h3D6VHvb9)	SEQ ID NO:148
---------------------------	---	------------------

Lý do để lựa chọn các vị trí được chỉ ra trong Bảng 14 trong vùng biến đổi chuỗi nặng làm ứng viên cho sự thể là như sau.

D60E: để giảm sự phân giải protein tiềm tàng. Các motif Asp-Pro được biết đến là các vị trí phân cắt protein tiềm năng. Có motif Asp-Pro ở hu3D6VHv1bA11 (h3D6Hu5) VH ở vị trí Kabat 60-61. Dựa trên mô hình tương đồng, sự thể Glu ở vị trí 60 được coi là bảo toàn cấu trúc. Do đó, sự thể D60E được thực hiện để giảm sự phân giải protein tiềm năng.

Q81E, để tăng độ ổn định nhiệt và tăng tính chất người. Glu được dự đoán là tạo ra liên kết H cộng với cầu nối muối bởi K19 do đó Glu tại vị trí này giúp tăng cường sự ổn định của kháng thể. Glu là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Glu trong gen dòng mầm người IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ (ID NO: 25) tại vị trí này.

L82cV để giảm khả năng gây miễn dịch. Phân tích in silico khả năng gây miễn dịch hu3D6VHv1bA11 (h3D6Hu5) được làm tương thích với người bằng cách sử dụng công cụ phân tích khả năng gây miễn dịch IEDB (cơ sở dữ liệu epitop miễn dịch) đã dự đoán peptit gây miễn dịch tiềm năng chứa L82c. Đột biến thể L82cV được thiết kế để giảm khả năng gây miễn dịch. Sự thể valin ở vị trí này bảo toàn cấu trúc vòng.

L80M, để giảm khả năng gây miễn dịch; và tăng tính chất người. Met là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Met trong gen dòng mầm của người IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ (ID NO: 25) tại vị trí này.

T83R để tăng độ ổn định nhiệt và tăng tính chất người. Arg là đột biến sắp thẳng hàng dòng mầm. Arg trong gen dòng mầm của người IMGT# IGHV1-69-2*01 (SEQ (ID NO: 25) tại vị trí này. Arg là thường xuyên nhất tại vị trí này.

Ví dụ 13. Phân tích các biến thể 3D6 được làm tương thích với người

Các biến thể 3D6 được làm tương thích với người với các đột biến thể khử miễn dịch được dự đoán đã được phân tích cho một số đặc điểm, bao gồm ái lực liên kết đích, hoạt tính trong các thử nghiệm trên cơ sở tế bào, độ ổn định nhiệt, đặc điểm biểu hiện và số lượng các đột biến thể. Trong tất cả các trường hợp, kết quả được so sánh với trình tự

gốc, hu3D6VHv1bA11/hu3D6VLv2 để xác định xem có bất kỳ sự mất hoạt tính hoặc độ ổn định nào được ghi nhận hay không.

Phân tích liên kết đích được thực hiện bằng cách sử dụng Biacore T200 để so sánh ái lực liên kết của các biến thể 3D6 được làm tương thích với người với tau tái tổ hợp của người 4R0N. Kháng thể kháng Fc người được cố định trên chip cảm biến CM3 thông qua phản ứng tạo cặp amin và các biến thể 3D6 được làm tương thích với người được bắt giữ ở mức tương đương. Các nồng độ khác nhau của tau tái tổ hợp của người 4R0N (trong khoảng từ 0,02 nM đến 12,5 nM) được cho đi qua phễu từ bị bắt giữ ở 50 μ L/phút trong đệm chạy (HBS + P-20 0,05%, BSA 1 mg/mL) trong 180 giây liên kết/420 giây phân ly là một chu kỳ duy nhất. Dữ liệu là mẫu trống được trừ cho cả cảm biến không liên quan không chứa kháng thể và nồng độ chất điện phân 0 nM. Phân tích được thực hiện bằng cách sử dụng mô hình chỉnh hợp chung 1:1 với phần mềm đánh giá Biacore.

Việc xác định ái lực cho thấy một số biến thể được khử miễn dịch giữ lại ái lực của hu3D6VHv1bA11/hu3D6VLv2 gốc, được xác định bằng cách so sánh K_D của mỗi kháng thể với K_D của hu3D6VHv1bA11/hu3D6VLv2 gốc. Các kháng thể được xác định là có K_D có thể so sánh được trong phạm vi 4 lần K_D của hu3D6VHv1bA11/hu3D6VLv2 (Bảng 15) bao gồm hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4, hu3D6VHv1bA11/L2-DIM9, hu3D6VHv1bA11/L2-DIM5, hu3D6VHv1bA11/L2-DIM3, h3D6VHvb8/L2-DIM4, hu3D6VHv1bA11/L2-DIM7, h3D6VHvb8/L2-DIM7, h3D6VHvb8/L2-DIM8, hu3D6VHv1bA11/L2-DIM12, hu3D6VHv1bA11/L2-DIM21, và hu3D6VHv1bA11/L2-DIM22. hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4 đã chứng minh ái lực được cải thiện, như được chứng minh bằng tốc độ liên hợp, tốc độ phân ly và số K_d , so với hu3D6VHv1bA11/ hu3D6VLv2 gốc.

Bảng 15. Ái lực của các biến thể được làm tương thích với người 3D6

Biến thể được làm tương thích với người 3D6	K_a (1/M s)	K_d (1/s)	K_D (M)
hu3D6VHv1bA11/ hu3D6VLv2	4,17E+06	7,40E-04	1,81E-10
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4	5,65E+06	5,35E-04	9,48E-11
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM9	4,63E+06	7,40E-04	1,60E-10
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM5	4,02E+06	7,35E-04	1,83E-10
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM3	3,93E+06	7,81E-04	1,99E-10

mềm gốc. Các giá trị được báo cáo là nhiệt độ mà tại đó nhiệt dung lớn nhất của pic Fab được ghi nhận.

Độ chuẩn được xác định như sau. Sau khi biểu hiện ở tế bào huyền phù 293, kháng thể được tinh chế bằng cách sử dụng sắc ký protein A sử dụng phương pháp tiêu chuẩn. Sau khi tinh chế, kháng thể được trao đổi vào 1xPBS và nồng độ protein được xác định bằng độ hấp thụ ở 280nm. Độ chuẩn được tính bằng cách chia hiệu suất cuối cùng của protein đã tinh chế cho thể tích ban đầu của môi trường biểu hiện, và được báo cáo theo đơn vị miligam trong mỗi lít. hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4 đã chứng minh độ ổn định nhiệt và độ chuẩn cao hơn so với hu3D6VHv1bA11/ hu3D6VLv2 gốc. Mức độ ổn định nhiệt và biểu hiện tạm thời (độ chuẩn) đều là những cân nhắc quan trọng đối với việc phát triển thuốc.

Bảng 16. Độ ổn định nhiệt và Độ chuẩn của các biến thể được làm tương thích với người 3D6

Biến thể được làm tương thích với người 3D6	T _m (°C)—phương sai so với hu3D6VHv1bA11/ hu3D6VLv2	độ chuẩn (mg/L)
hu3D6VHv1bA11/ hu3D6VLv2	0,00	456,00
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4	0,08	467,00
h3D6VHvb8/L2-DIM8	-0,38	301,00
h3D6VHvb8/L2-DIM4	-0,78	445,00
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM22	-1,23	570,00
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM9	-2,19	290,00
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM5	-3,34	383,00
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM7	-4,24	231,00
h3D6VHvb8/L2-DIM7	-4,83	271,00
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM3	-5,01	283,00
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM21	-5,17	81,00
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM12	-5,47	94,00

h3D6VHvb8/L2-DIM4	4,51E+06	1,02E-03	2,26E-10
h3D6VHvb8/L2-DIM7	4,31E+06	1,19E-03	2,75E-10
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM7	3,46E+06	9,71E-04	2,81E-10
h3D6VHvb8/L2-DIM8	3,28E+06	1,40E-03	4,27E-10
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM12	2,74E+06	1,33E-03	4,85E-10
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM21	2,15E+06	1,49E-03	6,96E-10
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM22	3,54E+06	2,51E-03	7,08E-10
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM1	3,02E+06	2,60E-03	8,59E-10
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM13	3,15E+06	2,85E-03	9,04E-10
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM-17	5,24E+10	5,42E+01	1,03E-09
h3D6VHvb8/L2-DIM1	6,19E+06	6,41E-03	1,04E-09
h3D6VHvb8/L2-DIM2	1,03E+10	1,46E+01	1,42E-09
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM6	3,08E+06	4,61E-03	1,49E-09
h3D6VHvb8/L2-DIM6	3,79E+09	5,67E+00	1,50E-09
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM14	7,69E+10	1,18E+02	1,53E-09
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM2	5,73E+06	9,33E-03	1,63E-09
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM19	3,28E+09	5,88E+00	1,79E-09
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM-18	1,51E+06	3,78E-03	2,51E-09
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM20	2,60E+05	9,35E-03	3,60E-08

Ngoài ra, như một đặc tính phụ, độ ổn định nhiệt và độ chuẩn đã được phân tích cho tất cả các biến thể đã khử miễn dịch. Mức độ ổn định nhiệt và độ chuẩn được so sánh đối với các kháng thể có thể so sánh với hu3D6VHv1bA11/hu3D6VLv2 dựa trên các phép đo ái lực và các kháng thể trong Bảng 16 được liệt kê theo thứ tự dựa trên phương sai so với T_m của hu3D6VHv1bA11/ hu3D6VLv2.

Giá trị độ ổn định nhiệt được xác định bằng cách sử dụng đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC). Tất cả các lần quét DSC được thực hiện bằng cách sử dụng hệ thống VP-Capillary DSC (Malvern). Tất cả các mẫu được điều chế đến 0,5 mg/ml trong 1xPBS và được tham chiếu đến 1xPBS. Xấp xỉ 0,5 ml dung dịch protein và chất đệm được đưa vào mẫu và tế bào tham chiếu. Tốc độ quét đo nhiệt lượng được thực hiện ở tốc độ quét là 60°C/giờ, từ 25°C đến 110°C dưới áp suất không đổi. Phân tích được thực hiện bằng cách sử dụng phần

Dựa trên phân tích các phát hiện được liệt kê ở trên, hoạt tính trung hòa của bảy kháng thể trong Bảng 16 được chọn để phân tích thêm trong mô hình nội tại hóa tau trên cơ sở tế bào: Các đột biến thể trong chuỗi nặng và chuỗi nhẹ liên quan đến hu3D6VHv1bA11/ hu3D6VLv2 gốc được ghi nhận.

Thử nghiệm nội tại hóa sử dụng phân loại tế bào đã hoạt hóa huỳnh quang (fluorescence activated cell sorting - FACS) được thực hiện để đánh giá khả năng của các kháng thể khác nhau để phong bế sự nội tại hóa thần kinh của tau. Kháng thể mà phong bế sự nội tại hóa sẽ có khả năng phong bế sự vận chuyển tau.

Các khối kết tụ tau hòa tan được tạo ra bằng cách ủ tau tái tổ hợp có chiều dài đầy đủ với lượng tương đương của heparin trọng lượng phân tử thấp trong 3 ngày ở 37 ° C. Sau khi ủ, tau không hòa tan và tau hòa tan được tách bằng cách ly tâm ở vận tốc 10.000xg trong 15 phút. Sau đó, phần nổi phía trên được phân giải bằng sắc ký loại trừ kích thước điều chế, và các pic kết tụ (lớn hơn 100 kDa) được thu thập và cô đặc. Để đo sự nội tại hóa, phân đoạn kết tụ hòa tan được đánh dấu bằng succinimidyl este pHrodo đỏ, chất này phát huỳnh quang khi nội tại hóa vào con đường endolysosom.

Tau người 4R0N được gắn nhãn pHrodo oligome hòa tan P301L (nồng độ cuối cùng 1,5 µg/ml) được ủ trước với các kháng thể kháng tau (độ chuẩn liều lượng: nồng độ bắt đầu 80 µg/ml sau đó là các dịch pha loãng theo dãy 4 lần) trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường nuôi cấy tế bào. Sau đó hỗn hợp tau/kháng thể được bổ sung vào các dòng tế bào u nguyên bào thần kinh B103 ở nồng độ cuối cùng 500.000 tế bào/ml và được ủ trong 3-4 giờ ở 37°C trong thiết bị ủ nuôi cấy tế bào (CO₂ 5%). Sau đó tế bào được rửa 3x bằng môi trường nuôi cấy, sau đó là ủ môi trường nuôi cấy 10 phút, và rửa 2x bằng chất đệm FACS (1% FBS trong PBS). Tế bào được tái tạo huyền phù trong 100 µl chất đệm FACS và cường độ huỳnh quang trung bình Đỏ Texnhu được đo bằng FACS LSR II. Huỳnh quang đỏ Texas từ pHrodo được hoạt hóa bằng độ pH thấp đi kèm với các khoang endolysosom khi nội tại hóa. Vì FACS phát hiện ra tế bào và pHrodo chỉ có huỳnh quang khi nội tại hóa, chỉ có tau được nội tại hóa bởi tế bào được phát hiện. Cường độ huỳnh quang trung bình càng thấp, lượng tau được nội tại hóa càng thấp, điều này cho thấy hoạt tính phong bế của kháng thể được thử nghiệm cao hơn.

Ngoại trừ hu3D6VHv1bA11/L2-DIM22, tất cả các biến thể được thử nghiệm đều thể hiện mức độ hoạt tính ức chế cao trong mô hình nội tại hóa tau ở nồng độ tương đương (Hình 11 và Bảng 17).

Bảng 17. Các biến thể 3D6 được làm tương thích với người được thử nghiệm trong thử nghiệm nội tại hóa Tau trên cơ sở tế bào

Biến thể được làm tương thích với người 3D6	Đột biến thể chuỗi nặng liên quan đến hu3D6VHv1bA11 gốc	Đột biến thể chuỗi nhẹ liên quan đến hu3D6VLv2 gốc	Sự ức chế nội tại hóa trên cơ sở tế bào (ở nồng độ kháng thể là 133 nM, % ức chế tín hiệu huỳnh quang cực đại $\pm$ độ lệch chuẩn)
hu3D6VHv1bA11/ hu3D6VLv2			87,2 $\pm$ 1,6
hu3D6VHv1bA11/ L2-DIM4		L37Q_S52G_L54R	92,2 $\pm$ 2,4
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM5		L37Q_S52G_L54T	92,7 $\pm$ 3,6
h3D6VHvb8/L2-DIM4	D60E	L37Q_S52G_L54R	89,4 $\pm$ 2,6
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM3		L37Q_S52G_L54G	87,4 $\pm$ 3,6
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM9		S52G	96 $\pm$ 3,5
h3D6VHvb8/L2-DIM7	D60E	L54G	93,2 $\pm$ 1,3
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM22		L50G	8,7 $\pm$ 8,6

Ví dụ 14. Tinh chỉnh bản đồ epitop của 3D6

Việc lập bản đồ peptit ban đầu chỉ ra rằng epitop đối với 3D6 nằm trong vùng lặp liên kết vi ống (MTBR, Hình 1). Hơn nữa, việc lập bản đồ peptit chỉ ra rằng 3D6 liên kết với nhiều vị trí trong MTBR, gợi ý là epitop lặp và không liên tục.

Do bản đồ peptit ban đầu được sử dụng cho các nghiên cứu trên epitop sử dụng các peptit gộp lên nhau gộp lên mà không chứa các đoạn lặp liên kết vi ống nguyên vẹn, việc lập bản đồ peptit bổ sung được thực hiện với các đoạn lặp vi ống nguyên vẹn riêng lẻ. Các peptit được biotin hóa tương ứng với các axit amin đối với đoạn lặp MTBR 1-4 được thêm vào đĩa ELISA phủ streptavidin, được rửa và phong bế trong BSA 1%/PBS. Sau đó ủ các lượng 3D6 khác nhau (trong khoảng từ 50 $\mu\text{g/ml}$ -10 ng/ml) trên đĩa. Sau khi rửa, HRP dê kháng chuột được thêm vào đĩa ELISA, rửa và phát triển bằng cách sử dụng OPD. Độ hấp thụ được phát hiện ở bước sóng 490 nm và các đường cong liên kết được chỉnh hợp bằng cách sử dụng đường cong log 4 tham số để xác định các giá trị EC50 (Bảng 18). Các MTBR liên kết 3D6 1-3 tương đối tương đương, với các giá trị EC50 tương ứng là 72,5, 35,5 và 25,1 ng/ml . Tuy nhiên, liên kết với MTBR 4 thấp hơn khoảng 60-170 lần, với EC50 biểu kiến là 4309 ng/ml . Các biến thể trình tự trong epitop lặp trong MTBR 4 so với các MTBR 1, 2, 3 và 4 có thể giải thích sự liên kết yếu hơn với MTBR 4.

Bảng 18

Đoạn lặp vi ống số	Axit amin (sử dụng cách đánh số đồng dạng tau có chiều dài đầy đủ SEQ ID NO:1)	EC50 (ng/ml kháng thể)
1	244-274	72,5
2	275-305	35,5
3	306-336	25,1
4	337-368	4309

Để làm rõ hơn là các axit amin cụ thể chịu trách nhiệm đối với liên kết 3D6, việc lập bản đồ đột biến thay thế thông qua vi mảng được thực hiện bằng cách sử dụng peptit NVKSKIGSTENLKHQPG (SEQ ID NO: 184), là trình tự cho các gốc 255-271 bằng cách sử dụng cách đánh số đồng dạng tau có chiều dài đầy đủ. Thử nghiệm này đã trao đổi mỗi axit amin trong trình tự peptit có tất cả 20 axit amin, để xác định với độ chính xác cao của epitop lõi cho 3D6. Vi mảng này được in với tất cả các peptit ba lần, cùng với các peptit đối chứng HA để đảm bảo hiệu suất thử nghiệm. Để thực hiện thử nghiệm, mảng này được ủ với 3D6 (10ug/ml) trong đệm phong bế, rửa bằng PBS-T, sau đó ủ với kháng thể dê kháng chuột thứ cấp được liên hợp với DyLight-680. Ngoài ra, vi mảng này được ủ với kháng thể kháng HA 12CA5 được liên hợp trực tiếp với DyLight-800. Các vi mảng được quét bằng cách sử dụng máy quét LiCor và cường độ của ba bản được tính trung bình.

Hiệu ứng thế cho từng gốc được tính toán bằng cách xác định tỷ lệ liên kết 3D6 bị mất khi gốc tự nhiên bị đột biến so với tổng tất cả 19 axit amin khác. Kết quả được lập đồ thị trong Hình 12A. Sự mất liên kết lớn hơn 50% (đường nét đứt) cho thấy gốc quan trọng đối với liên kết 3D6. Sự liên kết của peptit đoạn dò (các gốc 255-271 của đồng dạng 441aa) với 3D6 cho thấy kiểu thể epitop với motif lõi được bảo tồn KIGSTENLKH (SEQ ID NO: 188), được tạo khung bởi các đoạn đuôi đầu cùng N và C biến đổi NVKS (SEQ ID NO: 189) và QPG (SEQ ID NO: 190), cả hai đoạn này đều không quan trọng đối với việc liên kết. Trong epitop lõi này, các gốc không cho phép thế là Lys⁵, Asn¹¹ và His¹⁴; ngoài ra, vị trí 13 cho thấy khả năng chịu thế giảm đối với các gốc không phải là Lys và His. Ngoài các gốc quan trọng này, Ser⁸ chỉ cho phép thế hạn chế. Điều này dẫn đến một epitop không liên tục của KXXSXXNX (K/H) H (SEQ ID NO: 191) như được chỉ ra trong Hình 12B. Các phân thích hợp của các đoạn lặp liên kết vi ống tau được biểu diễn thẳng hàng, với các gốc liên kết 3D6 quan trọng được bôi đậm. Khi so sánh với các đoạn lặp vi ống trong tau, các gốc quan trọng có mặt trong tất cả các đoạn lặp, ngoại trừ vị trí áp chót trong epitop lõi (K/H, được ký hiệu bằng dấu ^). Ở vị trí này, đoạn lặp 4 chứa threonin, có thể chịu trách nhiệm cho việc liên kết ELISA 3D6 thấp hơn. Epitop lõi được xác định tại KIGSTENLKH (SEQ ID NO: 188, các gốc 259-268 nêu trong SEQ ID NO: 1, trong đoạn lặp MBTR 1), KCGSKDNIKH (SEQ ID NO: 192, các gốc 290-299 nêu trong SEQ ID NO: 1, trong đoạn lặp MBTR 2), KCGSLGNIHH (SEQ ID NO: 193, các gốc 321-330 nêu trong SEQ ID NO: 1, trong đoạn lặp MBTR 3), với ít liên kết hơn tại KIGSLDNITH (SEQ ID NO: 194, các gốc 353-362 nêu trong SEQ ID NO: 1, trong đoạn lặp MBTR 4).

Ví dụ 15 3D6 nhuộm liên kết các mẫu bệnh nhân từ bệnh nhân mắc bệnh Alzheimer, thử nghiệm hóa học mô miễn dịch.

Các khối khám nghiệm tử thi từ các mẫu não người mới đông lạnh (~ 0,5 g) được nhúng vào OCT, và cắt bằng cách sử dụng một máy ổn nhiệt để tạo ra các lát cắt 10 μm . Các lát cắt được đặt vào dung dịch glucoza oxidaza và beta D-glucoza, có mặt natri azit, để phong bế peroxidaza nội sinh. Sau khi các lát cắt mô được chuẩn bị, chúng được nhuộm bằng 3D6 ở các nồng độ được chỉ định bằng cách sử dụng polyme kháng nhuộm và kit phát hiện trên cơ sở DAB (kit phát hiện tinh chỉnh Leica BOND) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các kết quả được thể hiện trong Hình 13.

Trong mô AD, 3D6 liên kết các đặc điểm bệnh lý đặc trưng của tau, bao gồm các đám rối thần kinh cũng như các tế bào thần kinh loạn dưỡng. Ngoài ra, 3D6 liên kết tau nội bào hòa tan; điều này được thể hiện rõ ràng bởi sự nhuộm màu có mặt trong mô đối chứng khỏe mạnh bình thường.

Ví dụ 16. 3D6 nhuộm liên kết các khối kết tụ tau hòa tan, các thí nghiệm khối phổ MALDI khối lượng lớn liên kết chéo.

Để xác định xem 3D6 liên kết một tiểu đơn vị hay nhiều tiểu đơn vị tau, phép đo khối lượng lớn liên kết chéo MALDI đã được sử dụng để đánh giá hệ số tỷ lệ liên kết. Liên kết chéo cho phép phân tích trực tiếp tương tác không cộng hóa trị. Bằng cách trộn một mẫu protein chứa các tương tác không cộng hóa trị với một hỗn hợp liên kết chéo (Bich, C và các đồng tác giả Anal. Chem., 2010, 82 (1), trang 172–179), có thể phát hiện cụ thể phức hợp không cộng hóa trị với độ nhạy cao. Trong thử nghiệm này, sự tương tác giữa 3D6 với các khối kết tụ tau hòa tan đã được thử nghiệm. Các khối kết tụ tau hòa tan được tạo ra bằng cách ủ tau tái tổ hợp có chiều dài đầy đủ với lượng tương đương của heparin trọng lượng phân tử thấp trong 3 ngày ở 37°C. Sau khi ủ, tau không hòa tan và tau hòa tan được tách bằng cách ly tâm ở vận tốc 10.000xg trong 15 phút. Sau đó, phần nổi phía trên được phân giải bằng sắc ký loại trừ kích thước điều chế, và các pic kết tụ (lớn hơn 100 kDa) được thu thập và cô đặc.

3D6 được trộn với khối kết tụ tau hòa tan ở nhiều tỷ lệ khác nhau, và được phát hiện bằng phương pháp khối phổ MALDI khối lượng cao. Ngoài ra, các thí nghiệm đối chứng đã được thực hiện đối với các hợp phần riêng lẻ để cho phép gắn nhãn chính xác các pic

đã phát hiện. Phân tích được thực hiện ở chế độ tuyến tính dương với mô-đun tương tác HM4 (CovalX) với laser nito tiêu chuẩn, tập trung vào khoảng khối lượng từ 0-1500 kDa.

Các kết quả được thể hiện trong Hình 14. Trong kết quả đối chứng (không liên kết chéo), cả tau và 3D6 đều được phát hiện là các thực thể riêng lẻ có kích thước tương ứng là 40,93 và 146,938 kDa. Tuy nhiên, khi được liên kết chéo, pic kháng thể đối với 3D6 biến mất, trong khi hai pic mới xuất hiện đại diện cho tương tác 3D6 với một và hai kháng nguyên (tương ứng ở 194,788 và 228,963). Khi được phát hiện trong lớp phủ bên trong, pic 3D6 ở 146,938 kDa đáng chú ý là không có các mẫu được liên kết chéo. Dữ liệu này cho thấy rằng 3D6 liên kết rất mạnh với các khối kết tụ tau hòa tan, và thực hiện điều này thông qua liên kết của một hoặc hai phức hợp trên mỗi kháng thể.

Ví dụ 17. 3D6 chuột làm gián đoạn sự tạo mầm tau trong mô hình bệnh in vivo có liên quan đến bệnh lý học bệnh Alzheimer

Khả năng của 3D6 trong việc làm gián đoạn sự tạo mầm tau đã được nghiên cứu trong mô hình bệnh in vivo về sự lan truyền bệnh lý AD. Mầm bệnh được tạo ra bằng cách sử dụng dịch đồng nhất thân não từ chuột hTauP301L giai đoạn cuối, hoặc đối chứng kiểu hoang. Để gây ra bệnh lý, các mầm bệnh được tiêm một bên vào hồi hải mã của các con chuột 3,5 tháng tuổi, trước khi bắt đầu tiên triển của bệnh lý tự nhiên. Để kiểm tra khả năng tác động của kháng thể đối với việc tạo mầm của tau, các kháng thể được ủ trước trước khi tiêm. Sau một tháng, lượng mầm ở mặt bên của chuột được đánh giá bằng khả năng phản ứng miễn dịch AT8; số lượng tế bào thần kinh trên mỗi phần trong hồi hải mã đã được xác định.

Các kết quả được thể hiện trong Hình 15. So với đối chứng isotyp, việc ủ trước mầm tau với 3D6 có thể làm giảm đáng kể số lượng mầm được phát hiện ở chuột sau một tháng, cho thấy là sự gián đoạn của quá trình nội tại hóa tau gần vị trí tiêm và cho thấy rằng 3D6 có thể làm giảm khả năng hấp thụ và truyền bệnh của tau.

Ví dụ 18. 3D6 chuột và các biến thể được làm tương thích với người làm gián đoạn tương tác giữa tau với heparin in vitro

Một số nghiên cứu chỉ ra rằng sự nội tại hóa của tau vào tế bào được trung gian thông qua tương tác ban đầu giữa tau với các proteoglycan heparin sulfat liên kết trên bề mặt (HSPG), và sự tương tác này là bước khởi đầu cần thiết dẫn đến sự hấp thụ, tạo mầm và truyền bệnh của tau (Holmes và đồng tác giả, PNAS, 110 (33), 2013; Katsinelos và đồng

tác giả, Cell Rep, 23, 2018). Do đó, một đặc tính thuận lợi của kháng thể kháng tau điều trị sẽ là khả năng phong bế sự tương tác giữa tau và heparin có trên bề mặt tế bào.

Để kiểm tra khả năng các biến thể 3D6 của chuột và các biến thể được làm tương thích với người làm gián đoạn tương tác giữa tau với heparin, trước tiên các đĩa ELISA phủ heparin trọng lượng phân tử thấp được phong bế bằng BSA 2% trong PBS trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Các đĩa được rửa bằng TBST. Sau khi phong bế, các đĩa được ủ với tau tái tổ hợp được biotin hóa với nồng độ chỉ định của kháng thể không gắn nhãn trong BSA 1%/PBS trong một giờ ở nhiệt độ trong phòng. Các đĩa được rửa lại lần nữa, và sau đó được ủ với streptavidin-HRP trong BSA 0,1%/PBS trong 45 phút. Sau đó các đĩa được rửa và phát triển bằng OPD, và độ hấp thụ được đo ở bước sóng 490nm. Các đường cong ức chế được phân tích bằng cách sử dụng mô hình chỉnh hợp log 4 tham số.

Các kết quả được chỉ ra trong Hình 16 và Bảng 19. 3D6 chuột, cũng như dạng được làm tương thích với người được thử nghiệm trong thử nghiệm này cho thấy khả năng phong bế tương tác tau/heparin, cho thấy rằng epitop 3D6 rất quan trọng đối với tương tác này, và rằng các kháng thể có thể ức chế tương tác này. Điều này cho thấy khả năng làm gián đoạn sự hấp thụ tau vào tế bào. Mặc dù tất cả các kháng thể được thử nghiệm đều cho thấy hoạt tính ức chế, nhưng biến thể hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4 vẫn giữ hoạt tính gần với dạng kháng thể của chuột hơn ($IC_{50}=422,7$ pM, so với 409,2 pM đối với chuột). Ngược lại, hu3D6VHv1bA11/hu3D6VLv2 cho thấy hoạt tính ức chế thấp hơn ($IC_{50} = 564,6$ pM), so với hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4, cho thấy hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4 có mức độ duy trì các đặc tính kháng thể chuột cao hơn và gợi ý sự cải thiện hoạt tính ức chế của hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4 do các biến thể axit amin trong CDR của chuỗi nhẹ.

Bảng 19

Kháng thể	IC_{50} (pM)
3D6 chuột	409,2
hu3D6VHv1bA11/ hu3D6VLv2	564,6
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4	422,7

Ví dụ 19. Các biến thể được làm tương thích với người 3D6 liên kết dạng sợi của tau

Các sợi tau tái tổ hợp được tạo ra bằng cách ủ với lượng tương đương heparin có trọng lượng phân tử thấp với tau lặp 4 (“sợi tau”) hoặc phát triển tạo mầm tau lặp 3 và tau lặp 4 (“sợi hỗn hợp”). Tau được ủ trong 3-5 ngày ở 37 °C. Để phân lập các sợi, các mẫu đã chuẩn bị được ly tâm siêu tốc ở tốc độ 100.000xg trong 30 phút. Viên kết được tạo huyền phù lại ở thể tích ban đầu của chúng trước khi bảo quản ở -80 °C trước khi sử dụng.

Các đĩa ELISA được phủ bằng các sợi được tạo thành từ trước (qua đêm ở 4°C trong dung dịch đệm cacbonat-bicacbonat 50 mM, pH 9,6), rửa và phong bế bằng BSA 1% trong PBS. Sau khi phong bế, các đĩa được ủ với nồng độ chỉ định của kháng thể chính được biotin hóa trong BSA 0,1%/PBS trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Các đĩa được rửa, và sau đó được ủ với streptavidin-HRP trong BSA 0,1%/PBS trong 45 phút. Các đĩa sau đó được rửa và phát triển bằng OPD, và độ hấp thụ được đo ở bước sóng 490 nm. Các đường cong liên kết được phân tích bằng cách sử dụng mô hình chỉnh hợp log 4 tham số.

Các kết quả được thể hiện trong Hình 17 và Bảng 20. Cả hai dạng 3D6 được làm tương thích với người được thử nghiệm trong thử nghiệm này đều cho thấy sự liên kết chặt chẽ với các dạng sợi của tau, cho dù các sợi chỉ chứa tau 4R hay cả tau 3R và 4R. Biến thể hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4 thể hiện ưu tiên liên kết với cả hai loài ($EC_{50} = 191,8$ pM) so với hu3D6VHv1bA11/hu3D6VLv2 ($EC_{50} = 236,7$ pM), cho thấy sự cải thiện khả năng liên kết của hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4 do các biến thể axit amin trong CDR của chuỗi nhẹ.

Bảng 20

Kháng thể	Liên kết với sợi tau 4R: EC_{50} (pM)
hu3D6VHv1bA11/L2-DIM4	191,8
hu3D6VHv1bA11/ hu3D6VLv2	236,7

Ví dụ 20. Các CDR đại diện

Các CDR đại diện của kháng thể theo sáng chế trong Bảng 21.

Bảng 21: Các CDR đại diện

CDR và định nghĩa	Trình tự axit amin CDR	SEQ ID NO:	VH hoặc VL đại diện mà trong đó CDR có mặt
Kabat/Chothia HCDR1	GFNIKDYYLH	8	3D6 VH chuột
Kabat HCDR2	WIDPENGDTVYDPKFQG	9	3D6 VH chuột
Kabat HCDR3:	LDF	10	3D6 VH chuột
Kabat LCDR1	KSSQSLLDSDGKTYLN	12	3D6 VL chuột
Kabat LCDR2	LVSKLDS	13	3D6 VL chuột
Kabat LCDR3:	WQGTHFPYT	14	3D6 VL chuột
CDR-H1 Kabat	DYYLH	32	3D6 VH chuột
CDR-H1 Chothia	GFNIKDY	33	3D6 VH chuột
CDR-H2 Chothia	DPENG	34	3D6 VH chuột
CDR-H2 AbM	WIDPENGDTV	35	3D6 VH chuột
CDR-L1 Contact	KTYLNWL	36	3D6 VL chuột
CDR-L2 Contact	RLIYLVSKLD	37	3D6 VL chuột
CDR-L3 Contact	WQGTHFPY	38	3D6 VL chuột
CDR-H1 Contact	KDYYLH	39	3D6 VH chuột
CDR-H2 Contact	WIGWIDPENGDTV	40	3D6 VH chuột

CDR và định nghĩa	Trình tự axit amin CDR	SEQ ID NO:	VH hoặc VL đại diện mà trong đó CDR có mặt
CDR-H3 Contact	STLD	41	3D6 VH chuột
Kabat-Chothia CDR-H1	GFTIKDYLLH	42	hu3D6VHv5, hu3D6VHv1bA11B6G2, hu3D6VHv1bA11B6H3, hu3D6VHv1e, và hu3D6VHv1f
Kabat CDR-H2	WIDPEDGDTVYAPKFQG	43	hu3D6VHv5 và hu3D6VHv1bA11B6H3
Kabat-Chothia CDR-H1	GFNFKDYLLH	58	hu3D6VH1c
Kabat-Chothia CDR-H1	GYTFTDYLLH	59	hu3D6VHv1d, hu3D6VHv3c, và hu3D6VHv4c
Kabat-Chothia CDR-H1	GYNFKDYLLH	60	hu3D6VHv3b và hu3D6VHv4b
Kabat CDR-H2	WVDPEDGDTVYAPKFQG	61	hu3D6VHv1bA11B6G2
Kabat CDR-H2	WIDPENGDTVYDEKFQG	62	hu3D6VHv1c, hu3D6VHv3b, và hu3D6VHv4b
Kabat CDR-H2	WVDPEDGDTVYAEKFQG	63	hu3D6VHv1d, hu3D6VHv1f, hu3D6VHv3c, và hu3D6VHv4c
Kabat CDR-H2	WIDPENGDTVYAEKFQG	64	hu3D6VHv1e
Kabat CDR-H3	LDY	65	hu3D6VHv1f
CDR-H1 Tổ hợp Kabat/Chothia	GLNIKDYIIH	67	6A10 VH chuột

CDR và định nghĩa	Trình tự axit amin CDR	SEQ ID NO:	VH hoặc VL đại diện mà trong đó CDR có mặt
Kabat CDR-H2	WIDPENDDTEYAPKFQG	68	6A10 VH chuột
Kabat CDR-H3	LDY	69	6A10 VH chuột
CDR-H1 Tổ hợp Kabat-Chothia	GFTIKDY ² YLH	86	hu3D6VHvb4 và hu3D6VHvb5
Kabat CDR-H2	WIDPENGDTIYDPKFQG	87	hu3D6VHvb3 và hu3D6VHvb4
Kabat CDR-H2	WIDPEDGETIYDPKFQG	88	hu3D6VHvb5
Kabat CDR-L1	RSSQSLLDSDGKTYLN	89	hu3D6VLvb3
Kabat CDR-H2	WIDPEDGETVYDPKFQG	92	hu3D6VHvb6 và hu3D6VHvb7
Kabat CDR-H2	WIDPENGDTVYEPKFQG	149	h3D6VHvb8 và h3D6VHvb9
Kabat CDR-L2	LVSKDDS	150	hu3D6VLv2 L54D và hu3D6VLv2 L37Q_L54D
Kabat CDR-L2	LVSKGDS	151	hu3D6VLv2 L54G và hu3D6VLv2 L37Q_L54G
Kabat CDR-L2	LVSKNDS	152	hu3D6VLv2 L54N
Kabat CDR-L2	LVSKEDS	153	hu3D6VLv2 L54E và hu3D6VLv2 L37Q_L54E
Kabat CDR-L2	EVSKLDS	154	hu3D6VLv2 L50E
Kabat CDR-L2	LVSKQDS	155	hu3D6VLv2 L54Q
Kabat CDR-L2	DVSKLDS	156	hu3D6VLv2 L50D và hu3D6VLv2 L37Q_L50D
Kabat CDR-L2	LVSKKDS	157	hu3D6VLv2 L54K
Kabat CDR-L2	LVSKRDS	158	hu3D6VLv2 L54R và hu3D6VLv2 L37Q_L54R
Kabat CDR-L2	LVSKTDS	159	hu3D6VLv2 L54T và hu3D6VLv2 L37Q_L54T

CDR và định nghĩa	Trình tự axit amin CDR	SEQ ID NO:	VH hoặc VL đại diện mà trong đó CDR có mặt
Kabat CDR-L2	GVSKLDS	160	hu3D6VLv2 L50G và hu3D6VLv2 L37Q_L50G
Kabat CDR-L2	LVSKVDS	161	hu3D6VLv2 L54V
Kabat CDR-L2	LVSKSDS	162	hu3D6VLv2 L54S
Kabat CDR-L2	LVGKLDS	163	hu3D6VLv2 S52G và hu3D6VLv2 L37Q_S52G
Kabat CDR-L2	VVSKLDS	164	hu3D6VLv2 L50V
Kabat CDR-L2	GVSKRDS	165	hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R và hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q
Kabat CDR-L2	GVSKGDS	166	hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G và hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q
Kabat CDR-L2	LVGKGDS	167	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G
Kabat CDR-L2	LVGKRDS	168	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R và hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q
Kabat CDR-L2	LVGKTDS	169	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T
Kabat CDR-L2	LVGKDDS	170	hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D và hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q

CDR và định nghĩa	Trình tự axit amin CDR	SEQ ID NO:	VH hoặc VL đại diện mà trong đó CDR có mặt
Kabat CDR-L2	DVSKGDS	171	trong hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G và hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q
Kabat CDR-L2	DVSKRDS	172	hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R và hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q
Kabat CDR-L2	EVSKGDS	173	hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G
Kabat CDR-L2	EVSKRDS	174	hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R
Kabat CDR-L2	VVSKDDS	175	hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q

Danh mục trình tự

P10636-8 (SEQ ID NO:1)

MAEPRQEFVMEHDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKESPL
 QTPTEDGSEEPGSETSDAKSTPTAEDVTAPLVDEGAPGKQAAAQPHTEIPEGTTA
 EEAGIGDTPSLEDEAAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRG
 AAPPGQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRRT
 PSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPLKKNVSKIGSTENLKH
 QPGGGKVQIINKKLDLSNVQSKCGSKDNIKHVPGGGSVQIVYKPVDSLKVTSKC
 GSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLDFKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLT
 FRENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSRHL SNVSSTGSIDMVDSPQLATLADEV
 SASLAKQGL

P10636-7 (SEQ ID NO:2)

MAEPRQEFVMEHDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKESPL
 QTPTEDGSEEPGSETSDAKSTPTAEAEAGIGDTPSLEDEAAAGHVTQARMVSKSK
 DGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAPPGQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSG
 EPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAKSRL
 QTAPVPMPLKKNVSKIGSTENLKHQPGGGKVQIINKKLDLSNVQSKCGSKDNI
 KHVPGGGSVQIVYKPVDSLKVTSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLDFKDRVQ
 SKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFRENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSR
 HLSNVSSTGSIDMVDSPQLATLADEVSAASLAKQGL

P10636-6 (tau người 4R0N) (SEQ ID NO:3)

MAEPRQEFVMEHDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKAEE
 AGIGDTPSLEDEAAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAA
 PPGQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRRTPSL
 PTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPLKKNVSKIGSTENLKHQ
 PGGKVQIINKKLDLSNVQSKCGSKDNIKHVPGGGSVQIVYKPVDSLKVTSKCGS
 LGNIHHKPGGGQVEVKSEKLDFKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFR
 ENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSRHL SNVSSTGSIDMVDSPQLATLADEVSA
 SLAKQGL

P10636-5 (SEQ ID NO:4)

MAEPRQEFVMEHDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKESPL
 QTPTEDGSEEPGSETSDAKSTPTAEDVTAPLVDEGAPGKQAAAQPHTEIPEGTTA
 EEAGIGDTPSLEDEAAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRG
 AAPPGQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRRT
 PSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPLKKNVSKKIGSTENLKH
 QPGGGKVQIVYKPVLDLSKVTSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLDFKDRVQSK
 IGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFRENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSRHL
 SNVSSTGSIDMVDSPQLATLADEVSAKQGL

P10636-4 (SEQ ID NO:5)

MAEPRQEFVMEHDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKESPL
 QTPTEDGSEEPGSETSDAKSTPTAEAEAGIGDTPSLEDEAAAGHVTQARMVSKSK
 DGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAAPPGQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSG
 EPPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRRTPSLPTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAKSRL
 QTAPVPMPLKKNVSKKIGSTENLKHQPGGGKVQIVYKPVLDLSKVTSKCGSLGNI
 HHKPGGGQVEVKSEKLDFKDRVQSKIGSLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFRENA
 KAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSRHL SNVSSTGSIDMVDSPQLATLADEVSAKQGL

P10636-2 (SEQ ID NO:6)

MAEPRQEFVMEHDHAGTYGLGDRKDQGGYTMHQDQEGDTDAGLKAE
 AGIGDTPSLEDEAAAGHVTQARMVSKSKDGTGSDDKKAKGADGKTKIATPRGAA
 PPGQKGQANATRIPAKTPPAPKTPPSSGEPKSGDRSGYSSPGSPGTPGSRRTPSL
 PTPPTREPKKVAVVRTPPKSPSSAKSRLQTAPVPMPLKKNVSKKIGSTENLKHQ
 PGGKVQIVYKPVLDLSKVTSKCGSLGNIHHKPGGGQVEVKSEKLDFKDRVQSKIG
 SLDNITHVPGGGNKKIETHKLTFRENAKAKTDHGAEIVYKSPVVSGDTSRHL SN
 VSSTGSIDMVDSPQLATLADEVSAKQGL

SEQ ID NO:7; Trình tự axit amin VH 3D6 chuột nhắt:

EVQLQQSGADLVRPGALVKLSCKASGFNIKDYLLHWVRQRPEQGLEWIG
 WIDPENGDTVYDPKFQGGKATITADTSSNTAYLQLGSLTSEDVAVYFCSTLDFWG
 QGTTLTVSS

SEQ ID NO:8; HCDR1 Kabat/Chothia:

GFNIKDYYLH

SEQ ID NO:9; HCDR2 Kabat:

WIDPENGDTVYDPKFQG

SEQ ID NO:10; HCDR3 Kabat:

LDF

SEQ ID NO:11; Trình tự axit amin VL 3D6 chuột nhắt:

DVVMQTQPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPKR
LIYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTHFPYTFGGG
TKLEIK

SEQ ID NO:12; LCDR1 Kabat chuột nhắt:

KSSQSLLDSDGKTYLN

SEQ ID NO:13; LCDR2 Kabat chuột nhắt:

LVSKLDS

SEQ ID NO:14; LCDR3 Kabat chuột nhắt:

WQGTHFPYT

SEQ ID NO:15; hu3D6VHv1:

EVQLVQSGAEVVRPGALVKVSCKASGFNIKDYYLHWVRQAPEQGLEWIG
WIDPENGDTVYDPKFQGGKATITADTSTNTAYLQLSSLTSEDNAVYFCSTLDFWGQ
GTLVTVSS

SEQ ID NO:16; hu3D6VHv2:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGFNIKDYYLHWVRQAPEQGLEWM
GWIDPENGDTVYDPKFQGRVTITADTSTNTAYMELSSLTSEDNAVYYCSTLDFW
GQGTLVTVSS

SEQ ID NO:17; hu3D6VHv1b:

EVQLVQSGAEVVRPGALVKISCKASGFNIKDYYLHWVRQRPEQGLEWIG
WIDPENGDTVYDPKFQGGKATITADTSTNTAYLQLGSLTSEDNAVYFCSTLDFWG
QGTLVTVSS

SEQ ID NO:18; hu3D6VHv1bA11:

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYHLHWVRQRPQGGLWIG
WIDPENGDTVYDPKFQGRATITADTSTDYALQLGSLTSEDYAVYFCSTLDFWG
QGTLVTVSS

SEQ ID NO:19; hu3D6VHv5:

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYHLHWVRQRPQGGLWIG
WIDPEDGDTVYAPKFQGRATITADTSTDYALQLGSLTSEDYAVYFCSTLDFWG
QGTLVTVSS

SEQ ID NO:20; hu3D6VLv1:

DVVMQTQSPLSLSVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPKR
LIYLVSKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG
TKLEIK

SEQ ID NO:21; hu3D6VLv2:

DVVMQTQSPLSLPVTGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPRR
LIYLVSKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG
TKLEIK

SEQ ID NO:22; hu3D6VLv3:

DVVMQTQSPLSLPVTGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPRR
LIYLVSKLD SGVPSRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG
TKLEIK

SEQ ID NO:23; hu3D6VLv4:

DIVMTQTPLSLSVTIGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQKPGQSPKRL
IYLVSKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGT
KLEIK

SEQ ID NO:24; trình tự nhận biến đổi chuỗi nặng Acc.# BAC01986.1

QVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFGSYAIHWVRQAPGQGLEWM
GRIIPILGIATYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMDLSSLRSEDTAVYYCARGKGEFE
GMDVWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO:25; trình tự nhận biến đổi chuỗi nặng Acc.# IMG1# IGHV1-69-2*01

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFDYYMHWVQQAPGKGLEWM
GLVDPEDGETIYAEKFQGRVTITADTSTDYAYMELSSLRSEDTAVYYCAT

SEQ ID NO:26; trình tự nhận biến đổi chuỗi nặng Acc.# IMGJ#IGKJ1*01

QHWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:27; trình tự nhận biến đổi chuỗi nhẹ Acc. # IMGJ#IGKV2-30*02
Acc. # IMGJ#IGKV2-30*02

DVVMQTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLNWFQQRPGQSPRR
LIYKVSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTTHWP

SEQ ID NO:28; trình tự nhận biến đổi chuỗi nhẹ Acc. # IMGJ#IGKJ2*01

YTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO:29; trình tự nhận biến đổi chuỗi nhẹ Acc. # AAZ09048.1

DVVMQTQSPLSLTVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYLNWFQQRPGQSPRR
LIYRVSHWDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTYWPLTFGQ
GTKLEIK

SEQ ID NO:30; Trình tự axit nucleic VH 3D6 chuột nhắt:

GAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGACCTTGTGAGGCCAGGGGCC
TTAGTCAAGTTGTCCTGCAAAGCTTCTGGCTTCAACATTAAAGACTACTATTT
GCACTGGGTGAGGCAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAGTGGATTGGATGGATT
GATCCTGAGAATGGTGATACTGTATATGACCCGAAGTTCCAGGGCAAGGCCA
CTATAACAGCAGACACATCCTCCAATACAGCCTACCTGCAGCTCGGCAGCCT
GACATCTGAGGACACTGCCGTCTATTTCTGTTCTACCCTTGACTTCTGGGGCC
AAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID NO:31; Trình tự axit nucleic VL 3D6 chuột nhắt:

GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCACTTTGTGCGGTTACCATTTGGAC
AACCAGCCTCCATCTCTTGCAAGTCAAGTCAGAGCCTCTTAGATAGTGATGG
AAAGACATATTTGAATTGGTTGTTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCGC
CTAATCTATCTGGTGTCTAAACTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTCACTGG
CAGTGGATCAGGGACAGATTTTCACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGA

GGATTTGGGAGTTTATTATTGCTGGCAAGGTACACATTTTCCGTACACGTTTCG
GAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAAACGT

SEQ ID NO:32; CDR-H1 Kabat chuột nhắt

DYYLH

SEQ ID NO:33; CDR-H1 Chothia chuột nhắt

GFNIKDY

SEQ ID NO:34; CDR-H2 Chothia chuột nhắt

DPENGD

SEQ ID NO:35; CDR-H2 AbM chuột nhắt

WIDPENGDTV

SEQ ID NO:36; CDR-L1 Contact chuột nhắt

KTYLNWL

SEQ ID NO:37; CDR-L2 Contact chuột nhắt

RLIYLVSKLD

SEQ ID NO:38; CDR-L3 Contact chuột nhắt

WQGTHFPY

SEQ ID NO:39; CDR-H1 Contact chuột nhắt

KDYYLH

SEQ ID NO:40; CDR-H2 Contact chuột nhắt

WIGWIDPENGDTV

SEQ ID NO:41; CDR-H3 Contact chuột nhắt

STLD

SEQ ID NO:42; CDR-H1 Kabat-Chothia khác

GFTIKDYYLH

SEQ ID NO:43; CDR-H2 Kabat khác

WIDPEDGDTVYAPKFQG

SEQ ID NO:44; trình tự axit amin VH liên ứng từ Hình 2 của
PCT/IB2017/052544

EVQLVQSGAEVVPXGALVKISCKASGFNIKDYHLHWVRQRPEQGLEWIG
WIDPENGDTVYDPKFQGXATITADTSTNTAYLQLGSLTSEDTAVYFCSTLDFWG
QGTLVTVSS

SEQ ID NO:45; trình tự axit amin VL liên ứng từ Hình 3 của PCT/IB2017/052544

DVVMVTQSPLSLSVTLGQPASISCKSSQSLLDSGKTYLNWLLQRPGQSPKR
LIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGG
TKLEIKR

SEQ ID NO:46; hu3D6VHv1bA11B6G2:

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYHLHWVRQRPGKGLEWIG
WVDPEDGDTVYAPKFQGRATITADTSTDYALELGSLSLSEDTAVYFCSTLDFWG
QGTLVTVSS

SEQ ID NO:47; hu3D6VHv1bA11B6H3:

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYHLHWVRQRPGKGLEWIG
WIDPEDGDTVYAPKFQGRATITADTSTDYALELGSLSLSEDTAVYFCSTLDFWGQ
GTLVTVSS

SEQ ID NO:48; hu3D6VHv1c:

EVQLVQSGAEVKRPGALVKISCKASGFNFKDYHLHWVRQRPEQGLEWM
GWIDPENGDTVYDEKFQGRVTITADTSTNTAYLQLGSLTSEDTAVYFCSTLDFW
GQGTLVTVSS

SEQ ID NO:49; hu3D6VHv1d:

EVQLVQSGAEVKRPGALVKISCKASGYTFTDYHLHWVRQRPEQGLEWM
GWVDPEDGDTVYAEKFQGRVTITADTSTNTAYLQLGSLTSEDTAVYFCSTLDFW
GQGTLVTVSS

SEQ ID NO:50; hu3D6VHv1e:

EVQLVQSGADVVKPGALVKISCKASGFTIKDYHLHWVRQRPEQGLEWIGW
IDPENGDTVYAEKFQGRVTITADTSTNTAYLeLGSLSLSEDTAVYFCSTLDFWGQG
TTLTVSS

SEQ ID NO:51; hu3D6VHv1f:

EVQLVQSGADVVKPGALVKISCKASGFTIKDYLLHWVRQRPQGLEWIG
WVDPEDGDTVYAEKFQGRVTITADTSTDATAYMELGSLTSEDATVYFCSTLDYW
GQGTTTLTVSS

SEQ ID NO:52; hu3D6VHv3:

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFNIKDYLLHWVRQAPGKGLEWM
GWIDPENGDTVYDPKFQGRVTITADTSTDATAYMELSSLRSEDATVYYCSTLDFW
GQGTLVTVSS

SEQ ID NO:53; hu3D6VHv3b:

EVQLVQSGAEVKKPGALVKISCKVSGYNFKDYLLHWVRQAPGKGLEWM
GWIDPENGDTVYDEKFQGRVTITADTSTNTAYMELGSLRSEDATVYYCSTLDFW
GQGTLVTVSS

SEQ ID NO:54; hu3D6VHv3c:

EVQLVQSGAEVKKPGALVKISCKVSGYTFTDYLLHWVRQAPGKGLEWM
GWVDPEDGDTVYAEKFQGRVTITADTSTNTAYMELGSLRSEDATVYYCSTLDF
WGQGTLVTVSS

SEQ ID NO:55; hu3D6VHv4:

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKVSGFNIKDYLLHWVRQRPKGLEWIG
WIDPENGDTVYDPKFQGKATITADTSTNTAYLELGSLTSEDATVYYCSTLDFWG
QGTLVTVSS

SEQ ID NO:56; hu3D6VHv4b:

EVQLVQSGAEVVKPGALVKISCKVSGYNFKDYLLHWVRQRPKGLEWM
GWIDPENGDTVYDEKFQGRVTITADTSTDATAYLELGSLTSEDATVYYCSTLDFW
GQGTLVTVSS

SEQ ID NO:57; hu3D6VHv4c:

EVQLVQSGAEVVKPGALVKISCKVSGYTFTDYLLHWVRQRPKGLEWM
GWVDPEDGDTVYAEKFQGRVTITADTSTDATAYLELGSLTSEDATVYYCSTLDFW
GQGTLVTVSS

SEQ ID NO:58; CDR-H1 Kabat-Chothia khác (như trong hu3D6VH1c).

GFNFKDYLLH

SEQ ID NO:59; CDR-H1 Kabat-Chothia khác (như trong hu3D6VHv1d, hu3D6VHv3c, và hu3D6VHv4c).

GYTFTDYLLH

SEQ ID NO:60; CDR-H1 Kabat-Chothia khác (như trong hu3D6VHv3b và hu3D6VHv4b)

GFNFKDYLLH

SEQ ID NO:61; CDR-H2 Kabat khác (như trong hu3D6VHv1bA11B6G2).

WVDPEDGDTVYAPKFQG

SEQ ID NO:62, CDR-H2 Kabat khác (như trong hu3D6VHv1c, hu3D6VHv3b, và hu3D6VHv4b).

WIDPENGDTVYDEKFQG

SEQ ID NO:63; CDR-H2 Kabat khác (như trong hu3D6VHv1d, hu3D6VHv1f, hu3D6VHv3c, và hu3D6VHv4c).

WVDPEDGDTVYAEKFQG

SEQ ID NO:64; CDR-H2 Kabat khác (như trong hu3D6VHv1e).

WIDPENGDTVYAEKFQG

SEQ ID NO:65; CDR-H3 Kabat khác (như trong hu3D6VHv1f)

LDY

SEQ ID NO:66; vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 6A10 chuột nhất.

EVQLQQSGAELVRSGASVKLSCTASGLNIKDYYIHWVKQRPEQGLEWIG
WIDPENDDTEYAPKFQGRATLTDTSSNTAYLQLSSLTSEDVAVYYCTPLDYWG
QGTSVTVSS

SEQ ID NO:67; CDR-H1 tổ hợp Kabat/Chothia của kháng thể 6A10 chuột nhất.

GLNIKDYYIH

SEQ ID NO:68; CDR-H2 Kabat của kháng thể 6A10 chuột nhất.

WIDPENDDTEYAPKFQG

SEQ ID NO:69; CDR-H3 Kabat của kháng thể 6A10 chuột nhắt

LDY

SEQ ID NO:70; khuôn cấu trúc Mus VH (PDB#1CR9_H)

KVKLQQSGAELVRSGASVKLSCTASGFNIKDYIYWVKQRPEQGLEWIG
WIDPENGNSYAPRFQGKATMTADTLSNTAYLQLSSLTSEDVAVYYCNADLHDY
WGQGTTLTVSS

SEQ ID NO:71; trình tự axit amin VH liên ứng từ các Hình 4A và 4B của
PCT/IB2017/052544

EVQLVQSGAEVVKPGALVKISCKASGFNIKDYIYLHWVRQRPGQGLEWIG
WIDPENGDVYDPKFQGRVTITADTSTNTAYLELGSLTSEDVAVYFCSTLDFWGQ
GTLVTVSS

SEQ ID NO:72; chuỗi nặng của kháng thể 3D6 khảm

EVQLQQSGADLVRPGALVKLSCKASGFNIKDYIYLHWVRQRPEQGLEWIG
WIDPENGDVYDPKFQGKATITADTSSNTAYLQLGSLTSEDVAVYFCSTLDFWG
QGTTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:73; chuỗi nhẹ của kháng thể 3D6 khảm

DVVMQTQTPPLTSVTIGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPGQSPKR
LIYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVIYCWQGTHFPYTFGGG
TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNR
GEC

SEQ ID NO:74; trình tự axit amin của mô hình cấu trúc biến đổi chuỗi nặng Acc.#
5MYX-VH_mSt

EVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYIFNNYWINWVKQRPGQGLEWIG
IYPGDGDTNYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCAREGYIVY
WGQGTLVTVSA

SEQ ID NO:75; trình tự axit amin của trình tự nhận biến đổi chuỗi nặng Acc.#
2RCS-VH_huFrwk

QVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYMHWVKQRPEQGLEWIG
RIDPANGNTKYDPKFQGGKATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCASYGIIW
GQGTTTLTVSS

SEQ ID NO:76; trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể
3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHvb1

QVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDYLLHWVKQRPEQGLEWIG
WIDPENGDTVYDPKFQGGKATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYFCSTLDFWGQ
GTTTLTVSS

SEQ ID NO:77; trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6
được làm tương thích với người hu3D6VHvb2

EVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPKGKLEWIG
WIDPENGDTVYDPKFQGRATITADTSTDYAYLELSSLTSEDTAVYFCSTLDFWGQ
GTLVTVSS

SEQ ID NO:78; trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể
3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHvb3

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPKGKLEWIG
WIDPENGDTIYDPKFQGRATITADTSTDYAYMELSSLRSEDTAVYYCSTLDFWGQ
GTLVTVSS

SEQ ID NO:79; trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể
3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHvb4

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYLLHWVRQRPKGKLEWIG
WIDPENGDTIYDPKFQGRVTITADTSTDYAYMELSSLRSEDTAVYYCSTLDFWGQ
GTLVTVSS

SEQ ID NO:80; trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHvb5

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYHLHWVRQRPGLGLEWIG
WIDPEDGETIYDPKFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCSTLDFWGQ
GTLVTVSS

SEQ ID NO:81; trình tự axit amin của chuỗi nhẹ mô hình cấu trúc biến đổi Acc.#
5MYX-VL_mSt

DVVLTQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWLLQRPGQSPKR
LIYVVS KLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCVQGTHFPFTFGSG
TKLEIK

SEQ ID NO:82; trình tự axit amin của trình tự nhận biến đổi chuỗi nhẹ Acc.#
ARX71335-VL_huFrwk

DVVM TQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNWLLQRPGQSPKR
LIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVHYCEQGTHFPLTFGAGT
KLELK

SEQ ID NO:83; trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể 3D6
được làm tương thích với người hu3D6VLvb1

DVVM TQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLDS DGKTYLNWLLQRPGQSPKR
LIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVHYCWQGTHFPYTFGAG
TKLELK

SEQ ID NO:84; trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể 3D6
được làm tương thích với người hu3D6VLvb2

DVVM TQSPLSLSVTLGQPASISCKSSQSLLDS DGKTYLNWLLQRPGQSPKR
LIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGAG
TKLEIK

SEQ ID NO:85; trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể 3D6
được làm tương thích với người hu3D6VLvb3

DVVMTQSPLSLSVTLGEPASISCRSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRR
LIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQG
TKLEIK

SEQ ID NO:86; trình tự axit amin của CDR-H1 Tổ hợp Kabat-Chothia khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VHvb4 và hu3D6VHvb5)

GFTIKDYYLH

SEQ ID NO:87; trình tự axit amin của CDR-H2 Kabat khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VHvb3 và hu3D6VHvb4)

WIDPENGDITYDPKFQG

SEQ ID NO:88; trình tự axit amin của CDR-H2 Kabat khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VHvb5)

WIDPEDGETIYDPKFQG

SEQ ID NO:89; trình tự axit amin của CDR-L1 Kabat khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VLvb3)

RSSQSLLDSDGKTYLN

SEQ ID NO:90; trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHvb6

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYYLHWVRQRPKGKLEWIG
WIDPEDGETVYDPKFQGRVTITADTSTDYAYMELSSLRSEDTAVYFCSTLDFWG
QGTLVTVSS

SEQ ID NO:91; trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người hu3D6VHvb7

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFTIKDYYLHWVRQRPKGKLEWIG
WIDPEDGETVYDPKFQGRVTITADTSTDYAYMELSSLRSEDTAVYYCSTLDFWG
QGTLVTVSS

SEQ ID NO:92; trình tự axit amin của CDR-H2 Kabat khác của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như trong hu3D6VHvb6 và hu3D6VHvb7)

WIDPEDGETVYDPKFQG

SEQ ID NO:93; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54D, còn được gọi là L2-DIM21

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKDDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:94; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54G, còn được gọi là L2-DIM7

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKGDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:95; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L45N

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKNDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:96; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54E

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKEDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:97; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L50E

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYE
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:98; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKQDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:99; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L50D

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYD
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:100; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54K

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKKDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:101; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54R

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:102; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54T

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKTDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:103; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L50G, còn
được gọi là L2-DIM22

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYG
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:104; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 I48G

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLGYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:105; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 I48D

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLDYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:106; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L47G

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRGIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:107; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 Y49E

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIEL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:108; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54V

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKVDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:109; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L54S

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKSDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:110; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 S52G, còn được gọi là L2-DIM9

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDS DGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:111; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L47N

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDS DGKTYLNWLLQRPQGQSPRRNIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:112; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L47D

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDS DGKTYLNWLLQRPQGQSPRRDIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:113; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L47E

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDS DGKTYLNWLLQRPQGQSPRREIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:114; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L47P

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDS DGKTYLNWLLQRPQGQSPRRPIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:115; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L47T

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDS DGKTYLNWLLQRPQGQSPRRTIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:116; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L47S

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDS DGKTYLNWLLQRPQGQSPRRSIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:117; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L47A

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDS DGKTYLNWLLQRPQGQSPRRAIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:118, vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L50V

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDS DGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYV
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:119; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R, còn được gọi là L2-DIM1

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYG
VSKGDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:120; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G, còn được gọi là L2-DIM2

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYE
VSKGDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:121; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G, còn được gọi là L2-DIM3

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VGKGDGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:122; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R, còn được gọi là L2-DIM4

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VGKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:123; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T, còn được gọi là L2-DIM5

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VGKTDGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:124; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D, còn được gọi là L2-DIM6

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VGKDDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:125; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L54R

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VSKGDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:126; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L54G

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLSDSGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VSKGDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:127; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L54D,
còn được gọi là L2-DIM12

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLSDSGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VSKDDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:128; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L50G,
còn được gọi là L2-DIM13

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLSDSGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYG
VSKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:129; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L50D,
còn được gọi là L2-DIM14

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLSDSGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYD
VSKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:130; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L54T

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLSDSGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYD
VSKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:131; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLSDSGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VGKLD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:132; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2
L37Q_L50D_L54G, còn được gọi là L2-DIM17

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLSDSGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYD
VSKGDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:133; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2
L37Q_L50D_L54R, còn được gọi là L2-DIM18

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLSDSGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYD
VSKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:134; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2
L37Q_L50E_L54G, còn được gọi là L2-DIM19

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYE
VSKGDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:135; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2
L37Q_L50E_L54R, còn được gọi là L2-DIM20

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYE
VSKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:136; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2
L37Q_L50G_L54R_G100Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYG
VSKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO:137; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2
L37Q_L50G_L54G_G100Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYG
VSKGDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO:138; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2
L37Q_S52G_L54R_G100Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VGKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO:139; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2
L37Q_S52G_L54D_G100Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VGKDDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO:140; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2
L37Q_L50D_L54G_G100Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYD
VSKGDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO:141; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2
L37Q_L50D_L54R_G100Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYD
VSKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO:142; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2
L37Q_L50V_L54D_G100Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYV
VSKDDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO:143; vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q, còn
được gọi là L2-DIM8

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:144 vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 G100Q

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGKTYLNWLLQRPQGQSPRRLIYL
VSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO:145 vùng biến đổi chuỗi nhẹ của biến thể hu3D6VLv2 L37Q_L54E

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VSKEDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:146; vùng biến đổi chuỗi nặng của biến thể hu3D6VHv1bA11 D60E,
còn được gọi là h3D6VHvb8

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPQGQGLEWIGWIDPEN
GDTVYEPKFQGRATITADTSTDYAYLQLGSLTSEDYAVYFCSTLDFWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO:147 vùng biến đổi chuỗi nặng của biến thể hu3D6VHv1bA11 L82cV

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPQGQGLEWIGWIDPEN
GDTVYDPKFQGRATITADTSTDYAYLQLGSVTSSEDYAVYFCSTLDFWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO:148; vùng biến đổi chuỗi nặng của biến thể hu3D6VHv1bA11
D60E_L80M_Q81E_L82cV_T83R, còn được gọi là h3D6VHvb9

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYLLHWVRQRPQGQGLEWIGWIDPEN
GDTVYEPKFQGRATITADTSTDYAYMELGSVRSEDYAVYFCSTLDFWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO:149; trình tự axit amin của CDR-H2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở h3D6VHvb8 và ở h3D6VHvb9)

WIDPENGDTVYEPKFQG

SEQ ID NO:150; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54D và ở hu3D6VLv2 L37Q_L54D):

LVSKDDS

SEQ ID NO:151; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54G và ở hu3D6VLv2 L37Q_L54G):

LVSKGDS

SEQ ID NO:152; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54N):

LVSKNDS

SEQ ID NO:153; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54E và ở hu3D6VLv2 L37Q_L54E):

LVSKEDS

SEQ ID NO:154; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L50E):

EVSKLDS

SEQ ID NO:155; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54Q):

LVSKQDS

SEQ ID NO:156; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L50D và ở hu3D6VLv2 L37Q_L50D):

DVSKLDS

SEQ ID NO:157; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54K):

LVSKKDS

SEQ ID NO:158; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54R và ở hu3D6VLv2 L37Q_L54R):

LVSKRDS

SEQ ID NO:159; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54T và ở hu3D6VLv2 L37Q_L54T):

LVSKTDS

SEQ ID NO:160; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L50G và ở hu3D6VLv2 L37Q_L50G):

GVSKLDS

SEQ ID NO:161; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54V):

LVSKVDS

SEQ ID NO:162; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L54S):

LVSKSDS

SEQ ID NO:163; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 S52G và ở hu3D6VLv2 L37Q_S52G):

LVGKLDS

SEQ ID NO:164; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L50V):

VVSKLDS

SEQ ID NO:165; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R và hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q):

GVSKRDS

SEQ ID NO:166; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G và ở hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q):

GVSKGDS

SEQ ID NO:167; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G):

LVGKGDS

SEQ ID NO:168; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R và ở hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q):

LVGKRDS

SEQ ID NO:169; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T):

LVGKTDS

SEQ ID NO:170; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D và ở hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q):

LVGKDDS

SEQ ID NO:171; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G và ở hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q):

DVSKGDS

SEQ ID NO:172; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R và ở hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q):

DVSKRDS

SEQ ID NO:173; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54G):

EVSKGDS

SEQ ID NO:174; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R):

EVSKRDS

SEQ ID NO:175; trình tự axit amin của CDR-L2 Kabat xen kẽ của kháng thể 3D6 được làm tương thích với người (như ở hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q):

VVSKDDS

SEQ ID NO:176; trình tự axit amin của vùng hằng định chuỗi nặng (IgG1: alotyp G1m17,1):

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:177; trình tự axit amin của vùng hằng định chuỗi nhẹ (kapa):

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES
VTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:178; trình tự axit amin của chuỗi nặng trưởng thành của biến thể được làm tương thích với người 3D6 (alotyp hu3D6VHv1bA11 IgG1 G1m17)

EVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYYLHWVRQRPQGQGLEWIGWIDPEN
GDTVYDPKFQGRATITADTSTDYAYLQLGSLTSEDYAVYFCSTLDFWGQGLTVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY

NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:179; trình tự axit amin của chuỗi nhẹ trưởng thành của biến thể được làm tương thích với người 3D6 (biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R, L2-DIM4 kapa)

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLQQRPGQSPRRLIYL
VGKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIKRT
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
KDSTYLSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:180; trình tự axit amin của chuỗi nặng của biến thể được làm tương thích với người 3D6 (alotyp hu3D6VHv1bA11 IgG1 G1m17) với peptit tín hiệu alpha-lactalbumin bò ở đầu cùng N

MMSFVSLLLVGILFHATQAEVQLVQSGAEVVKPGATVKISCKASGFNIKDYLLHW
VRQRPQGQLEWIGWIDPENGDTVYDPKFQGRATITADTSTDYALQLGSLTSEDYAVYF
CSTLDFWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:181; trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của biến thể được làm tương thích với người 3D6 (biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R, L2-DIM4 kapa) với peptit tín hiệu alpha-lactalbumin bò ở đầu cùng N.

MMSFVSLLLVGILFHATQADVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKT
YLNWLQQRPGQSPRRLIYLVGKRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQ
GTHFPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK
VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC

SEQ ID NO:182; trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nặng của biến thể được làm tương thích với người 3D6 (alotyp hu3D6VHv1bA11 IgG1 G1m17) với peptit tín hiệu alpha-lactalbumin bò ở đầu cùng N

ATGATGTCCTTTGTCTCTCTGCTCCTGGTTGGCATCCTATTCCATGCCACCCAGG
CCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCAGAGGTTGTGAAGCCAGGGGCCACAGTCAAG
ATCTCCTGTAAGGCTTCTGGCTTCAACATTAAAGACTACTATCTGCACTGGGTGCGGCA
GAGGCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATTGGATGGATTGATCCTGAGAATGGTGATACTG
TGTATGACCCGAAGTTCCAGGGCAGGGCCACTATAACAGCAGACACATCCACCGACACA
GCCTACCTGCAGCTCGGCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCCGTCTATTTCTGTTCTAC
CCTGGACTTCTGGGGCCAAGGCACCCTTGTACAGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCC
CATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTAGCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTG
GGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGC
CCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC
TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC
GTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAGGTTGAGCCCAAATCTTGTGA
CAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCT
TCCTCTTCCCCCCTAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACA
TGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGA
CGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACGT
ACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC
AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGC
CAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGA
CCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCC
GTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAATAACAAGACCACGCCTCCCGTGCT
GGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATTCCAAACTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC
AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACG
CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCCGGGAATGATGAGATCTCGAG

SEQ ID NO:183; trình tự nucleotit mã hóa chuỗi nhẹ của biến thể được làm tương thích với người 3D6 (biến thể hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R, L2-DIM4 kapa) với peptit tín hiệu alpha-lactalbumin bò ở đầu cùng N

ATGATGTCCTTTGTCTCTCTGCTCCTGGTTGGCATCCTATTCCATGCCACCCAGG
 CCGATGTTGTGATGACCCAGTCTCCACTCTCTTTGCCCCGTTACCCTTGGACAACCTGCC
 TCCATCTCTTGCAAGTCAAGTCAGAGCCTCTTAGATAGTGATGGAAAGACATATTTGAA
 TTGGTTGCAACAGAGGCCAGGCCAGTCTCCACGGCGCCTAATCTATCTGGTGGGCAAAC
 GGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTG
 AAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGAGTTTATTATTGCTGGCAAGGCACACA
 TTTTCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAACGAACTGTGGCTGCAC
 CATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGCTTAAGTCCGGAACCTGCTAGCGTT
 GTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAA
 CGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCA
 CCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTC
 TACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAG
 GGGAGAGTGTTAGTGAGATCTCGAG

SEQ ID NO:184; trình tự axit amin của một vùng của đoạn lặp liên kết vi ống tau 1
 (các gốc axit amin 255-271 nêu trong SEQ ID NO:1)

NVSKIGSTENLKHQPG

SEQ ID NO:185; trình tự axit amin của vùng của đoạn lặp liên kết vi ống tau 2 (các
 gốc axit amin 286-302 nêu trong SEQ ID NO:1)

NVQSKCGSKDNIKHVPG

SEQ ID NO:186; trình tự axit amin của vùng của đoạn lặp liên kết vi ống tau 3 (các
 gốc axit amin 317-333 nêu trong SEQ ID NO:1)

KVTSKCGSLGNIHHKPG

SEQ ID NO:187; trình tự axit amin của vùng của đoạn lặp liên kết vi ống tau 4
 (các gốc axit amin 349-365 nêu trong SEQ ID NO:1)

RVQSKIGSLDNITHVPG

SEQ ID NO:188; trình tự axit amin của motif lõi của tau được liên kết bởi 3D6

KIGSTENLKH

SEQ ID NO:189; trình tự axit amin của trình tự tau đầu cùng N đến motif lõi của tau được liên kết bởi 3D6

NVKS

SEQ ID NO:190; trình tự axit amin của trình tự tau đầu cùng C đến motif lõi của tau được liên kết bởi 3D6

QPG

SEQ ID NO:191; trình tự axit amin của epitop của 3D6

KXXSXXNX(K/H)H

SEQ ID NO:192; trình tự axit amin của motif lõi của tau được liên kết bởi 3D6

KCGSKDNIKH

SEQ ID NO:193; trình tự axit amin của motif lõi của tau được liên kết bởi 3D6

KCGSLGNIHH

SEQ ID NO:194; trình tự axit amin của motif lõi của tau được liên kết bởi 3D6

KIGSLDNITH

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể được phân lập liên kết đặc hiệu với tau người, bao gồm:

vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành chứa CDR-H1 gồm SEQ ID NO:8, CDR-H2 gồm SEQ ID NO:9, và CDR-H3 có trình tự axit amin LDF, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng này đồng nhất ít nhất 90% với SEQ ID NO:18; và

vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành chứa CDR-L1 gồm SEQ ID NO:12, CDR-L2 gồm SEQ ID NO: 168, và CDR-L3 gồm SEQ ID NO:14, trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ này đồng nhất ít nhất 90% với SEQ ID NO:122.

2. Kháng thể theo điểm 1, trong đó ít nhất một trong số các vị trí H12, H13, H17, H24, H40, H43, H48, H66, H67, H76, H80, H81, và H91 lần lượt bị chiếm bởi V, K, T, A, R, Q, I, R, A, D, L, Q, và F, và ít nhất một trong số các vị trí L2, L12, L15, L37, L39, L45, L60 và L100 lần lượt bị chiếm bởi V, P, L, Q, R, R, D và Q.

3. Kháng thể theo điểm 1, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành bao gồm SEQ ID NO:18 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành bao gồm SEQ ID NO: 122.

4. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể này là kháng thể khảm, kháng thể được ngẫu nhiên hoặc kháng thể được làm tương thích với người.

5. Kháng thể theo điểm 1 là kháng thể nguyên vẹn.

6. Kháng thể theo điểm 1 là đoạn liên kết.

7. Kháng thể theo điểm 6, trong đó đoạn liên kết là kháng thể chuỗi đơn, đoạn Fab hoặc đoạn Fab'2.

8. Kháng thể theo điểm 1, trong đó isotyp là IgG1 người, IgG2 người, hoặc IgG4 người.

9. Kháng thể theo điểm 1 bao gồm chuỗi nhẹ chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành dung hợp với vùng hằng định chuỗi nhẹ và chuỗi nặng chứa vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành dung hợp với vùng hằng định chuỗi nặng.

10. Kháng thể theo điểm 9, trong đó vùng hằng định chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 176 có hoặc không có lysin đầu cùng C.

11. Kháng thể theo điểm 9, trong đó vùng biến đổi chuỗi nặng trưởng thành được dung hợp với vùng hằng định chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 178 có hoặc không có lysin đầu cùng C.

12. Kháng thể theo điểm 9, còn bao gồm peptit tín hiệu alpha-lactalbumin bò dung hợp với vùng biến đổi chuỗi nặng và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành.
13. Kháng thể theo điểm 12, trong đó chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:180 có hoặc không có lysin đầu cùng C.
14. Kháng thể theo điểm 9, trong đó vùng hằng định chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:177.
15. Kháng thể theo điểm 9, trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ trưởng thành dung hợp với vùng hằng định chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:179.
16. Kháng thể theo điểm 15, trong đó chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:181.
17. Kháng thể theo điểm 11, trong đó chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:178 có hoặc không có lysin đầu cùng C và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:179.
18. Kháng thể theo điểm 13, trong đó chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:180 có hoặc không có lysin đầu cùng C và chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:181.
19. Kháng thể theo điểm 9 chứa ít nhất một đột biến trong vùng hằng định.
20. Kháng thể theo điểm 19, trong đó đột biến này làm giảm sự cố định hoặc sự hoạt hóa bổ thể bởi vùng hằng định hoặc làm giảm sự gắn kết vào thụ thể Fcγ so với vùng hằng định chuỗi nặng tự nhiên của người.
21. Kháng thể theo điểm 20 chứa đột biến ở một hoặc nhiều vị trí trong số các vị trí 241, 264, 265, 270, 296, 297, 318, 320, 322, 329 và 331 theo cách đánh số EU hoặc alanin ở các vị trí 318, 320 và 322.
22. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể này được liên hợp với tác nhân trị liệu, gây độc tế bào, kim hãm tế bào, dinh dưỡng thần kinh hoặc bảo vệ thần kinh
23. Dược phẩm chứa kháng thể theo điểm 1 và chất mang dược dụng.
24. Axit nucleic hoặc các axit nucleic mã hóa cho chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể theo điểm 1.

25. Axit nucleic hoặc các axit nucleic theo điểm 24 bao gồm SEQ ID NO:182 mã hóa chuỗi nặng và SEQ ID NO:183 mã hóa chuỗi nhẹ.

26. Phương pháp sản xuất kháng thể, phương pháp này bao gồm các bước:

(a) nuôi cấy các tế bào được biến nạp axit nucleic hoặc các axit nucleic theo điểm 25, để các tế bào tiết ra kháng thể; và

(b) tinh chế kháng thể này từ môi trường nuôi cấy tế bào.

27. Phương pháp sản xuất dòng tế bào sản sinh kháng thể, phương pháp này bao gồm các bước:

a) đưa vector mã hóa axit nucleic hoặc các axit nucleic theo điểm 25 và chỉ thị chọn lọc vào tế bào;

(b) nhân giống tế bào trong các điều kiện để chọn lọc tế bào có số lượng bản sao vector tăng lên;

(c) phân lập tế bào đơn lẻ từ các tế bào được chọn; và

(d) tạo ngân hàng tế bào được tách dòng từ tế bào đơn lẻ được chọn dựa trên hiệu suất của kháng thể.

28. Phương pháp sản xuất kháng thể, phương pháp này bao gồm các bước:

(a) nuôi cấy tế bào chứa các axit nucleic mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể theo điểm 1 để các tế bào tiết ra kháng thể; và

(b) tinh chế kháng thể này từ môi trường nuôi cấy tế bào.

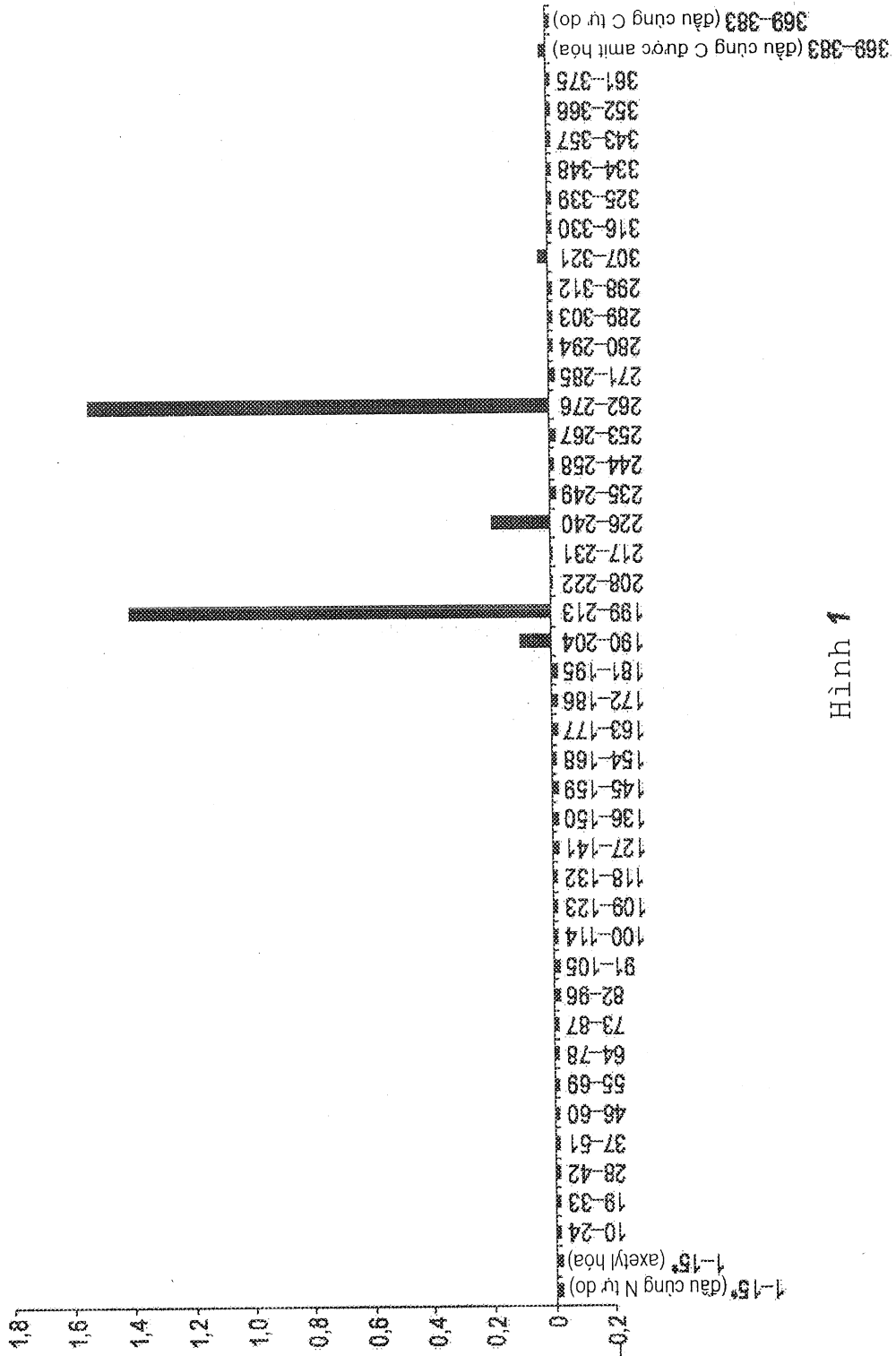
29. Phương pháp sản xuất dòng tế bào sản sinh kháng thể, phương pháp này bao gồm các bước:

a) đưa vector mã hóa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể theo điểm 1 và chỉ thị chọn lọc vào tế bào;

(b) nhân giống tế bào trong các điều kiện để chọn lọc tế bào có số lượng bản sao vector tăng lên;

(c) phân lập tế bào đơn lẻ từ các tế bào được chọn; và

(d) tạo ngân hàng tế bào được tách dòng từ tế bào đơn lẻ được chọn dựa trên hiệu suất của kháng thể.



Hinh 2

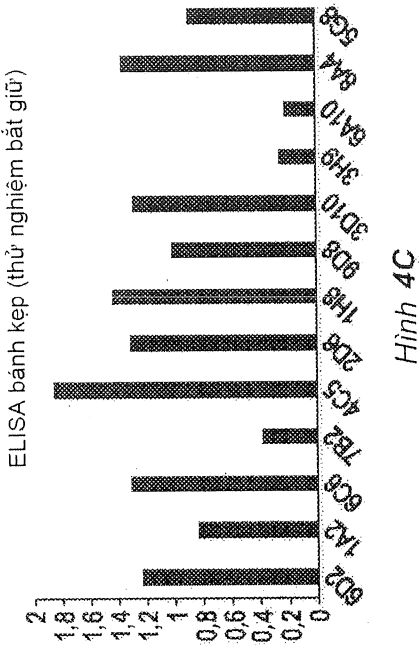
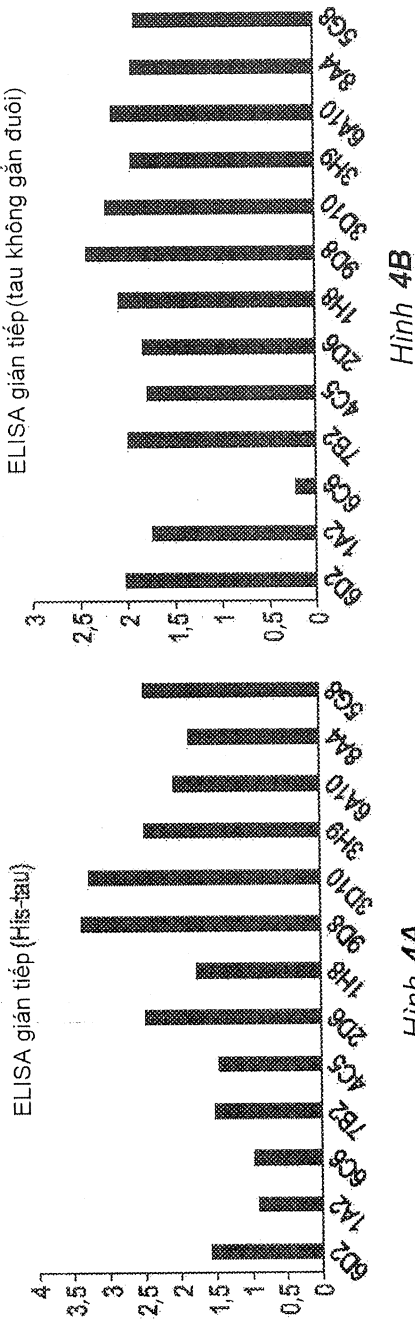
	10	20	30	40	
3D6 VH chuột nhắt	E V Q L Q Q S G A D L V R P G A L V K L S C K A S G F N I K D D Y Y L H W V R Q R				40
IGHV1-69-2*01	E V Q L V Q S G A E V K K P G A T V K I S C K V S G Y T T D D Y Y M H W V Q Q A				40
2RCS VH hFrwk	Q V Q L Q Q S G A E L V K P G A S V K L S C T A S G F N I K D D Y Y M H W V Q Q A				40
hu3D6 VHvb1	Q V Q L Q Q S G A E L V K P G A S V K I S C K A S G F N I K D D Y Y L H W V R Q R				40
hu3D6 VHvb2	E V Q L V Q S G A E V V K P G A T V K I S C K A S G F N I K D D Y Y L H W V R Q R				40
hu3D6 VHvb3	E V Q L V Q S G A E V V K P G A T V K I S C K A S G F N I K D D Y Y L H W V R Q R				40
hu3D6 VHvb4	E V Q L V Q S G A E V V K P G A T V K I S C K A S G F N I K D D Y Y L H W V R Q R				40
hu3D6 VHvb5	E V Q L V Q S G A E V V K P G A T V K I S C K A S G F N I K D D Y Y L H W V R Q R				40
hu3D6 VHvb6	E V Q L V Q S G A E V V K P G A T V K I S C K A S G F N I K D D Y Y L H W V R Q R				40
hu3D6 VHvb7	E V Q L V Q S G A E V V K P G A T V K I S C K A S G F N I K D D Y Y L H W V R Q R				40
3D6 VH chuột nhắt	P E Q G L E W I G W I D P P E N G D T V Y D P K F Q G K A T I T A D T S S N T A Y				80
IGHV1-69-2*01	P G K G L E W M G L V D P P E N G D T V Y D P K F Q G K A T I T A D T S S N T A Y				80
2RCS VH hFrwk	P E Q G L E W I G R I D P P A N G N T K Y D P K F Q G K A T I T A D T S S N T A Y				80
hu3D6 VHvb1	P E Q G L E W I G W I D P P E N G D T V Y D P K F Q G K A T I T A D T S S N T A Y				80
hu3D6 VHvb2	P G K G L E W I G W I D P P E N G D T V Y D P K F Q G K A T I T A D T S S N T A Y				80
hu3D6 VHvb3	P G K G L E W I G W I D P P E N G D T V Y D P K F Q G K A T I T A D T S S N T A Y				80
hu3D6 VHvb4	P G K G L E W I G W I D P P E N G D T V Y D P K F Q G K A T I T A D T S S N T A Y				80
hu3D6 VHvb5	P G K G L E W I G W I D P P E N G D T V Y D P K F Q G K A T I T A D T S S N T A Y				80
hu3D6 VHvb6	P G K G L E W I G W I D P P E N G D T V Y D P K F Q G K A T I T A D T S S N T A Y				80
hu3D6 VHvb7	P G K G L E W I G W I D P P E N G D T V Y D P K F Q G K A T I T A D T S S N T A Y				80
3D6 VH chuột nhắt	L Q L G S S L T S E D T A V Y F C S T L D - - F W G Q G T T L T V S S				112
IGHV1-69-2*01	M E L S S L R S E D T A V Y C A T - Q - - H W G Q G T T L T V S S				111
2RCS VH hFrwk	L Q L S S L T S E D T A V Y C A S Y Y G I Y W G Q G T T L T V S S				114
hu3D6 VHvb1	L Q L S S L T S E D T A V Y F C S T L D - - F W G Q G T T L T V S S				112
hu3D6 VHvb2	L E L S S L T S E D T A V Y F C S T L D - - F W G Q G T T L T V S S				112
hu3D6 VHvb3	M E L S S L R S E D T A V Y C S T L D - - F W G Q G T T L T V S S				112
hu3D6 VHvb4	M E L S S L R S E D T A V Y C S T L D - - F W G Q G T T L T V S S				112
hu3D6 VHvb5	M E L S S L R S E D T A V Y C S T L D - - F W G Q G T T L T V S S				112
hu3D6 VHvb6	M E L S S L R S E D T A V Y C S T L D - - F W G Q G T T L T V S S				112
hu3D6 VHvb7	M E L S S L R S E D T A V Y C S T L D - - F W G Q G T T L T V S S				112

	10	20	30	40
3D6 VL chuột nhất	D V V M T Q T P L T L S V T I G Q P A S I S C K S S Q S L L D S D G K T Y L N W			40
ARX71335_VL_hFrwk	D V V M T Q T P L T L S V T I G Q P A S I S C K S S Q S L L Y S N G K T Y L N W			40
IGKV2-30*02	D V V M T Q S P L S L P V T I L G Q P A S I S C R S S Q S L V H S D G N T Y L N W			40
hu3D6VLvb1	D V V M T Q T P L T L S V T I G Q P A S I S C K S S Q S L L D S D G K T Y L N W			40
hu3D6VLvb2	D V V M T Q S P L S L S V T I L G Q P A S I S C K S S Q S L L D S D G K T Y L N W			40
hu3D6VLvb3	D V V M T Q S P L S L S V T I L G E P A S I S C R S S Q S L L D S D G K T Y L N W			40

	50	60	70	80
3D6 VL chuột nhất	L L Q R P G Q S P K R L I Y L V S K L D S G V P D R F T G S G S G T D F T L K I			80
ARX71335_VL_hFrwk	L L Q R P G Q S P K R L I Y L V S K L D S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I			80
IGKV2-30*02	F Q Q R P G Q S P K R L I Y K V S N R D S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I			80
hu3D6VLvb1	L L Q R P G Q S P K R L I Y L V S K L D S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I			80
hu3D6VLvb2	L L Q R P G Q S P K R L I Y L V S K L D S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I			80
hu3D6VLvb3	L Q Q R P G Q S P R R L I Y L V S K L D S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I			80

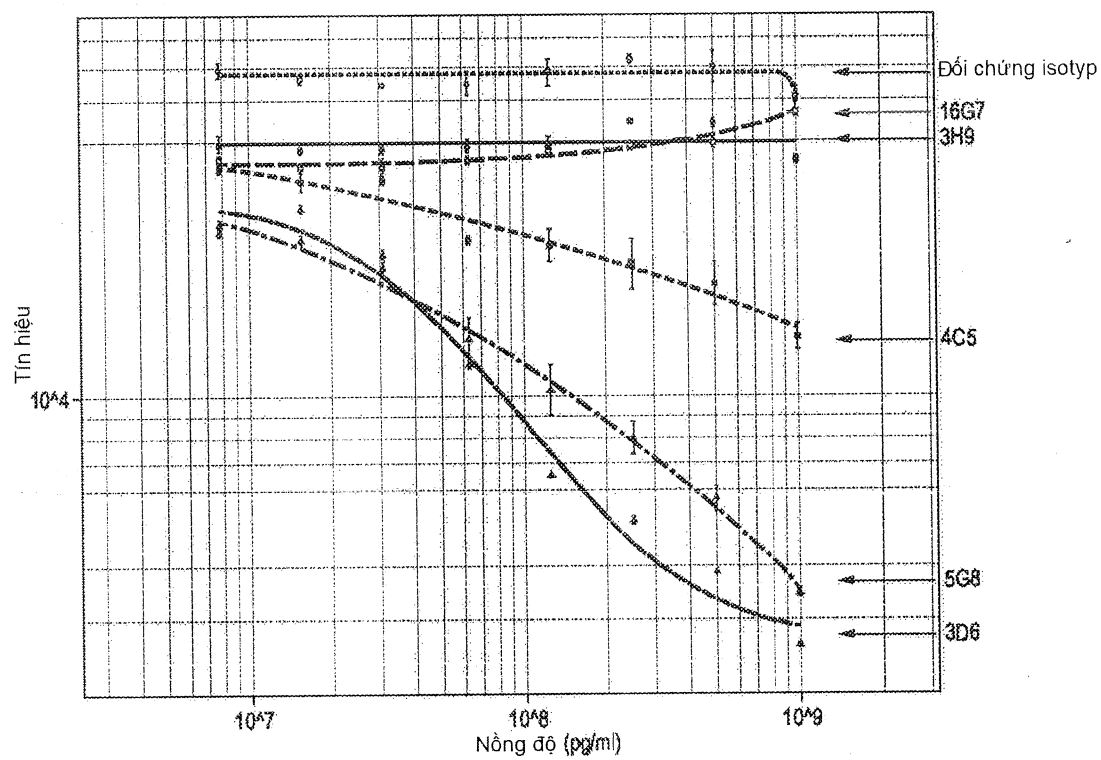
	90	100	110
3D6 VL chuột nhất	S R V E A E D L G V Y Y C W Q G T H F F P Y T F G G T K L E I K		112
ARX71335_VL_hFrwk	S R V E A E D L G V H Y C E Q Q G T H F F P Y T F G G T K L E I K		112
IGKV2-30*02	S R V E A E D V G V Y Y C M Q G T H F F P Y T F G G T K L E I K		112
hu3D6VLvb1	S R V E A E D L G V H Y C W Q G T H F F P Y T F G G T K L E I K		112
hu3D6VLvb2	S R V E A E D V G V Y Y C W Q G T H F F P Y T F G G T K L E I K		112
hu3D6VLvb3	S R V E A E D V G V Y Y C W Q G T H F F P Y T F G G T K L E I K		112

3/19

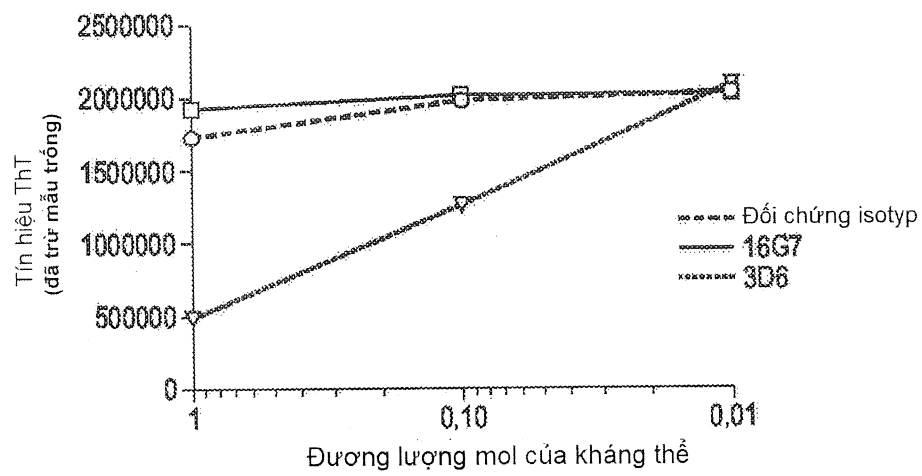


Tên	$k_a (M^{-1}s^{-1})$	$k_d (s^{-1})$	$k_D (nM)$
3D6	$2,58 \times 10^6$	$1,19 \times 10^{-3}$	0,46
1H8	$5,07 \times 10^5$	$5,61 \times 10^{-3}$	11,1
3H9	$4,71 \times 10^5$	$1,41 \times 10^{-3}$	3,0
5G8	$3,75 \times 10^5$	$2,54 \times 10^{-3}$	6,78
6D2	$3,83 \times 10^5$	$3,18 \times 10^{-3}$	8,29
7G6	$5,76 \times 10^5$	$3,32 \times 10^{-3}$	5,77
8A4	$5,99 \times 10^5$	$2,27 \times 10^{-3}$	3,8

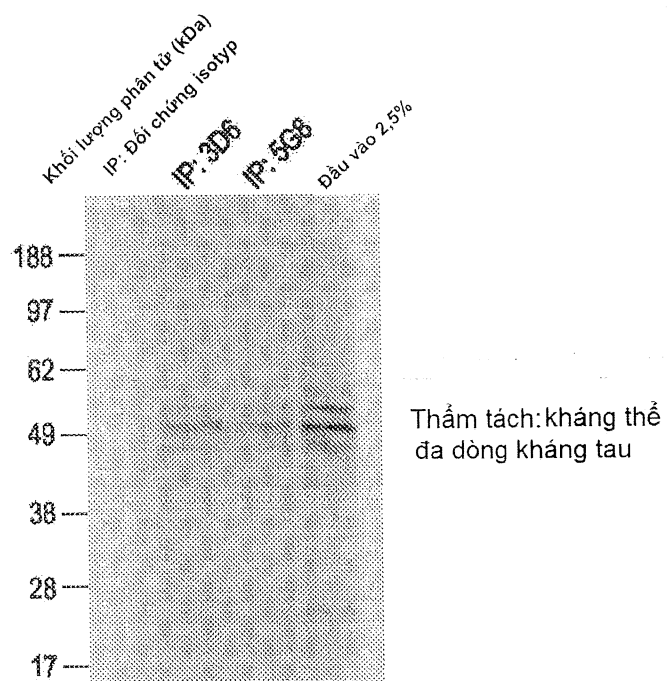
Hình 5



Hình 6



Hình 7



Hình 8

Hình 9B

	90										100										110												
	L	Q	L	G	S	L	T	S	E	D	T	A	V	Y	F	C	S	T	L	D	-	-	F	W	G	Q	G	T	L	T	V	S	S
3D6 VH chuột nhắt	M	E	.	S	.	R	.	.	.	.	.	.	.	Y	.	A	.	Q	-	-	H	.	.	.	.	.	L	V	.	.	.	.	.
IGHV1-69-2*01	.	.	S	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	Y	.	A	S	Y	G	I	Y	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
2RCS VH hFrwk	.	.	S	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
hu3D6 VHvb1	.	E	S	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	.	.	L	V	.	.	.
hu3D6 VHvb2	M	E	.	S	.	R	.	.	.	.	.	.	.	Y	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	L	V	.	.	.
hu3D6 VHvb3	M	E	.	S	.	R	.	.	.	.	.	.	.	Y	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	L	V	.	.	.
hu3D6 VHvb4	M	E	.	S	.	R	.	.	.	.	.	.	.	Y	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	L	V	.	.	.
hu3D6 VHvb5	M	E	.	S	.	R	.	.	.	.	.	.	.	Y	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	L	V	.	.	.
hu3D6 VHvb6	M	E	.	S	.	R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	L	V	.	.	.
hu3D6 VHvb7	M	E	.	S	.	R	.	.	.	.	.	.	.	Y	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	L	V	.	.	.
hu3D6VHv1bA11	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	L	V	.	.	.
h3D6 VHvb8	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	L	V	.	.	.
h3D6 VHvb9	M	E	.	.	.	V	R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	-	.	.	.	.	.	.	.	.	.	L	V	.	.	.

112
111
114
112
112
112
112
112
112
112
112
112
112
112
112
112
112

hu3D6VLv2		D	V	V	M	T	Q	S	P	L	S	L	P	V	T	L	G	Q	P	A	S	I	S	C	K	S	S	Q	S	L	L	
hu3D6VLv2	L37Q	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L50G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	S52G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L54G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L54D	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L54K	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L54R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L54T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_L50G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_L50D	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_S52G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_L54G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_L54R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_L54T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_L54D	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_L54E	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_L50G_L54R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_L50G_L54G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_L50D_L54R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_L50E_L54R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_L50D_L54G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_S52G_L54D	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_S52G_L54G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_S52G_L54T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_S52G_L54R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	30
hu3D6VLv2	L37Q_L50D_L54G_G100Q	.																														

Hình 10B

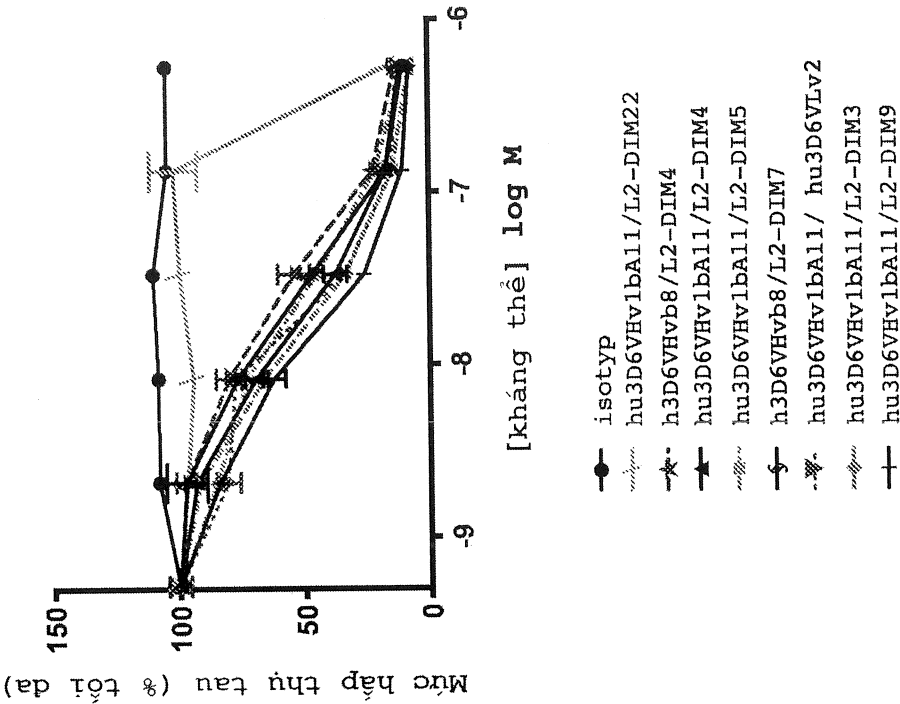
	40	50	60
hu3D6VLv2	D	S	D
hu3D6VLv2 L37Q	G	K	T
hu3D6VLv2 L50G	Y	L	N
hu3D6VLv2 S52G	W	L	L
hu3D6VLv2 L54G	Q	R	P
hu3D6VLv2 L54D	G	Q	S
hu3D6VLv2 L54K	P	P	P
hu3D6VLv2 L54R	L	L	L
hu3D6VLv2 L54T	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_L50G	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_L50D	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_S52G	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_L54G	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_L54R	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_L54T	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_L54D	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_L54E	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q	Q	Q	Q
hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q	Q	Q	Q

Hình 10C

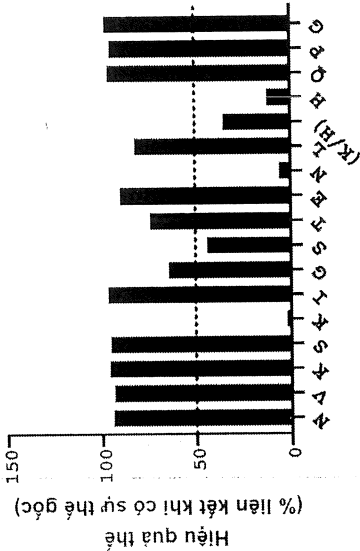
	70	80	90
hu3D6VLv2	S	G	V
hu3D6VLv2 L37Q	G	V	P
hu3D6VLv2 L50G	R	F	S
hu3D6VLv2 S52G	G	S	G
hu3D6VLv2 L54G	S	G	S
hu3D6VLv2 L54D	T	D	F
hu3D6VLv2 L54K	F	T	L
hu3D6VLv2 L54R	K	I	S
hu3D6VLv2 L54T	I	S	R
hu3D6VLv2 L37Q_L50G	S	R	V
hu3D6VLv2 L37Q_L50D	E	A	E
hu3D6VLv2 L37Q_S52G	D	V	G
hu3D6VLv2 L37Q_L54G	V	G	V
hu3D6VLv2 L37Q_L54R	G	V	G
hu3D6VLv2 L37Q_L54T	V	G	V
hu3D6VLv2 L37Q_L54D	G	V	G
hu3D6VLv2 L37Q_L54E	V	G	V
hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R	G	V	G
hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G	V	G	V
hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R	G	V	G
hu3D6VLv2 L37Q_L50E_L54R	V	G	V
hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G	G	V	G
hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D	V	G	V
hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54G	G	V	G
hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54T	V	G	V
hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R	G	V	G
hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54G_G100Q	V	G	V
hu3D6VLv2 L37Q_L50D_L54R_G100Q	G	V	G
hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54G_G100Q	V	G	V
hu3D6VLv2 L37Q_L50G_L54R_G100Q	G	V	G
hu3D6VLv2 L37Q_L50V_L54D_G100Q	V	G	V
hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54D_G100Q	G	V	G
hu3D6VLv2 L37Q_S52G_L54R_G100Q	V	G	V

hu3D6VLv2	L37Q	Y	Y	C	W	Q	G	T	H	F	P	Y	T	F	F	G	G	T	K	L	E	I	K	112
hu3D6VLv2	L37Q	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L50G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	S52G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L54G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L54D	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L54K	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L54R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L54T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_L50G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_L50D	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_S52G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_L54G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_L54R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_L54T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_L54D	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_L54E	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_L50G_L54R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_L50G_L54G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_L50D_L54R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_L50E_L54R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_L50D_L54G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_S52G_L54D	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_S52G_L54G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_S52G_L54T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_S52G_L54R	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_L50D_L54G_G100Q	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_L50D_L54R_G100Q	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_L50G_L54G_G100Q	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_L50G_L54R_G100Q	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_L50V_L54D_G100Q	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_S52G_L54D_G100Q	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	112
hu3D6VLv2	L37Q_S52G_L54B_G100Q	.	.	.</																				

Hình 11



Hình 12A

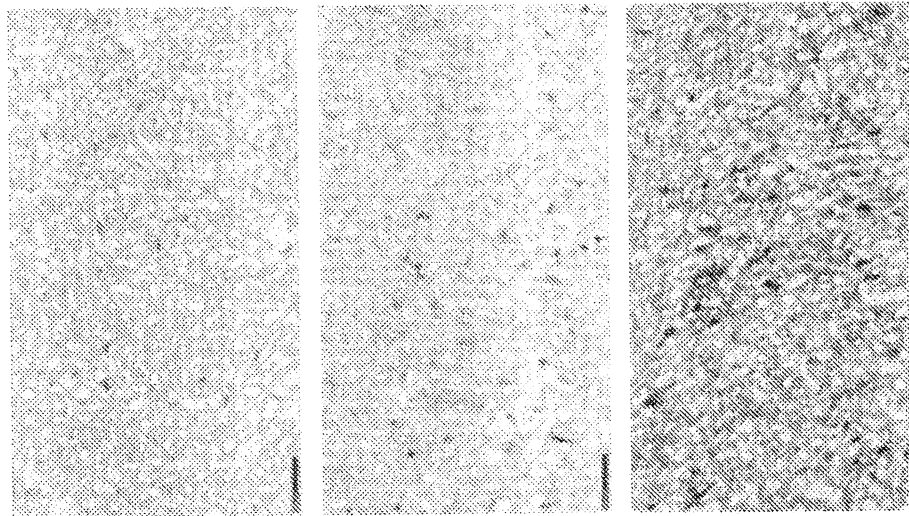


Hình 12B

Đoạn	lập	liên	kết	vi	ống	1	(aa	255-271)	N	V	K	S	K	I	G	S	T	E	N	L	K	H	Q	P	G
Đoạn	lập	liên	kết	vi	ống	2	(aa	286-302)	N	V	Q	S	K	C	G	S	K	D	N	I	K	H	V	P	G
Đoạn	lập	liên	kết	vi	ống	3	(aa	317-333)	K	V	T	S	K	C	G	S	L	G	N	I	H	H	K	P	G
Đoạn	lập	liên	kết	vi	ống	4	(aa	349-365)	R	V	Q	S	K	I	G	S	L	D	N	I	T	H	V	P	G

Góc liên kết 3D6 quan trọng

Góc quan trọng không được bảo tồn trong đoạn lập 4



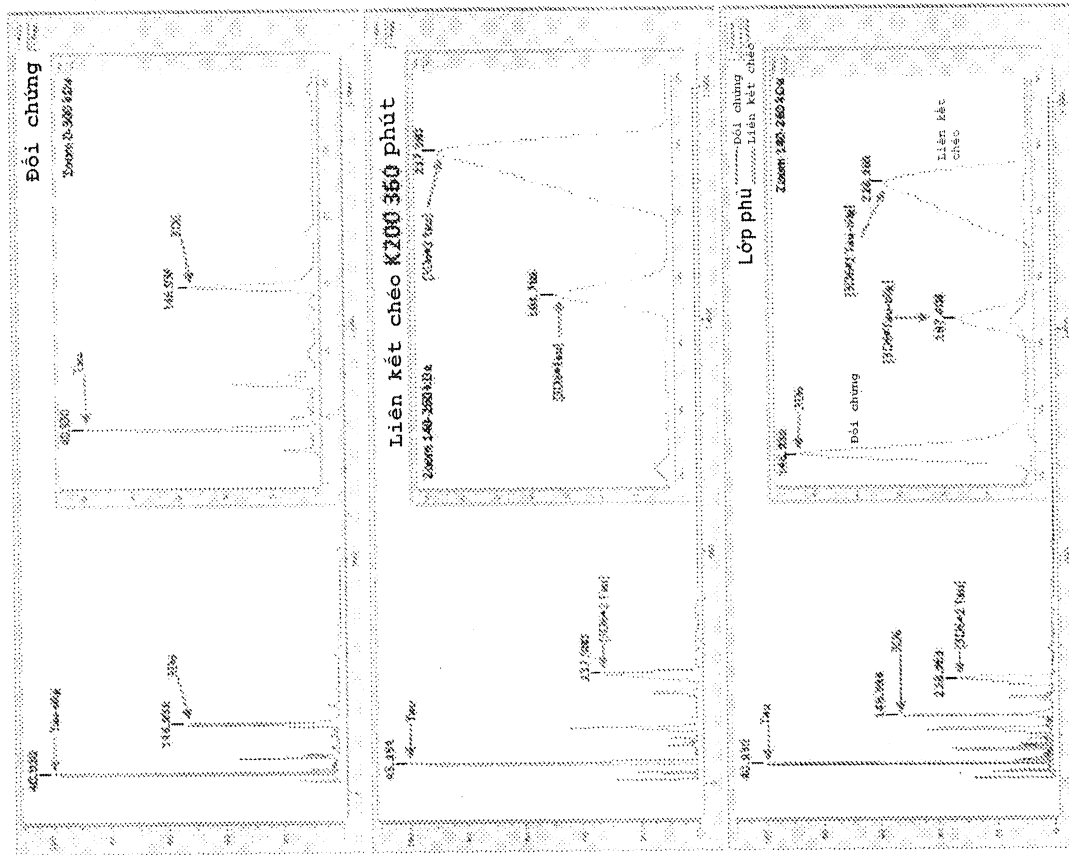
đối chứng khỏe mạnh bình thường
1 ug/mL

Bệnh Alzheimer
0,1 ug/mL

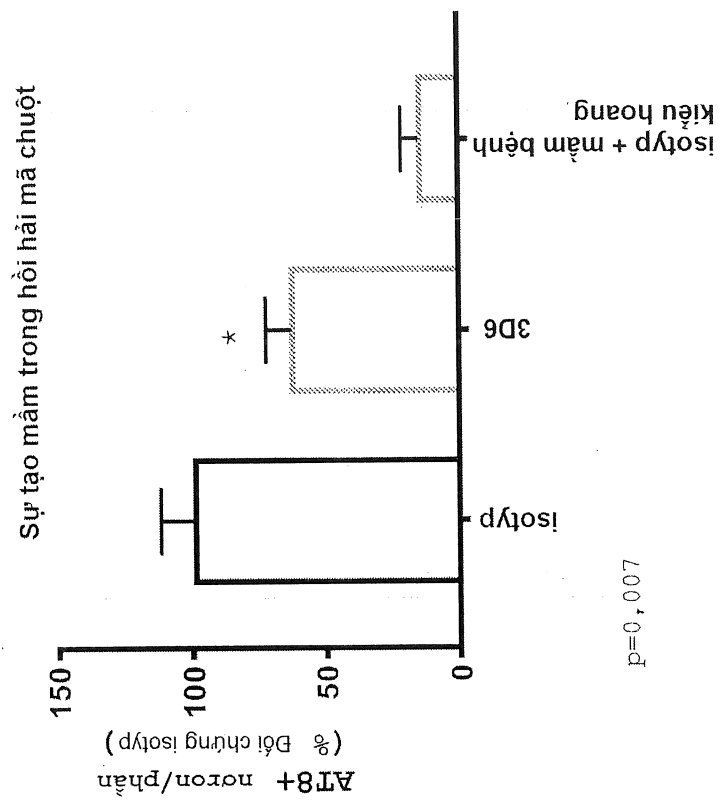
Bệnh Alzheimer
1 ug/mL

Hình 13

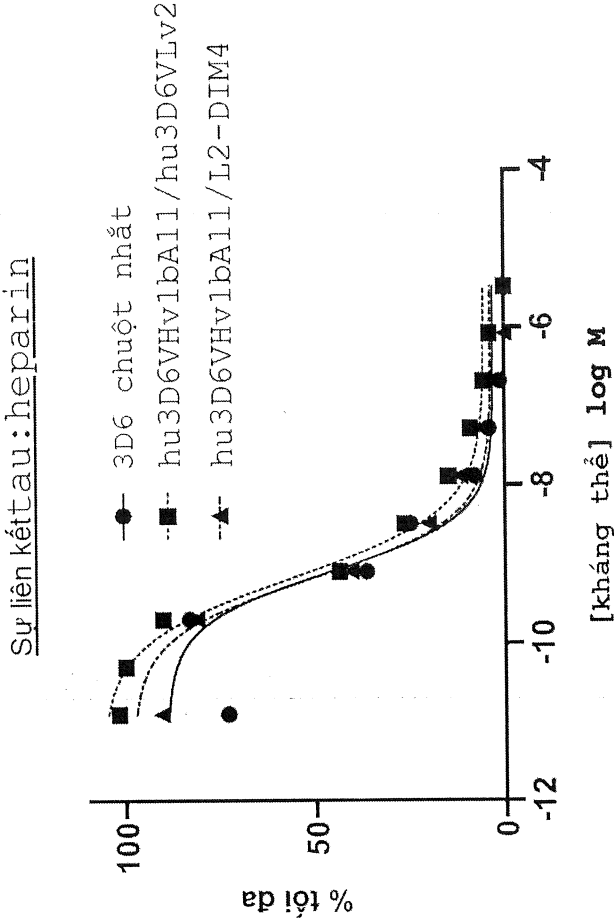
Hình 14



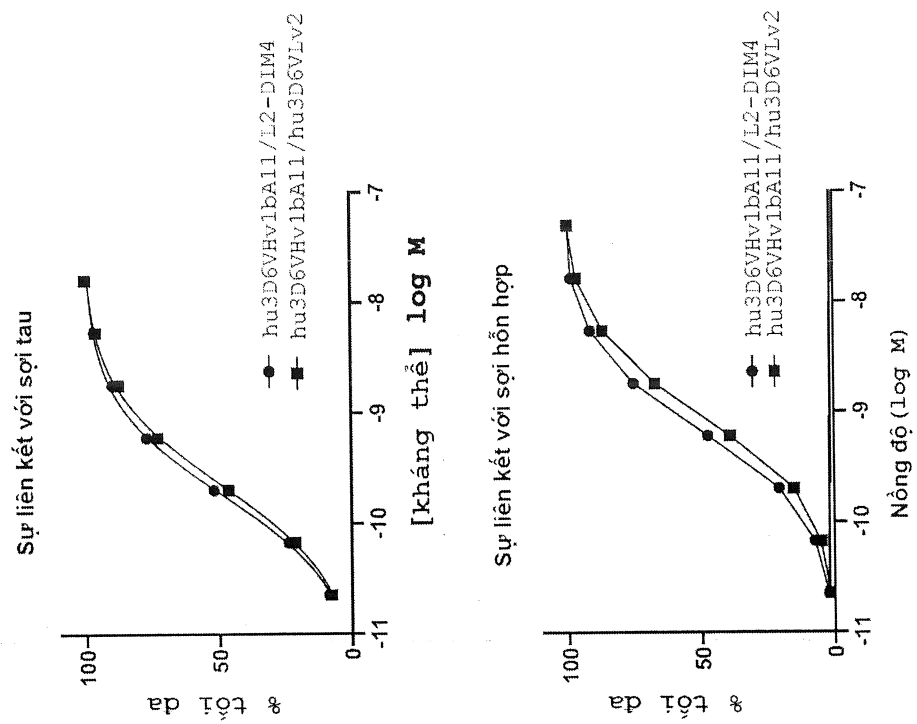
Hình 15



Hình 16



Hình 17



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> PROTHENA BIOSCIENCES LIMITED

NIJJAR, TARLOCHAN S.

DOLAN, PHILIP J. III

BARBOUR, ROBIN

LIU, YUE

ALEXANDER, SVETLANA

RENN, MARK E.

<120> KHÁNG THỂ ĐƯỢC PHÂN LẬP LIÊN KẾT ĐẶC HIỆU VỚI TAU NGƯỜI, ĐƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT KHÁNG THỂ

<130> 057450-536323

<150> US 62/813,126

<151> 03-03-2019

<150> US 62/813,137

<151> 03-03-2019

<150> US 62/838,159

<151> 24-04-2019

<160> 194

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 441

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly
1 5 10 15Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His
20 25 30Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu
35 40 45Gln Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly Ser Glu Thr Ser
50 55 60Asp Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Glu Asp Val Thr Ala Pro Leu Val
65 70 75 80Asp Glu Gly Ala Pro Gly Lys Gln Ala Ala Ala Gln Pro His Thr Glu
85 90 95Ile Pro Glu Gly Thr Thr Ala Glu Glu Ala Gly Ile Gly Asp Thr Pro
100 105 110Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val Thr Gln Ala Arg Met Val
115 120 125Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp Asp Lys Lys Ala Lys Gly
130 135 140Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro Arg Gly Ala Ala Pro Pro
145 150 155 160Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg Ile Pro Ala Lys Thr Pro
165 170 175Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly Glu Pro Pro Lys Ser Gly
180 185 190

Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser
 195 200 205
 Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg Glu Pro Lys
 210 215 220
 Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys Ser Pro Ser Ser Ala Lys
 225 230 235 240
 Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu Lys Asn Val
 245 250 255
 Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln Pro Gly Gly
 260 265 270
 Gly Lys Val Gln Ile Ile Asn Lys Lys Leu Asp Leu Ser Asn Val Gln
 275 280 285
 Ser Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys His Val Pro Gly Gly Gly
 290 295 300
 Ser Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser Lys Val Thr Ser
 305 310 315 320
 Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro Gly Gly Gly Gln
 325 330 335
 Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp Arg Val Gln Ser
 340 345 350
 Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro Gly Gly Gly Asn
 355 360 365
 Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu Asn Ala Lys Ala
 370 375 380
 Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr Lys Ser Pro Val Val Ser
 385 390 395 400
 Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser
 405 410 415
 Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu Ala Thr Leu Ala Asp Glu Val
 420 425 430
 Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu
 435 440
 <210> 2
 <211> 412
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 2
 Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly
 1 5 10 15
 Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His
 20 25 30
 Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu
 35 40 45

Gln Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly Ser Glu Thr Ser
 50 55 60
 Asp Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Glu Ala Glu Glu Ala Gly Ile Gly
 65 70 75 80
 Asp Thr Pro Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val Thr Gln Ala
 85 90 95
 Arg Met Val Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp Asp Lys Lys
 100 105 110
 Ala Lys Gly Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro Arg Gly Ala
 115 120 125
 Ala Pro Pro Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg Ile Pro Ala
 130 135 140
 Lys Thr Pro Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly Glu Pro Pro
 145 150 155 160
 Lys Ser Gly Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr
 165 170 175
 Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg
 180 185 190
 Glu Pro Lys Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys Ser Pro Ser
 195 200 205
 Ser Ala Lys Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu
 210 215 220
 Lys Asn Val Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln
 225 230 235 240
 Pro Gly Gly Gly Lys Val Gln Ile Ile Asn Lys Lys Leu Asp Leu Ser
 245 250 255
 Asn Val Gln Ser Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys His Val Pro
 260 265 270
 Gly Gly Gly Ser Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser Lys
 275 280 285
 Val Thr Ser Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro Gly
 290 295 300
 Gly Gly Gln Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp Arg
 305 310 315 320
 Val Gln Ser Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro Gly
 325 330 335
 Gly Gly Asn Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu Asn
 340 345 350
 Ala Lys Ala Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr Lys Ser Pro
 355 360 365

Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser
370 375 380

Thr Gly Ser Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu Ala Thr Leu Ala
385 390 395 400

Asp Glu Val Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu
405 410

<210> 3

<211> 383

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly
1 5 10 15

Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His
20 25 30

Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Ala Glu Glu Ala
35 40 45

Gly Ile Gly Asp Thr Pro Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val
50 55 60

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

Asp Lys Lys Ala Lys Gly Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro
85 90 95

Arg Gly Ala Ala Pro Pro Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg
100 105 110

Ile Pro Ala Lys Thr Pro Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly
115 120 125

Glu Pro Pro Lys Ser Gly Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser
130 135 140

Pro Gly Thr Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro
145 150 155 160

Pro Thr Arg Glu Pro Lys Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys
165 170 175

Ser Pro Ser Ser Ala Lys Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met
180 185 190

Pro Asp Leu Lys Asn Val Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu
195 200 205

Lys His Gln Pro Gly Gly Gly Lys Val Gln Ile Ile Asn Lys Lys Leu
210 215 220

Asp Leu Ser Asn Val Gln Ser Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys
225 230 235 240

His Val Pro Gly Gly Gly Ser Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp
245 250 255

Leu Ser Lys Val Thr Ser Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His
 260 265 270
 Lys Pro Gly Gly Gly Gln Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe
 275 280 285
 Lys Asp Arg Val Gln Ser Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His
 290 295 300
 Val Pro Gly Gly Gly Asn Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe
 305 310 315 320
 Arg Glu Asn Ala Lys Ala Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr
 325 330 335
 Lys Ser Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn
 340 345 350
 Val Ser Ser Thr Gly Ser Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu Ala
 355 360 365
 Thr Leu Ala Asp Glu Val Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu
 370 375 380
 <210> 4
 <211> 410
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 4
 Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly
 1 5 10 15
 Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His
 20 25 30
 Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu
 35 40 45
 Gln Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly Ser Glu Thr Ser
 50 55 60
 Asp Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Glu Asp Val Thr Ala Pro Leu Val
 65 70 75 80
 Asp Glu Gly Ala Pro Gly Lys Gln Ala Ala Ala Gln Pro His Thr Glu
 85 90 95
 Ile Pro Glu Gly Thr Thr Ala Glu Glu Ala Gly Ile Gly Asp Thr Pro
 100 105 110
 Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val Thr Gln Ala Arg Met Val
 115 120 125
 Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp Asp Lys Lys Ala Lys Gly
 130 135 140
 Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro Arg Gly Ala Ala Pro Pro
 145 150 155 160
 Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg Ile Pro Ala Lys Thr Pro

```

                165                170                175
Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly Glu Pro Pro Lys Ser Gly
      180                185                190
Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr Pro Gly Ser
      195                200                205
Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg Glu Pro Lys
      210                215                220
Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys Ser Pro Ser Ser Ala Lys
      225                230                235                240
Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu Lys Asn Val
      245                250                255
Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln Pro Gly Gly
      260                265                270
Gly Lys Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser Lys Val Thr
      275                280                285
Ser Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro Gly Gly Gly
      290                295                300
Gln Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp Arg Val Gln
      305                310                315                320
Ser Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro Gly Gly Gly
      325                330                335
Asn Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu Asn Ala Lys
      340                345                350
Ala Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr Lys Ser Pro Val Val
      355                360                365
Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser Ser Thr Gly
      370                375                380
Ser Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu Ala Thr Leu Ala Asp Glu
      385                390                395                400
Val Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu
      405                410

<210> 5
<211> 381
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 5
Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly
1                5                10                15
Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His
      20                25                30
Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Glu Ser Pro Leu
      35                40                45

```

Gln Thr Pro Thr Glu Asp Gly Ser Glu Glu Pro Gly Ser Glu Thr Ser
 50 55 60
 Asp Ala Lys Ser Thr Pro Thr Ala Glu Ala Glu Glu Ala Gly Ile Gly
 65 70 75 80
 Asp Thr Pro Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val Thr Gln Ala
 85 90 95
 Arg Met Val Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp Asp Lys Lys
 100 105 110
 Ala Lys Gly Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro Arg Gly Ala
 115 120 125
 Ala Pro Pro Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg Ile Pro Ala
 130 135 140
 Lys Thr Pro Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly Glu Pro Pro
 145 150 155 160
 Lys Ser Gly Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser Pro Gly Thr
 165 170 175
 Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro Pro Thr Arg
 180 185 190
 Glu Pro Lys Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys Ser Pro Ser
 195 200 205
 Ser Ala Lys Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu
 210 215 220
 Lys Asn Val Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln
 225 230 235 240
 Pro Gly Gly Gly Lys Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val Asp Leu Ser
 245 250 255
 Lys Val Thr Ser Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro
 260 265 270
 Gly Gly Gly Gln Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp Phe Lys Asp
 275 280 285
 Arg Val Gln Ser Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro
 290 295 300
 Gly Gly Gly Asn Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr Phe Arg Glu
 305 310 315 320
 Asn Ala Lys Ala Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val Tyr Lys Ser
 325 330 335
 Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser Asn Val Ser
 340 345 350
 Ser Thr Gly Ser Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu Ala Thr Leu
 355 360 365
 Ala Asp Glu Val Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu

370 375 380
 <210> 6
 <211> 352
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 6
 Met Ala Glu Pro Arg Gln Glu Phe Glu Val Met Glu Asp His Ala Gly
 1 5 10 15
 Thr Tyr Gly Leu Gly Asp Arg Lys Asp Gln Gly Gly Tyr Thr Met His
 20 25 30
 Gln Asp Gln Glu Gly Asp Thr Asp Ala Gly Leu Lys Ala Glu Glu Ala
 35 40 45
 Gly Ile Gly Asp Thr Pro Ser Leu Glu Asp Glu Ala Ala Gly His Val
 50 55 60
 Thr Gln Ala Arg Met Val Ser Lys Ser Lys Asp Gly Thr Gly Ser Asp
 65 70 75 80
 Asp Lys Lys Ala Lys Gly Ala Asp Gly Lys Thr Lys Ile Ala Thr Pro
 85 90 95
 Arg Gly Ala Ala Pro Pro Gly Gln Lys Gly Gln Ala Asn Ala Thr Arg
 100 105 110
 Ile Pro Ala Lys Thr Pro Pro Ala Pro Lys Thr Pro Pro Ser Ser Gly
 115 120 125
 Glu Pro Pro Lys Ser Gly Asp Arg Ser Gly Tyr Ser Ser Pro Gly Ser
 130 135 140
 Pro Gly Thr Pro Gly Ser Arg Ser Arg Thr Pro Ser Leu Pro Thr Pro
 145 150 155 160
 Pro Thr Arg Glu Pro Lys Lys Val Ala Val Val Arg Thr Pro Pro Lys
 165 170 175
 Ser Pro Ser Ser Ala Lys Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met
 180 185 190
 Pro Asp Leu Lys Asn Val Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu
 195 200 205
 Lys His Gln Pro Gly Gly Gly Lys Val Gln Ile Val Tyr Lys Pro Val
 210 215 220
 Asp Leu Ser Lys Val Thr Ser Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His
 225 230 235 240
 His Lys Pro Gly Gly Gly Gln Val Glu Val Lys Ser Glu Lys Leu Asp
 245 250 255
 Phe Lys Asp Arg Val Gln Ser Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr
 260 265 270
 His Val Pro Gly Gly Gly Asn Lys Lys Ile Glu Thr His Lys Leu Thr
 275 280 285

Phe Arg Glu Asn Ala Lys Ala Lys Thr Asp His Gly Ala Glu Ile Val
290 295 300

Tyr Lys Ser Pro Val Val Ser Gly Asp Thr Ser Pro Arg His Leu Ser
305 310 315 320

Asn Val Ser Ser Thr Gly Ser Ile Asp Met Val Asp Ser Pro Gln Leu
325 330 335

Ala Thr Leu Ala Asp Glu Val Ser Ala Ser Leu Ala Lys Gln Gly Leu
340 345 350

<210> 7

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 7

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

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Pro 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

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 8

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 8

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr Tyr Leu His
1 5 10

<210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 9

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

Gly

<210> 10
 <400> 10
 000

<210> 11
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 11
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Thr 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 Trp Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 12
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 12
 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
 1 5 10 15

<210> 13
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 13
 Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser
 1 5

<210> 14
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp

<400> 14

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Tyr Thr

1 5

<210> 15

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 15

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Arg Pro Gly Ala

1 5 10 15

Leu Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr

20 25 30

Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

100 105 110

<210> 16

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 16

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr

20 25 30

Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

100 105 110

<210> 17

<211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 17
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Arg Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Leu Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Pro Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Leu Gly Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 18
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 18
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Pro Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Leu Gly Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 19
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp

<400> 19

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

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asp Gly Asp Thr Val Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 20

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 20

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 21

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 21

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 22
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 22

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 23
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 23

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 24

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Lys Gly Glu Phe Glu Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 25

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

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

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

Tyr Met His Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Leu Val Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Thr

<210> 26

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 27

<211> 100

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
 20 25 30

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

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

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

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

Thr His Trp Pro
 100

<210> 28

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 1 5 10

<210> 29

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser
 20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Arg Val Ser His Trp Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr Tyr Trp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 30

<211> 336

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 30

gaggttcagc	tgacagcagtc	tggggctgac	cttgtgaggc	caggggcctt	agtcaagttg	60
tcctgcaaag	cttctggctt	caacattaaa	gactactatt	tgactgggt	gaggcagagg	120
cctgaacagg	gcctggagtg	gattggatgg	attgatcctg	agaatgggtga	tactgtatat	180
gacccgaagt	tccagggcaa	ggccactata	acagcagaca	catcctccaa	tacagcctac	240
ctgcagctcg	gcagcctgac	atctgaggac	actgccgtct	atttctgttc	tacccttgac	300
ttctggggcc	aaggcaccac	tctcacagtc	tcctca			336

<210> 31

<211> 339

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 31

gatgttgatga	tgacccagac	tccactcact	ttgtcggtta	ccattggaca	accagcctcc	60
atctcttgca	agtcaagtca	gagcctctta	gatagtgatg	gaaagacata	tttgaattgg	120
ttgttacaga	ggccaggcca	gtctccaaag	cgcctaattct	atctgggtgtc	taaactggac	180
tctggagtcc	ctgacagggt	cactggcagt	ggatcaggga	cagatttcac	actgaaaatc	240
agcagagtgg	aggctgagga	tttgggagtt	tattattgct	ggcaagggtac	acattttccg	300
tacacgttcg	gaggggggac	caagctggaa	ataaaaacgt			339

<210> 32

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 32

Asp Tyr Tyr Leu His
1 5

<210> 33

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 33

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
1 5

<210> 34
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 34

Asp Pro Glu Asn Gly Asp
 1 5

<210> 35
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 35

Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val
 1 5 10

<210> 36
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 36

Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu
 1 5

<210> 37
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 37

Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp
 1 5 10

<210> 38
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 38

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Tyr
 1 5

<210> 39
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 39

Lys Asp Tyr Tyr Leu His
 1 5

<210> 40

<211> 13
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 40
 Trp Ile Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val
 1 5 10

<210> 41
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 41
 Ser Thr Leu Asp
 1

<210> 42
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 42
 Gly Phe Thr Ile Lys Asp Tyr Tyr Leu His
 1 5 10

<210> 43
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 43
 Trp Ile Asp Pro Glu Asp Gly Asp Thr Val Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 44
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp

<220>
 <221> ĐẶC ĐIỂM-HỖN TẬP
 <222> (13)..(13)
 <223> Arg hoặc Lys
 <220>
 <221> ĐẶC ĐIỂM-HỖN TẬP
 <222> (67)..(67)
 <223> Lys hoặc Arg
 <400> 44
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Xaa Pro Gly Ala
 1 5 10 15

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Xaa Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 45

<211> 113

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 45

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 46

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 46

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

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

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

Gly Trp Val Asp Pro Glu Asp Gly Asp Thr Val Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 47

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 47

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

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asp Gly Asp Thr Val Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 48

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 48

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

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Glu Lys Phe

50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Leu Gly Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110
 <210> 49
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 49
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Arg Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Leu Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Val Asp Pro Glu Asp Gly Asp Thr Val Tyr Ala Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Leu Gly Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110
 <210> 50
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 50
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Asp Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Leu Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Ile Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Ala Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 51
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Được tổng hợp
<400> 51

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

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

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

Gly Trp Val Asp Pro Glu Asp Gly Asp Thr Val Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

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

<210> 52
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Được tổng hợp
<400> 52

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

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 53
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 53
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Leu Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Asn Phe Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Gly Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 54
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 54
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Leu Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Val Asp Pro Glu Asp Gly Asp Thr Val Tyr Ala Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Gly Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 55
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 55

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

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 56

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 56

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

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 57

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 57

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

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

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

Gly Trp Val Asp Pro Glu Asp Gly Asp Thr Val Tyr Ala Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 58

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 58

Gly Phe Asn Phe Lys Asp Tyr Tyr Leu His
1 5 10

<210> 59

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 59

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Leu His
1 5 10

<210> 60

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 60

Gly Tyr Asn Phe Lys Asp Tyr Tyr Leu His
1 5 10

<210> 61

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 61

Trp Val Asp Pro Glu Asp Gly Asp Thr Val Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 62
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 62
 Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Glu Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 63
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 63
 Trp Val Asp Pro Glu Asp Gly Asp Thr Val Tyr Ala Glu Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 64
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 64
 Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Ala Glu Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 65
 <400> 65
 000

<210> 66
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 66
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Ser Gly Ala
 1 5 10 15

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Asp Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Ala Thr Leu Thr Thr 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

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

<210> 67

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 67

Gly Leu Asn Ile Lys Asp Tyr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 68

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 68

Trp Ile Asp Pro Glu Asn Asp Asp Thr Glu Tyr Ala Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 69

<400> 69

000

<210> 70

<211> 114

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 70

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

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asn Ser Glu Tyr Ala Pro Arg Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Leu 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

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

Ser Ser

<210> 71

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 71

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

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Pro Lys Phe
 50 55 60

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

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 72

<211> 442

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 72

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

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Pro 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

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 100 105 110

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 115 120 125
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 130 135 140
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 145 150 155 160
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 165 170 175
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 180 185 190
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 195 200 205
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 210 215 220
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 225 230 235 240
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 245 250 255
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 260 265 270
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 275 280 285
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 290 295 300
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 305 310 315 320
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 325 330 335
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 340 345 350
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 355 360 365
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 370 375 380
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 385 390 395 400
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 405 410 415
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 420 425 430

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

<210> 73

<211> 219

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 73

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Thr 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 Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

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

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 74

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Asn Asn Tyr

20 25 30
 Trp Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Gly Tyr Ile Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ala
 115

<210> 75
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 75

Gln 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 Asn Ile Lys Asp Thr
 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 Asp Pro 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

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

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

Ser Ser

<210> 76
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 76

Gln 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 Asn Ile Lys Asp Tyr
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Pro 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

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 77

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 77

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

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 78

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 78

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

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Ile Tyr Asp Pro Lys Phe

50 55 60
 Gln Gly Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110
 <210> 79
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 79
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Ile Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Ile Tyr Asp Pro Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110
 <210> 80
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 80
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Ile Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Asp Pro Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 81

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 81

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

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

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Val Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Thr 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 Val Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 82

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 82

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

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

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp 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 His Tyr Cys Glu Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 83

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 83

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp 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 His Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 84

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 84

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 85

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 85

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Leu Gly

Gly Phe Thr Ile Lys Asp Tyr Tyr Leu His
1 5 10

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

<210>	88
<211>	17
<212>	PRT
<213>	Trình tự nhân tạo
<220>	
<223>	Được tổng hợp
<400>	88

Trp Ile Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Asp Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15

<210>	89
<211>	16
<212>	PRT
<213>	Trình tự nhân tạo
<220>	

<223> Được tổng hợp

<400> 89

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 90

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 90

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

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Val Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 91

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 91

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

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Val Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 92
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 92
 Trp Ile Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Val Tyr Asp Pro Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 93
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 93
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Asp Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 94
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 94
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Gly Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

40

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 97

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 97

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Glu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 98

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 98

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Gln Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 99

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 99

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Asp Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 100

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 100

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Lys Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 101

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 101

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Arg Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 102

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 102

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Thr Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 103

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 103

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Gly Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 104

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 104

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Gly Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 105

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 105

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Asp Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 106
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 106
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Gly Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 107
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 107
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Glu Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 108

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 108

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Val Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 109

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 109

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Ser Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 110
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 110
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Gly Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 111
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 111
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Asn Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 112
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 112

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

Pro Arg Arg Asp Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 113

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 113

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

Pro Arg Arg Glu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 114

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 114

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Pro Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 115

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 115

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Thr Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 116

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 116

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser

35 40 45
 Pro Arg Arg Ser Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 117
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 117
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Ala Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 118
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 118
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Val Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 119

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 119

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Gly Val Ser Lys Gly Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 120

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 120

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Glu Val Ser Lys Gly Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 121

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 121

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Gly Lys Gly Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 122

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 122

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Gly Lys Arg Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 123

<211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 123
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Gly Lys Thr Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 124
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 124
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Gly Lys Asp Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 125
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp

<400> 125

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Gly Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 126

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 126

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Gly Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 127

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 127

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser

20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Asp Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 128
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 128
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Gly Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 129
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 129
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Asp Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 130

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 130

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Asp Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 131

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 131

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Gly Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 132

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo.

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 132

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Asp Val Ser Lys Gly Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 133

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 133

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Asp Val Ser Lys Arg Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 134
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 134

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Glu Val Ser Lys Gly Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 135
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 135

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Glu Val Ser Lys Arg Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 136
 <211> 112
 <212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 136

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Gly Val Ser Lys Arg Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 137

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 137

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Gly Val Ser Lys Gly Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 138

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 138

Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly

60

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Asp Val Ser Lys Gly Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 141

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 141

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Asp Val Ser Lys Arg Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 142

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 142

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Val Val Ser Lys Asp Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 143

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 143

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 144

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 144

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly

85 90 95
 Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 145
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 145
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
 20 25 30
 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Glu Asp Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 146
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 146
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Glu Pro Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Leu Gly Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 147
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 147
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Pro Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Leu Gly Ser Val Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 148
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 148
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Leu His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Glu Pro Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Gly Ser Val Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 149
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>

<223> Được tổng hợp

<400> 149

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

Gly

<210> 150

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 150

Leu Val Ser Lys Asp Asp Ser
1 5

<210> 151

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 151

Leu Val Ser Lys Gly Asp Ser
1 5

<210> 152

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 152

Leu Val Ser Lys Asn Asp Ser
1 5

<210> 153

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 153

Leu Val Ser Lys Glu Asp Ser
1 5

<210> 154

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 154

Glu Val Ser Lys Leu Asp Ser
1 5

<210> 155

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 155

Leu Val Ser Lys Gln Asp Ser

1 5

<210> 156

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 156

Asp Val Ser Lys Leu Asp Ser

1 5

<210> 157

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 157

Leu Val Ser Lys Lys Asp Ser

1 5

<210> 158

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 158

Leu Val Ser Lys Arg Asp Ser

1 5

<210> 159

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 159

Leu Val Ser Lys Thr Asp Ser

1 5

<210> 160

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 160

Gly Val Ser Lys Leu Asp Ser

1 5

<210> 161

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Được tổng hợp
<400> 161
Leu Val Ser Lys Val Asp Ser
1 5

<210> 162
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Được tổng hợp
<400> 162
Leu Val Ser Lys Ser Asp Ser
1 5

<210> 163
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Được tổng hợp
<400> 163
Leu Val Gly Lys Leu Asp Ser
1 5

<210> 164
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Được tổng hợp
<400> 164
Val Val Ser Lys Leu Asp Ser
1 5

<210> 165
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Được tổng hợp
<400> 165
Gly Val Ser Lys Arg Asp Ser
1 5

<210> 166
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Được tổng hợp
<400> 166
Gly Val Ser Lys Gly Asp Ser
1 5

<210> 167
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>

<223> Được tổng hợp
<400> 167
Leu Val Gly Lys Gly Asp Ser
1 5

<210> 168
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Được tổng hợp
<400> 168
Leu Val Gly Lys Arg Asp Ser
1 5

<210> 169
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Được tổng hợp
<400> 169
Leu Val Gly Lys Thr Asp Ser
1 5

<210> 170
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Được tổng hợp
<400> 170
Leu Val Gly Lys Asp Asp Ser
1 5

<210> 171
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Được tổng hợp
<400> 171
Asp Val Ser Lys Gly Asp Ser
1 5

<210> 172
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Được tổng hợp
<400> 172
Asp Val Ser Lys Arg Asp Ser
1 5

<210> 173
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Được tổng hợp

<400> 173

Glu Val Ser Lys Gly Asp Ser

1

5

<210> 174

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 174

Glu Val Ser Lys Arg Asp Ser

1

5

<210> 175

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 175

Val Val Ser Lys Asp Asp Ser

1

5

<210> 176

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 176

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1

5

10

15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20

25

30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35

40

45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50

55

60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65

70

75

80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85

90

95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100

105

110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115

120

125

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

130

135

140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145

150

155

160

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

165

170

175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 177

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 177

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

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

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

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

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

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 178

<211> 442

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 178

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

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

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Asn Gly Asp Thr Val Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ser Thr Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

72

72

210 215 220
 Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
 225 230 235 240
 Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 245 250 255
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 260 265 270
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
 275 280 285
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 290 295 300
 Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 305 310 315 320
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 325 330 335
 Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 340 345 350
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 355 360 365
 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 370 375 380
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 385 390 395 400
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 405 410 415
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 420 425 430
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 435 440 445
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455 460
 <210> 181
 <211> 238
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp
 <400> 181
 Met Met Ser Phe Val Ser Leu Leu Leu Val Gly Ile Leu Phe His Ala
 1 5 10 15
 Thr Gln Ala Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
 20 25 30
 Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu

35 40 45
 Leu Asp Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro
 50 55 60
 Gly Gln Ser Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Leu Val Gly Lys Arg Asp 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 Val Gly Val Tyr Tyr Cys
 100 105 110
 Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 115 120 125
 Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
 130 135 140
 Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
 145 150 155 160
 Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
 165 170 175
 Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
 180 185 190
 Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
 195 200 205
 Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
 210 215 220
 Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

<210> 182

<211> 1398

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 182

atgatgtcct ttgtctctct gctcctgggtt ggcattcctat tccatgccac ccaggccgag 60
 gtgcagctgg tgcagtctgg ggcagagggtt gtgaagccag gggccacagt caagatctcc 120
 tgtaaggctt ctggcttcaa cattaaagac tactatctgc actgggtgcg gcagaggcct 180
 ggacagggcc tggagtggat tggatggatt gatcctgaga atggtgatac tgtgtatgac 240
 ccgaagttcc agggcagggc cactataaca gcagacacat ccaccgacac agcctacctg 300
 cagctcggca gcctgacatc tgaggacact gccgtctatt tctgttctac cctggacttc 360
 tggggccaag gcacccttgt cacagtctcc tcagcctcca ccaagggccc atcgggtcttc 420
 cccctggcac cctctagcaa gagcacctct gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc 480
 aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc 540
 gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc tcaggactct actccctcag cagcgtgggtg 600
 accgtgccct ccagcagctt gggcacccag acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc 660
 agcaacacca aggtggacaa gaaggttgag cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc 720
 ccaccgtgcc cagcacctga actcctgggg ggaccgtcag tcttcctctt cccccaaaa 780
 cccaaggaca cctcatgat ctcccgacc cctgaggtca catgcgtggg ggtggacgtg 840
 agccacgaag accctgaggt caagttcaac tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat 900
 gccaaagacaa agccgagaga ggagcagtac aacagcacgt accgtgtggg cagcgtcctc 960


```

accgtcctgc accaggactg gctgaatggc aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa 1020
gccctcccag ccccatcgga gaaaaccatc tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca 1080
caggtgtaca ccctgcccc atcccgggag gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc 1140
tgcttgggtca aaggcttcta tcccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggag 1200
ccggagaaca actacaagac caccgctccc gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc 1260
tattccaaac tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcattgctc 1320
gtgatgcatg aggtctcgca caaccactac acgcagaaga gcctctccct gtctcccgag 1380
aatgatgag atctcgag 1398

```

<210> 183

<211> 729

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Được tổng hợp

<400> 183

```

atgatgtcct ttgtctctct gctcctgggt ggcattctat tccatgccac ccaggccgat 60
gttgtgatga cccagtctcc actctctttg ccggttacct ttggacaacc tgctccatc 120
tcttgcaagt caagtcagag cctcttagat agtgatgga agacatattt gaattgggtg 180
caacagaggg caggccagtc tccacggcgc ctaattctatc tgggtgggcaa acgggactct 240
ggagtccctg acaggttcag tggcagtgga tcagggacag atttcacact gaaaatcagc 300
agagtggagg ctgaggatgt gggagtttat tattgctggc aaggcacaca ttttccgtac 360
acgttcggag gggggaccaa gctggaaata aaacgaactg tggctgcacc atctgtcttc 420
atcttcccg cactctgatga gcagcttaag tccggaaactg ctacgcttgt gtgctgctg 480
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 540
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 600
agcaccctga cgtgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 660
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttagtga 720
gatctcgag 729

```

<210> 184

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 184

```

Asn Val Lys Ser Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His Gln Pro
1           5           10           15

```

Gly

<210> 185

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 185

```

Asn Val Gln Ser Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys His Val Pro
1           5           10           15

```

Gly

<210> 186

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 186

```

Lys Val Thr Ser Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His Lys Pro
1           5           10           15

```

Gly

<210> 187
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 187
 Arg Val Gln Ser Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His Val Pro
 1 5 10 15

Gly

<210> 188
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 188
 Lys Ile Gly Ser Thr Glu Asn Leu Lys His
 1 5 10

<210> 189
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 189
 Asn Val Lys Ser
 1

<210> 190
 <400> 190
 000

<210> 191
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Được tổng hợp

<220>
 <221> ĐẶC ĐIỂM-HỖN TẬP
 <222> (2)..(3)
 <223> Xaa = axit amin bất kỳ
 <220>
 <221> ĐẶC ĐIỂM-HỖN TẬP
 <222> (5)..(6)
 <223> Xaa = axit amin bất kỳ
 <220>
 <221> ĐẶC ĐIỂM-HỖN TẬP
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa = axit amin bất kỳ
 <220>
 <221> ĐẶC ĐIỂM-HỖN TẬP
 <222> (9)..(9)
 <223> Xaa = Lys hoặc His
 <400> 191
 Lys Xaa Xaa Ser Xaa Xaa Asn Xaa Xaa His
 1 5 10

<210> 192
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 192
Lys Cys Gly Ser Lys Asp Asn Ile Lys His
1 5 10

<210> 193
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 193
Lys Cys Gly Ser Leu Gly Asn Ile His His
1 5 10

<210> 194
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 194
Lys Ile Gly Ser Leu Asp Asn Ile Thr His
1 5 10