



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

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



1-0044636

(51)^{2020.01} C07K 16/30; A61P 35/00; A61P 37/00; (13) B
C12N 15/63; C07K 16/46; C12N 15/13;
A61K 39/395

(21) 1-2021-03761

(22) 06/12/2019

(86) PCT/CN2019/123548 06/12/2019

(87) WO2020/114478 11/06/2020

(30) 201811491781.3 07/12/2018 CN

(45) 25/04/2025 445

(43) 25/10/2021 403A

(71) 1. JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD. (CN)

No.7 Kunlunshan Road, Economic and Technological Development Zone,
Lianyungang, Jiangsu 222047, P.R. China

2. SHANGHAI HENGRUI PHARMACEUTICAL CO., LTD. (CN)

No. 279 Wenjing Road, Minhang District, Shanghai, 200245, P.R. China

(72) YING, Hua (US); ZHANG, Ling (CN); YANG, Xiaoying (CN); GE, Hu (CN); TAO,
Weikang (US).

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Thảo Thọ Quyền (INVENCO.,LTD)

(54) KHÁNG THỂ LIÊN KẾT ĐẶC HIỆU VỚI CD3, DƯỢC PHẨM CHỨA NÓ VÀ
PHƯƠNG PHÁP TẠO RA KHÁNG THỂ NÀY

(21) 1-2021-03761

(57) Sáng chế đề cập đến kháng thể liên kết đặc hiệu với CD3 và dược phẩm chứa kháng thể này. Cụ thể là, sáng chế đề cập đến việc tạo thành kháng thể đa đặc hiệu bằng cách sử dụng kháng thể CD3 và phân tử liên kết của đích khác. Kháng thể đa đặc hiệu có thể liên kết đồng thời với CD3 và kháng nguyên liên quan đến khối u khác, và liên kết và hoạt hóa tế bào T dương tính CD3 trong khi liên kết các tế bào biểu hiện kháng nguyên liên quan đến khối u, nhờ đó thúc đẩy các tế bào T diệt đặc hiệu tế bào khối u biểu hiện kháng nguyên liên quan đến khối u.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các kháng thể CD3 như các kháng thể CD3 được làm giống người, và các kháng thể đa đặc hiệu liên kết đồng thời với CD3 và (các) kháng nguyên liên quan đến khối u.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

CD3 là đồng thụ thể tế bào T bao gồm bốn chuỗi khác nhau (Wucherpfennig, KW *et al.* (2010) Structural Biology of The T cell Receptor: Insights Into Receptor Assembly, Ligand Recognition, and Initiation of Signaling, Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2(4):A005140; pages 1-14; Chetty, R. *et al.* (1994) CD3:Structure, Function, And Role Of Immunostaining In Clinical Practice, J. Pathol. 173(4):303-307; Guy, C.S. *et al.* (2009) Organization of Proximal Signal Initiation at the TCR:CD3 Complex, Immunol.Rev.232(1):7-21).

Ở động vật có vú, phức hợp này được tạo thành bởi các chuỗi đơn vị CD3 được liên kết với phân tử thụ thể tế bào (T cell receptor-TCR) để tạo ra các tín hiệu hoạt hóa trong các lympho bào T (Smith-Garvin, JE *et al.* (2009) T Cell Activation, Annu. Rev. Immunol. 27:591-619). Khi không có mặt CD3, TCR không thể được quản lý thích hợp cũng không được phân hủy (Thomas, S. *et al.* (2010) Molecular Immunology Lessons From Therapeutic T cell Receptor Gene Transfer, Immunology 129(2): 170-177). Các nghiên cứu đã cho thấy rằng CD3 liên kết với các màng của tất cả tế bào T trưởng thành và khó liên kết với các loại tế bào khác (Janeway, C.A. *et al.* (2005): Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 6th Edition, Garland Science Publishing, NY, pp.214-216; Sun, Z.J. *et al.* (2001) Mechanisms Contributing to T Cell Receptor Signaling and Assembly Revealed by the Solution Structure of an Ectodomain Fragment of the CD3 ϵ : γ Heterodimer, Cell 105 (7): 913-923; Kuhns, M.S. *et al.* (2006) Deconstructing the Form and Function of the TCR/CD3 Complex, Immunity. 2006 Feb, 24(2): 133-139).

Thành phần truyền tín hiệu CD3 ϵ cố định của phức hợp thụ thể tế bào T (TCR) trên tế bào T đã được sử dụng làm đích để thúc đẩy sự tạo thành các synap miễn dịch giữa các tế bào T và các tế bào khối u. Cùng với CD3 và (các) kháng nguyên khối u hoạt

hóa các tế bào T, dẫn đến làm tiêu các tế bào khối u biểu hiện (các) kháng nguyên khối u (Baeuerle *et al.* (2011) Bispecific T Cell Engager for Cancer Therapy, In: Bispecific Antibodies, Kontermann, R.E.(Ed.) Springer-Verlag; 2011:273-287). Phương pháp này cho phép các kháng thể đặc hiệu kép tương tác hoàn toàn với các ngăn tế bào T với tính đặc hiệu cao như tương tác với các tế bào khối u, và phương pháp này có thể ứng dụng rộng rãi với nhiều kháng nguyên khối u bề mặt tế bào.

B7H3 là thành phần của họ B7 và thuộc protein xuyên qua màng typ I. Nó chứa peptit tín hiệu ở đầu tận cùng amino, vùng biến đổi giống immunoglobulin ngoại bào (IgV), vùng hằng định (IgC), vùng xuyên màng và vùng đuôi bào chất chứa 45 axit amin (Tissue Antigens. 2007 Aug; 70 (2): 96-104). Gần đây, B7H3 chủ yếu có hai loại dạng ghép nối, B7H3a và B7H3b. Mảnh ngoại bào của B7H3a bao gồm hai khu vực immunoglobulin, IgV-IgC, cũng được biết là 2IgB7H3, trong khi mảnh ngoại bào của B7H3b bao gồm bốn khu vực immunoglobulin, IgV-IgC-IgV-IgC, cũng được biết là 4IgB7H3.

Protein B7H3 không có mặt trong các mô và tế bào bình thường, hoặc được biểu hiện trong các mô và tế bào bình thường ở mức cực kỳ thấp; tuy nhiên, nó được biểu hiện cao trong nhiều mô khối u khác nhau, và liên quan gần gũi với sự tiến triển khối u, sự sống sót và tiên lượng của người bệnh. Đã được thông báo về mặt lâm sàng rằng B7H3 được biểu hiện quá mức trong nhiều loại ung thư khác nhau, đặc biệt là trong ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư thận, ung thư biểu mô đường tiết niệu, ung thư trực tràng ruột kết, ung thư tuyến tiền liệt, u nguyên bào đệm đa hình thể, ung thư buồng trứng và ung thư tụy. (Lung cancer. 2009 Nov; 66(2): 245-249; Clin Cancer Res. 2008 Aug 15; 14(16): 5150-5157). Ngoài ra, cũng đã được thông báo trong các tài liệu rằng cường độ biểu hiện B7H3 là tương quan rõ ràng với tính ác tính bệnh học lâm sàng trong ung thư tuyến tiền liệt (như thể tích khối u, sự xâm lấn ra ngoài tuyến tiền liệt hoặc điểm số Gleason), và cũng liên quan đến sự tiến triển bệnh ung thư (Cancer Res. 2007 Aug 15; 67 (16): 7893-7900). Tương tự, sự biểu hiện của B7H3 có tương quan bất lợi với sự sống sót không bệnh trong u nguyên bào đệm đa hình thể, và sự biểu hiện của B7H3 có tương quan với sự di căn bạch huyết và sự tiến triển bệnh trong ung thư tụy. Do đó, B7H3 được xem là dấu chuẩn khối u mới và đích chữa trị tiềm năng.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất kháng thể hoặc các mảnh gắn kết kháng nguyên của nó có thể liên

kết đặc hiệu với CD3 người.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ, trong đó vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa LCDR1, LCDR2, và LCDR3 như được thể hiện tương ứng trong trình tự nêu trong SEQ ID NO: 48, 49, và 50, và

vùng biến đổi chuỗi nặng là một bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm từ i) đến v) sau:

- i) vùng biến đổi chuỗi nặng chứa HCDR1, HCDR2 và HCDR3 như được thể hiện tương ứng trong trình tự nêu trong SEQ ID NO: 37, 38 và 39;
- ii) vùng biến đổi chuỗi nặng chứa HCDR1, HCDR2 và HCDR3 như được thể hiện tương ứng trong trình tự nêu trong SEQ ID NO: 37, 40 và 41;
- iii) vùng biến đổi chuỗi nặng chứa HCDR1, HCDR2 và HCDR3 như được thể hiện tương ứng trong trình tự nêu trong SEQ ID NO: 37, 40 và 42;
- iv) vùng biến đổi chuỗi nặng chứa HCDR1, HCDR2 và HCDR3 như được thể hiện tương ứng trong trình tự nêu trong SEQ ID NO: 37, 40 và 43; và
- v) vùng biến đổi chuỗi nặng chứa HCDR1, HCDR2 và HCDR3 như được thể hiện tương ứng trong trình tự nêu trong SEQ ID NO: 37, 47 và 45.

Trong một số phương án, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người là kháng thể được làm giống người hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

Trong một số phương án, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự nêu trong SEQ ID NO: 36 và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nặng như được thể hiện trong một bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm trình tự nêu trong SEQ ID NO: 29, 30, 31, 32 và 35.

Trong một số phương án, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người bao gồm thêm vùng hằng định chuỗi nhẹ và/hoặc vùng hằng định chuỗi nặng kháng thể; tùy ý, vùng hằng định chuỗi nhẹ là vùng hằng định chuỗi nhẹ của chuỗi kappa, lambda người hoặc biến thể của nó, và vùng hằng định chuỗi nặng là vùng hằng định chuỗi nặng của IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 người hoặc biến thể của nó.

Trong một số phương án, mảnh gắn kết kháng nguyên được chọn từ Fab, Fab', F(ab')₂, vùng V được đime hóa (diabody) và vùng V được ổn định liên kết disulfua

(disulfide-stabilized V region-dsFv).

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kháng thể chuỗi đơn chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ và vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người như được mô tả trên đây.

Trong một số phương án, trình tự của kháng thể chuỗi đơn là như được thể hiện trong trình tự nêu trong SEQ ID NO: 55, 56, 57, 58, 61, 62, 63, 64, 65 hoặc 68.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kháng thể đa đặc hiệu liên kết đặc hiệu với CD3 người và (các) kháng nguyên liên quan đến khối u (TAA), kháng thể đa đặc hiệu bao gồm kháng thể chuỗi đơn hoặc kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người như được mô tả trên đây.

Trong một số phương án của kháng thể đa đặc hiệu, kháng nguyên liên quan đến khối u được chọn từ nhóm bao gồm AFP, ALK, B7H3, BAGE protein, BCMA, BIRC5(survivin), BIRC7, β -catenin, bcr-ab1, BRCA1, BORIS, CA9, CA125, carbonic anhydrase IX, caspase -8, CALR, CCR5, CD19, CD20(MS4A1), CD22, CD30, CD33, CD38, CD40, CD123, CD133, CD138, CDK4, CEA, Claudin 18.2, cyclin-B1, CYP1B1, EGFR, EGFRvIII, ErbB2/Her2, ErbB3, ErbB4, ETV6-AML, EpCAM, EphA2, Fra-1, FOLR1, protein GAGE (như GAGE-1, -2), GD2, GD3, GloboH, Glypican-3, GM3, gp100, Her2, HLA/B-raf, HLA/k-ras, HLA/MAGE-A3, hTERT, IL13R α 2, LMP2, κ -Light, LeY, protein MAGE (như MAGE-1, -2, -3, -4, -6 và -12), MART-1, mesothelin, ML-IAP, MOV- γ , Muc1, Muc2, Muc3, Muc4, Muc5, Muc16(CA-125, MUM1, NA17, NKG2D, NY-BR1, NY-BR62, NY-BR85, NY-ESO1, OX40, p15, p53, PAP, PAX3, PAX5, PCTA-1, PLAC1, PRLR, PRAME, PSMA (FOLH1), RAGE protein, Ras, RGS5, Rho, ROR1, SART-1, SART-3, STEAP1, STEAP2, TAG-72, TGF- β , TMPRSS2, kháng nguyên Thompson-nouvelle (Tn), TRP-1, TRP-2, tyrosinase, uroplakin-3 và 5T4 (Glycoprotein lá nuôi). Ưu tiên là, kháng nguyên liên quan đến khối u được chọn từ nhóm bao gồm B7H3, BCMA, CEA, CD19, CD20, CD38, CD138, Claudin 18.2, PSMA và mesothelin.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa khối lượng hữu hiệu để điều trị bệnh kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người, kháng thể chuỗi đơn, hoặc kháng thể đa đặc hiệu như được mô tả trên đây, và một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng, đệm hoặc tá dược được dùng. Trong một số phương án, khối lượng hữu hiệu để điều trị bệnh nghĩa là chế phẩm chứa liều dùng

đơn vị từ 0,1-3000 mg (ưu tiên hơn 1-1000 mg) kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người, kháng thể chuỗi đơn, hoặc kháng thể đa đặc hiệu như được mô tả trên đây.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic được phân lập, mã hóa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người, mã hóa kháng thể chuỗi đơn, hoặc mã hóa kháng thể đa đặc hiệu như được mô tả trên đây.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất vector tái tổ hợp chứa phân tử axit nucleic được phân lập như được mô tả trên đây.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất tế bào chủ biến nạp vector tái tổ hợp được đề cập trên đây, và tế bào chủ được chọn từ tế bào tiền nhân và tế bào nhân chuẩn, ưu tiên là tế bào nhân chuẩn, ưu tiên hơn tế bào động vật có vú hoặc tế bào côn trùng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người, kháng thể chuỗi đơn, hoặc kháng thể đa đặc hiệu như được mô tả trên đây, phương pháp này bao gồm nuôi cấy tế bào chủ như được mô tả trên đây trong môi trường nuôi cấy để tạo thành và tích tụ kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người, kháng thể chuỗi đơn, hoặc kháng thể đa đặc hiệu như được mô tả trên đây, và thu hồi kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, kháng thể chuỗi đơn hoặc kháng thể đa đặc hiệu từ dịch nuôi cấy này.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người, kháng thể chuỗi đơn, kháng thể đa đặc hiệu, dược phẩm, hoặc phân tử axit nucleic được phân lập như được mô tả trên đây, làm thuốc. Trong một số phương án, thuốc là thuốc để hoạt hóa tế bào T; Trong một số phương án, thuốc là thuốc để điều trị bệnh ung thư, bệnh tự miễn hoặc bệnh viêm.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất sử dụng kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người, kháng thể chuỗi đơn, kháng thể đa đặc hiệu, dược phẩm, hoặc phân tử axit nucleic được phân lập như được mô tả trên đây để bào chế thuốc để hoạt hóa tế bào T.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp hoạt hóa tế bào T, phương pháp

này bao gồm dùng cho đối tượng khối lượng hữu hiệu để điều trị bệnh kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người, kháng thể chuỗi đơn, kháng thể đa đặc hiệu, dược phẩm, hoặc phân tử axit nucleic được phân lập như được mô tả trên đây. Trong một số phương án, phương pháp này bao gồm dùng cho đối tượng chế phẩm chứa liều dùng đơn vị từ 0,1-3000 mg (ưu tiên hơn 1-1000 mg) kháng thể đa đặc hiệu như được mô tả trên đây, hoặc dược phẩm, hoặc phân tử axit nucleic được phân lập như được mô tả trên đây.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, bệnh tự miễn hoặc bệnh viêm, phương pháp này bao gồm dùng cho đối tượng khối lượng hữu hiệu để điều trị bệnh kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người, kháng thể chuỗi đơn, kháng thể đa đặc hiệu, dược phẩm, hoặc phân tử axit nucleic được phân lập như được mô tả trên đây. Trong một số phương án, phương pháp này bao gồm dùng cho đối tượng chế phẩm chứa liều dùng đơn vị từ 0,1-3000 mg (ưu tiên hơn 1-1000 mg) kháng thể đa đặc hiệu như được mô tả trên đây, hoặc dược phẩm, hoặc phân tử axit nucleic được phân lập như được mô tả trên đây.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người, kháng thể chuỗi đơn, kháng thể đa đặc hiệu, dược phẩm, hoặc phân tử axit nucleic được phân lập như được mô tả trên đây để bào chế thuốc để điều trị bệnh ung thư, bệnh tự miễn hoặc bệnh viêm.

Trong một số phương án, bệnh ung thư được mô tả trên đây là một bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm caxinom, u lympho, u nguyên bào, sacom, bệnh bạch cầu và bệnh bạch huyết ác tính. Các ví dụ cụ thể hơn về bệnh ung thư bao gồm caxinom tế bào vảy, u tủy, u phổi tế bào nhỏ, u phổi tế bào không nhỏ (NSCLC), caxinom tế bào vảy đầu và cổ (HNSCC), u thần kinh đệm, u lympho Hodgkin, u lympho không Hodgkin, u lympho tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL), u lympho nang, bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính (ALL), bệnh bạch cầu dạng tủy bào cấp tính (AML), bệnh bạch cầu tế bào lympho mạn tính (CLL), bệnh bạch cầu dạng tủy bào mạn tính (CML), u lympho tế bào B lớn trung thất nguyên phát, u lympho tế bào vỏ (MCL), u lympho tế bào lympho nhỏ (SLL), u lympho tế bào B lớn giàu tế bào T/mô bào, chứng đau tủy, bệnh bạch cầu dạng tủy bào-protein 1 (Mcl-1), hội chứng loạn sinh tủy (MDS), ung thư (dài) dạ dày ruột, ung thư thận, ung thư buồng trứng, ung thư gan, bệnh bạch cầu nguyên bào lympho, bệnh bạch cầu tế bào lympho, ung thư trực tràng ruột kết, ung thư áo niêm mạc tử cung, ung thư thận, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tuyến giáp, u melanin, sacôm sụn, u nguyên bào thần kinh, ung thư tụy, u nguyên bào đệm đa hình

thể, ung thư dạ dày, ung thư xương, sarcoma Ewing, ung thư cổ, ung thư não, ung thư dạ dày, ung thư bàng quang, khối u tế bào gan, ung thư vú, ung thư ruột kết, ung thư tế bào gan (hepatocellular cancer HCC), sarcoma tế bào thận tế bào sáng (RCC), ung thư đầu và cổ, ung thư hầu-thanh quản, ung thư gan-ống gan, ung thư hệ thần kinh trung ương, ung thư thực quản, u trung biểu mô màng phổi ác tính, bệnh thoái biến dạng bột (amyloidosis) chuỗi nhẹ toàn thân, u lympho lympho bào-bào tương, hội chứng loạn sinh tủy, khối u tăng sinh tủy xương, khối u thần kinh nội tiết, ung thư tế bào Merkel, ung thư tinh hoàn, và ung thư da. Trong một số phương án, bệnh ung thư là bệnh ung thư liên quan đến tế bào dương tính B7-H3; ưu tiên là ung thư vú, ung thư buồng trứng, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tụy, ung thư thận, u phổi, ung thư gan, ung thư dạ dày, ung thư ruột kết, ung thư bàng quang, ung thư thực quản, ung thư cổ, ung thư túi mật, u nguyên bào đệm hoặc u melanin.

Trong một số phương án, bệnh tự miễn hoặc bệnh viêm được mô tả trên đây là một bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh vẩy nến, bệnh Crohn, viêm loét ruột dạng thấp, bệnh xơ cứng rải rác, bệnh đái tháo đường typ I, bệnh viêm gan, viêm cơ tim, hội chứng Sjogren, thiếu máu tan huyết tự miễn sau khi cấy ghép, dạng pemphigut nang, bệnh Graves, viêm tuyến giáp Hashimoto, lupus ban đỏ toàn thân (SLE), bệnh nhược cơ năng, thiếu máu ác tính và pemphigut.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1A và Fig. 1B: Fig. 1A là giản đồ về kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai, và Fig. 1B là giản đồ về kháng thể đặc hiệu kép hóa trị một.

Fig. 2A đến Fig. 2D: Sự phát hiện các kháng thể bằng đếm dòng tế bào đối với hoạt tính liên kết với các tế bào có biểu hiện hoặc không có biểu hiện kháng nguyên tương ứng. Fig. 2A thể hiện sự phát hiện hoạt tính của nhiều kháng thể khác nhau liên kết với tế bào A498 biểu hiện B7H3 người; Fig. 2B thể hiện sự phát hiện hoạt tính của nhiều kháng thể khác nhau liên kết với tế bào CT26 biểu hiện quá mức B7H3 người; Fig. 2C thể hiện sự phát hiện hoạt tính của nhiều kháng thể khác nhau liên kết với tế bào CT26 không biểu hiện B7H3 người, và các kết quả cho thấy rằng không một kháng thể nào liên kết với tế bào CT26 mà không biểu hiện B7H3 người; Fig. 2D thể hiện sự phát hiện hoạt tính của nhiều kháng thể khác nhau liên kết với tế bào tái tổ hợp Jurkat biểu hiện CD3. Các trục thẳng đứng trong Fig. 2A đến Fig. 2D là giá trị trung bình nhân của tín hiệu phát huỳnh quang.

Fig. 3A đến Fig. 3B: Phát hiện hoạt tính của các kháng thể đặc hiệu kép bao gồm các CD3 scFv khác nhau để diệt A498. Fig. 3A thể hiện hoạt tính diệt của kháng thể đặc hiệu kép hóa trị một B7H3. Fig. 3B thể hiện hoạt tính diệt của kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3. Tất cả kháng thể đặc hiệu kép thể hiện hoạt tính diệt rõ ràng, dù là B7H3 hóa trị một hoặc hóa trị hai, ngoại trừ 155, 156, 185 và 186 có hoạt tính diệt yếu hơn A498.

Fig. 4A đến Fig. 4B: So sánh hoạt tính diệt A498 giữa các kháng thể đặc hiệu kép hóa trị một và hai B7H3 bao gồm CD3 scFv giống nhau. Fig. 4A thể hiện sự so sánh hoạt tính diệt giữa các kháng thể đặc hiệu kép B7H3 hóa trị một (181) và hóa trị hai (131) chứa HRH1. Fig. 4B thể hiện sự so sánh hoạt tính diệt giữa B7H3 hóa trị một (187) và hóa trị hai (177) chứa HRH7. Tất cả các kết quả thí nghiệm cho thấy rằng kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 có hoạt tính diệt A498 rõ ràng hơn so với các kháng thể đặc hiệu kép hóa trị một B7H3. Đồng thời, kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 có hoạt tính diệt mạnh hơn đáng kể so với hoạt tính của các kháng thể đặc hiệu kép hóa trị một B7H3.

Fig. 5A đến Fig. 5C: Phát hiện hoạt tính diệt A498 của kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng CD3 giống nhau, nhưng có trật tự sắp xếp khác nhau. Fig. 5A thể hiện sự so sánh hoạt tính diệt của kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 chứa chuỗi polypeptit thứ nhất chứa HRH2, trong đó chuỗi polypeptit thứ nhất được sắp xếp theo các trật tự khác nhau (AFF1, AFF2, AFF3, AFF4). Fig. 5B thể hiện sự so sánh hoạt tính diệt của kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 chứa chuỗi polypeptit thứ hai chứa HRH2, trong đó chuỗi polypeptit thứ hai được sắp xếp theo các trật tự khác nhau (AFF3, AFF3-B). Các kết quả cho thấy rằng tất cả kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 có trình tự giống nhau nhưng có sự sắp xếp khác nhau của VH và VL có hoạt tính diệt tế bào A498 đáng kể, và các phân tử có trật tự sắp xếp khác nhau có hoạt tính diệt tương tự. Fig. 5C thể hiện sự so sánh hoạt tính diệt giữa các kháng thể đặc hiệu kép chứa B7H3 scFv và CD3 scFv giống nhau, nhưng có cấu trúc khác nhau. Ba kháng thể đặc hiệu kép thử nghiệm 127, 201 và 202 tất cả có khả năng diệt tế bào khối u A498, trong số đó kháng thể đặc hiệu kép 127 thể hiện hoạt tính diệt vượt trội so với hoạt tính của 201 và 202.

Fig. 6A đến Fig. 6B: Phát hiện sự hoạt hóa của tế bào tái tổ hợp Jurkat bởi các kháng thể khác nhau. Fig. 6A thể hiện sự hoạt hóa đặc hiệu đích B7H3 qua trung gian kháng thể của tế bào tái tổ hợp Jurkat, trong sự có mặt của các tế bào A498; Fig. 6B thể hiện sự hoạt hóa đặc hiệu đích không phải B7H3 qua trung gian kháng thể của tế bào tái tổ

hợp Jurkat, khi không có mặt các tế bào A498. Các lời ghi chú kháng thể tương tự được chỉ ra trong Fig. 6A đến Fig. 6B.

Fig. 7A đến Fig. 7B: Phát hiện sự hoạt hóa của tế bào tái tổ hợp Jurkat bởi các kháng thể đặc hiệu kép chứa CD3scFv giống nhau, nhưng có hóa trị khác nhau. Fig. 7A thể hiện sự hoạt hóa đặc hiệu đích B7H3 qua trung gian kháng thể của tế bào tái tổ hợp Jurkat bởi kháng thể đặc hiệu kép hóa trị một/hai B7H3 trong sự có mặt của tế bào A498; Fig. 7B thể hiện sự hoạt hóa đặc hiệu đích không phải B7H3 qua trung gian kháng thể của tế bào tái tổ hợp Jurkat bằng kháng thể đặc hiệu kép hóa trị một/hai B7H3 khi không có mặt tế bào A498.

Fig. 8A đến Fig. 8C: Các kháng thể khác nhau được thử nghiệm, trong sự có mặt của các tế bào A498, để kích thích PBMC để tạo ra sự tiết xytokin đặc hiệu đích B7H3. Fig. 8A thể hiện sự so sánh các mức tiết IFN γ từ PBMC được kích thích bởi các kháng thể khác nhau; Fig. 8B thể hiện sự so sánh các mức tiết TNF α từ PBMC được kích thích bởi các kháng thể khác nhau; và Fig. 8C thể hiện sự so sánh các mức tiết IL-2 từ PBMC được kích thích bởi các kháng thể khác nhau. Fig. 8A- Fig. 8C cho thấy rằng các kháng thể 118, 127 và 132 có thể kích thích đáng kể PBMC để tạo ra sự tiết xytokin đặc hiệu đích B7H3. Các lời ghi chú kháng thể tương tự được chỉ ra trong Fig. 8A đến Fig. 8C.

Fig. 9A đến Fig. 9C: Các kháng thể khác nhau được thử nghiệm, trong sự có mặt của các tế bào CHOK1 (không biểu hiện B7H3), để kích thích PBMC để tạo ra sự tiết xytokin đặc hiệu đích không phải B7H3. Fig. 9A thể hiện sự so sánh các mức IFN γ được tiết từ PBMC được kích thích bởi các kháng thể khác nhau; Fig. 9B thể hiện sự so sánh các mức TNF α được tiết từ PBMC được kích thích bởi các kháng thể khác nhau; và Fig. 9C thể hiện sự so sánh các mức IL-2 được tiết từ PBMC được kích thích bởi các kháng thể khác nhau. Fig. 9A- Fig. 9C cho thấy rằng các kháng thể 118, 127, và 132 không thể kích thích PBMC để tạo ra sự tiết xytokin đặc hiệu đích không phải B7H3, và có độ an toàn tốt hơn. Các lời ghi chú kháng thể tương tự được chỉ ra trong Fig. 9A đến Fig. 9C.

Fig. 10A đến Fig. 10E: Phát hiện hiệu quả chống khối u của các kháng thể đặc hiệu kép trong mô hình A498 chuột được tái thiết lập bằng PBMC người. Fig. 10A thể hiện sự phát hiện hoạt tính chống khối u của kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 liều dùng thấp. Cả hai kháng thể liều dùng thấp 118 và 119 vẫn thể hiện hoạt tính chống khối u nhất định và thể hiện mức phụ thuộc liều nhất định. Fig. 10B thể hiện sự phát

hiện hoạt tính chống khối u của kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 ở các liều dùng 0,3 mpk và 0,6 mpk. Kháng thể 113 thể hiện hoạt tính ức chế khối u phụ thuộc liều in vivo. Fig. 10C thể hiện sự phát hiện hoạt tính chống khối u của kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 ở các liều dùng 0,12mpk và 0,36mpk. Kháng thể 118 thể hiện hoạt tính chống khối u đáng kể ở cả hai liều dùng. Fig. 10D thể hiện sự phát hiện hoạt tính chống khối u của kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 ở liều dùng 0,36 mpk. Kháng thể 126, 127 và 128 tất cả thể hiện hoạt tính chống khối u đáng kể. Fig. 10E thể hiện hoạt tính chống khối u của kháng thể 127 với các liều dùng khác nhau và các tần suất liều dùng khác nhau. Trong Fig. 10A đến Fig. 10E, "Tá dược lỏng" là nhóm đối chứng âm tính dùng PBS.

Fig. 11A đến Fig. 11B: Hiệu quả chống khối u của các kháng thể đặc hiệu kép trong mô hình chuột hCD3 KI. Fig. 11A và Fig. 11B thể hiện hiệu quả chống khối u tương ứng của 118 và 132 trong mô hình chuột hCD3 KI.

Mô tả chi tiết sáng chế

Thuật ngữ (Định nghĩa)

Mã ba chữ cái và mã một chữ cái cho các axit amin được sử dụng trong sáng chế được bộc lộ trong J. biol. chem, 243, p3558(1968).

Thuật ngữ "phân tử protein đa đặc hiệu" đề cập đến phân tử protein có khả năng liên kết đặc hiệu với hai hoặc nhiều kháng nguyên đích hoặc epitop kháng nguyên đích. Phân tử protein có thể liên kết đặc hiệu với hai kháng nguyên đích hoặc epitop kháng nguyên đích được đặt tên là phân tử protein đặc hiệu kép, bao gồm các kháng thể hoặc các mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể này (như các kháng thể chuỗi đơn). "Phân tử protein đặc hiệu kép" có thể hoán đổi cho "kháng thể đặc hiệu kép" ở đây.

Thuật ngữ "vùng gắn kết" cho kháng nguyên đề cập đến vùng hoặc phần có thể liên kết đặc hiệu với kháng nguyên trong phân tử protein đa đặc hiệu hoặc phân tử kháng thể. Vùng gắn kết kháng nguyên có thể là khu vực gắn kết phối tử mà liên kết trực tiếp với kháng nguyên, hoặc có thể là khu vực chứa vùng biến đổi của kháng thể mà có thể liên kết trực tiếp với kháng nguyên.

Thuật ngữ "kháng thể (Ab)" bao gồm phân tử gắn kết kháng nguyên bất kỳ hoặc phức hợp phân tử bao gồm ít nhất một vùng xác định bổ sung (CDR) mà liên kết đặc hiệu

với hoặc tương tác với kháng nguyên cụ thể (ví dụ, CD3). Thuật ngữ "kháng thể" bao gồm: bốn chuỗi polypeptit liên kết với nhau thông qua (các) liên kết disulfua, các phân tử immunoglobulin chứa hai chuỗi nặng (H) và hai chuỗi nhẹ (L), và các multime của nó (ví dụ, IgM). Mỗi chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng (sau đây được viết tắt là HCVR hoặc VH) và vùng hằng định chuỗi nặng. Vùng hằng định chuỗi nặng này bao gồm ba vùng (khu vực): CH1, CH2 và CH3. Mỗi chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ (sau đây được viết tắt là LCVR hoặc VL) và vùng hằng định chuỗi nhẹ. Vùng hằng định chuỗi nhẹ chứa một vùng (khu vực, CL1). Các vùng VH và VL có thể được chia tiếp thành các vùng siêu biến, được đặt tên là các vùng xác định bổ sung (CDR), trong số đó các vùng bảo thủ hơn được đặt rải rác, được đặt tên là các vùng khung (FR). Mỗi VH và VL bao gồm ba CDR và bốn FR, được sắp xếp từ đầu tận cùng amino đến đầu tận cùng carboxyl theo trật tự sau: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Trong các phương án khác nhau của sáng chế, các FR của kháng thể kháng CD3 (hoặc các phần gắn kết kháng nguyên của nó), các kháng thể kháng B7H3 (hoặc các phần gắn kết kháng nguyên của nó), hoặc các kháng thể kháng lại các kháng nguyên đích khác có thể là giống như trình tự dòng mầm người, hoặc có thể là được thay đổi tự nhiên hoặc nhân tạo. Các kháng thể có thể là các kháng thể có dưới lớp khác nhau, ví dụ, IgG (ví dụ, dưới lớp IgG1, IgG2, IgG3 hoặc IgG4), kháng thể IgA1, IgA2, IgD, IgE, hoặc IgM.

Thuật ngữ "kháng thể" cũng bao gồm các mảnh gắn kết kháng nguyên của các phân tử kháng thể hoàn chỉnh. Thuật ngữ "phần gắn kết kháng nguyên", "khu vực gắn kết kháng nguyên", "mảnh gắn kết kháng nguyên", v.v... của kháng thể, như được sử dụng ở đây, bao gồm polypeptit hoặc glycoprotein có trong tự nhiên, được sản xuất bằng enzym, tổng hợp hoặc được cải biến di truyền bất kỳ mà liên kết đặc hiệu với kháng thể để tạo thành phức hệ. Các mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể có thể được bắt nguồn từ, ví dụ, phân tử kháng thể hoàn chỉnh bằng cách sử dụng kỹ thuật tiêu chuẩn thích hợp bất kỳ, như cắt bằng thủy phân protein hoặc kỹ thuật công nghệ di truyền tái tổ hợp bao gồm thao tác và biểu hiện ADN mã hóa các vùng biến đổi kháng thể và (tùy ý) các vùng hằng định. ADN được biết và/hoặc có thể thu được dễ dàng từ, ví dụ, nguồn sẵn có trên thị trường, cơ sở dữ liệu ADN (bao gồm, ví dụ, cơ sở dữ liệu kháng thể-thực khuẩn thể), hoặc có thể được tổng hợp. ADN có thể được phân tích trình tự và thao tác hóa học hoặc bằng cách sử dụng công nghệ sinh học phân tử, ví dụ, bằng cách sắp xếp một hoặc nhiều vùng biến đổi và/hoặc hằng định vào trong cấu hình thích hợp, hoặc bằng cách đưa vào các codon, tạo ra các gốc xystein, cải biến, bổ sung hoặc bỏ bớt các axit amin, v.v...

Các ví dụ không giới hạn về các mảnh gắn kết kháng nguyên bao gồm: (i) mảnh Fab; (ii) mảnh $F(ab')_2$; (iii) mảnh Fd; (iv) mảnh Fv; (v) phân tử Fv chuỗi đơn (scFv); (vi) mảnh dAb. Các phân tử được cải biến di truyền khác, như kháng thể đặc hiệu vùng, kháng thể khu vực đơn, kháng thể xóa bỏ khu vực, các kháng thể khảm, các kháng thể được ghép CDR, diabody, tribody, tetrabody, minibody, nanobody (ví dụ nanobody hóa trị một, nanobody hóa trị hai, v.v.), được phẩm miễn dịch mô-đun nhỏ (Small Modular Immunopharmaceuticals-SMIP) và các vùng IgNAR biến đổi cá mập cũng được bao gồm trong thuật ngữ "mảnh gắn kết kháng nguyên" như được sử dụng ở đây.

Mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể sẽ thường chứa ít nhất một vùng biến đổi. Vùng biến đổi có thể là vùng có kích cỡ bất kỳ hoặc thành phần axit amin và sẽ thường chứa một hoặc nhiều CDR liền kề với hoặc trong các vùng khung. Trong mảnh gắn kết kháng nguyên có vùng VH liên kết với vùng VL, các vùng VH và VL có thể được đặt đối diện với nhau theo cách sắp xếp thích hợp bất kỳ. Ví dụ, vùng biến đổi có thể được đime hóa và chứa các đime VH-VL hoặc VL-VH.

Trong một số phương án, mảnh gắn kết kháng nguyên của sáng chế là cấu hình vùng biến đổi và vùng hằng định bất kỳ, vùng biến đổi và vùng hằng định có thể được liên kết trực tiếp với nhau hoặc có thể được nối thông qua khớp hoàn chỉnh hoặc một phần hoặc vùng đoạn nối. Vùng khớp có thể bao gồm ít nhất 2 (ví dụ, 5, 10, 15, 20, 40, 60 hoặc nhiều hơn) axit amin, sao cho sự kết nối linh động hoặc bán linh động sẽ được tạo ra giữa các vùng biến đổi và/hoặc hằng định liền kề trong phân tử đơn polypeptit. Hơn nữa, các mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể theo sáng chế có thể bao gồm các homodime hoặc heterodime (hoặc các multime khác) trong cấu hình vùng biến đổi và vùng hằng định bất kỳ như được chỉ định trên, trong đó vùng biến đổi và vùng hằng định có thể là liên kết không đồng hóa trị với nhau và/hoặc liên kết với một hoặc nhiều vùng VH hoặc VL monome (ví dụ, thông qua (các) liên kết disulfua).

"Kháng thể chuột" như được sử dụng ở đây đề cập đến các kháng thể đơn dòng có nguồn gốc từ chuột được điều chế theo kiến thức và kỹ năng trong ngành. Trong quá trình điều chế, đối tượng thử nghiệm được tiêm kháng nguyên, và sau đó khối tế bào lai biểu hiện kháng thể chứa trình tự mong muốn hoặc các đặc điểm chức năng được phân tách. Kháng thể thu được sẽ là kháng thể chuột nếu đối tượng thử nghiệm được tiêm là chuột.

"Kháng thể khảm", là kháng thể bằng cách dung hợp vùng biến đổi của kháng thể chuột cùng với vùng hằng định của kháng thể người, và kháng thể này có thể làm

thuyên giảm đáp ứng miễn dịch chuột gây ra bởi kháng thể chuột. Để thiết lập kháng thể khảm, trước hết, khối tế bào lai tiết kháng thể đơn dòng chuột đặc hiệu được thiết lập, và gen vùng biến đổi được tách dòng đơn tính từ tế bào lai chuột. Sau đó gen vùng hằng định được tách dòng đơn tính từ kháng thể người theo nhu cầu. Gen vùng biến đổi chuột được liên kết với gen vùng hằng định người để tạo thành gen khảm, mà có thể sau đó có thể được cài vào trong vector biểu hiện. Cuối cùng phân tử kháng thể khảm sẽ được biểu hiện trong hệ thống nhân chuẩn hoặc tiền nhân. Trong phương án ưu tiên của sáng chế, chuỗi nhẹ kháng thể của kháng thể khảm chứa thêm vùng hằng định chuỗi nhẹ của chuỗi kappa, lambda người hoặc biến thể của nó. Chuỗi nặng kháng thể của kháng thể khảm chứa thêm vùng hằng định chuỗi nặng của IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 người hoặc biến thể của nó, ưu tiên là chứa vùng hằng định chuỗi nặng của IgG1, IgG2 hoặc IgG4 người, hoặc chứa biến thể vùng hằng định chuỗi nặng của IgG1, IgG2 hoặc IgG4 người có các sự đột biến axit amin (như đột biến YTE hoặc đột biến ngược, đột biến L234A và/hoặc đột biến L235A, hoặc đột biến S228P).

Thuật ngữ "kháng thể được làm giống người", bao gồm kháng thể được ghép CDR, đề cập đến kháng thể được tạo ra bằng cách ghép kháng thể có nguồn gốc từ động vật, ví dụ, các trình tự CDR kháng thể chuột vào trong vùng khung vùng biến đổi kháng thể người (nghĩa là, vùng khung). Kháng thể được làm giống người có thể kiểm chế được cả đáp ứng khác loại gây ra bởi các kháng thể khảm mà mang số lượng lớn các thành phần protein khác loại. Các trình tự khung này có thể thu được cơ sở dữ liệu ADN công cộng bao gồm các trình tự gen kháng thể dòng mầm hoặc các tài liệu đã được công bố. Ví dụ, các trình tự ADN dòng mầm của các gen vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng người có thể được tìm thấy trong cơ sở dữ liệu trình tự gen dòng mầm người "VBaza" (sẵn có trên <http://www.vbaza2.org/>), cũng như trong Kabat, EA, et al. 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Để tránh giảm hoạt tính gây ra bởi tính sinh miễn dịch giảm, các trình tự khung trong vùng biến đổi kháng thể người có thể được đưa đến các đột biến nghịch nhỏ nhất hoặc các đột biến ngược để duy trì hoạt tính này. Kháng thể được làm giống người của sáng chế cũng chứa kháng thể được làm giống người trên đó sự thành thực ái lực CDR được thực hiện bằng biểu hiện thực khuẩn thể.

Do các gốc tiếp xúc với kháng nguyên, ghép CDR có thể dẫn đến ái lực của kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó với kháng nguyên giảm do các gốc vùng khung tiếp xúc với kháng nguyên này. Các sự tương tác này có thể thu được từ các đột biến soma cao. Do đó, vẫn cần thiết ghép các axit amin vùng khung cho lên trên vùng khung kháng thể được làm giống người. Gốc axit amin liên quan đến liên kết kháng

nguyên và có nguồn gốc từ kháng thể không phải người hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó có thể được xác định bằng cách kiểm tra trình tự và cấu trúc của vùng biến đổi kháng thể đơn dòng động vật. Các gốc axit amin vùng khung CDR cho mà là khác với các dòng mầm có thể được xem là có liên quan. Nếu không thể xác định dòng mầm liên quan gần gũi nhất, trình tự này có thể được so sánh với trình tự liên ứng cùng có chung ở các kiểu phụ hoặc trình tự kháng thể động vật có phần trăm tương đồng cao. Các gốc khung hiếm được cho là kết quả của sự đột biến cao trong các tế bào soma, và đóng vai trò quan trọng trong liên kết.

Trong một phương án của sáng chế, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó có thể chứa thêm vùng hằng định chuỗi nhẹ của chuỗi κ , λ người hoặc chuỗi hoặc biến thể của nó, hoặc chứa thêm vùng hằng định chuỗi nặng của IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 người hoặc chuỗi hoặc biến thể của nó.

"Kháng thể người" và "kháng thể có nguồn gốc từ người" có thể được sử dụng hoán đổi cho nhau, và có thể là các kháng thể có nguồn gốc từ người hoặc các kháng thể thu được từ các sinh vật được thay đổi về mặt di truyền mà đã được "cải biến di truyền" và được tạo ra bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong ngành để sản xuất các kháng thể người đặc hiệu trong đáp ứng với kích thích kháng nguyên. Trong một số kỹ thuật, các yếu tố của locus chuỗi nặng và nhẹ người được đưa vào trong các dòng tế bào của các sinh vật có nguồn gốc từ các dòng tế bào gốc phôi, và các locus chuỗi nhẹ và nặng nội sinh trong các dòng tế bào này được hướng đến và phá vỡ. Các locus chuỗi nhẹ và nặng nội sinh đích này được bao gồm trong các dòng tế bào này bị phá vỡ. Các sinh vật chuyển gen có thể tổng hợp các kháng thể người đặc hiệu với các kháng nguyên người, và các sinh vật này có thể được sử dụng để tạo ra các khối tế bào lai tiết kháng thể người. Kháng thể người có thể cũng là kháng thể này trong đó các chuỗi nặng và nhẹ được mã hóa bởi các trình tự nucleotit có nguồn gốc từ một hoặc nhiều nguồn ADN người. Các kháng thể người hoàn chỉnh có thể cũng được xây dựng bằng các phương pháp chuyển nhiễm nhiễm sắc thể hoặc gen và công nghệ biểu hiện thực khuẩn thể, hoặc được xây dựng từ các tế bào B được hoạt hóa *in vitro*, tất cả các phương pháp và công nghệ này được biết trong ngành.

"Kháng thể đơn dòng" đề cập đến kháng thể thu được từ quần thể các kháng thể hầu như đồng nhất, mà là từng kháng thể cấu thành nên quần thể này là giống nhau và/hoặc gắn kết với epitop giống nhau, ngoại trừ các kháng thể biến thể có thể (ví dụ, các biến thể chứa các đột biến có trong tự nhiên hoặc các đột biến được tạo ra trong quá trình sản xuất các chế phẩm kháng thể đơn dòng, và các đột biến thường có mặt

với khối lượng rất nhỏ). Không giống các chế phẩm kháng thể đa dòng thường chứa các kháng thể khác nhau kháng lại các yếu tố xác định khác nhau (các epitop), mỗi kháng thể đơn dòng của chế phẩm kháng thể đơn dòng (chế phẩm) được kháng lại một yếu tố xác định trên kháng nguyên. Do đó, từ bỏ nghĩa "đơn dòng" chỉ định các đặc điểm của kháng thể thu được từ quần thể kháng thể hầu như đồng nhất, và không nên được giải thích khi cần phương pháp cụ thể bất kỳ để sản xuất kháng thể này. Ví dụ, kháng thể đơn dòng được sử dụng theo sáng chế có thể được điều chế bằng các kỹ thuật khác nhau, bao gồm nhưng không bị giới hạn ở các phương pháp khối tế bào lai, phương pháp ADN tái tổ hợp, phương pháp biểu hiện thực khuẩn thể, và các phương pháp bằng cách sử dụng động vật chuyển gen chứa tất cả hoặc một phần locus immunoglobulin người. Các phương pháp này và các phương pháp điển hình khác để điều chế kháng thể đơn dòng được mô tả ở đây.

Thuật ngữ "kháng thể chiều dài hoàn chỉnh", "kháng thể hoàn chỉnh", "kháng thể nguyên vẹn" và "kháng thể đầy đủ" được sử dụng hoán đổi cho nhau ở đây và đề cập đến kháng thể ở dạng gần như hoàn chỉnh, khi được phân biệt với các mảnh gắn kết kháng nguyên được định nghĩa dưới đây. Thuật ngữ đề cập cụ thể đến kháng thể có chuỗi nặng chứa vùng Fc.

Ngoài ra, khu vực VL và khu vực VH của mảnh Fv được mã hóa bởi hai gen tách biệt, tuy nhiên chúng có thể được liên kết bằng đoạn nối tổng hợp bằng cách sử dụng các phương pháp tái tổ hợp để tạo ra chuỗi protein đơn trong đó phân tử hóa trị một được tạo thành bằng cách kết cặp khu vực VL và VH (được đề cập đến là Fv chuỗi đơn (scFv); xem, ví dụ, Bird et al. (1988): 423-426; Science 242 and Huston et al (1988) Proc. Natl. Acad. Sci USA 85:5879-5883). Các kháng thể chuỗi đơn này cũng nhằm được bao gồm trong thuật ngữ "mảnh gắn kết kháng nguyên" của kháng thể. Các mảnh kháng thể này thu được sử dụng các kỹ thuật thông thường được biết trong ngành, và được sàng lọc các mảnh chức năng bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như phương pháp cho kháng nguyên vẹn. Các phần gắn kết kháng nguyên có thể được tạo ra bằng kỹ thuật ADN tái tổ hợp hoặc bằng sự phá vỡ bằng enzym hoặc hóa học immunoglobulin nguyên vẹn.

Các mảnh gắn kết kháng nguyên có thể cũng được kết hợp vào trong phân tử chuỗi đơn bao gồm cặp các mảnh Fv nối tiếp nhau (VH-CH1-VH-CH1), và cặp các mảnh Fv nối tiếp nhau tạo thành cặp các vùng gắn kết kháng nguyên cùng với polypeptit chuỗi nhẹ bổ sung (Zapata *et al.*, 1995 Protein Eng. 8(10): 1057-1062; và US Patent No. 5,641,870).

Fab là mảnh kháng thể thu được bằng cách xử lý phân tử kháng thể IgG bằng papain (mà cắt gốc axit amin ở vị trí 224 của chuỗi H), và mảnh kháng thể có trọng lượng phân tử là khoảng 50.000 Da và có hoạt tính gắn kết kháng nguyên, trong đó khoảng một nửa phía đầu tận cùng N của chuỗi H và toàn bộ chuỗi L được liên kết với nhau thông qua (các) liên kết disulfua.

F(ab')₂ là mảnh kháng thể có trọng lượng phân tử là khoảng 100.000 Da và có hoạt tính gắn kết kháng nguyên và bao gồm hai vùng Fab được liên kết ở vị trí khớp, nó có thể được tạo ra bằng cách cắt phần phía đầu 3' của hai liên kết disulfua trong vùng khớp IgG bằng pepsin.

Fab' là mảnh kháng thể có trọng lượng phân tử là khoảng 50.000 Da và có hoạt tính gắn kết kháng nguyên, mà thu được bằng cách cắt các liên kết disulfua ở vùng khớp của F(ab')₂ được đề cập trên đây. Fab' có thể được tạo ra bằng cách xử lý F(ab')₂ mà nhận biết đặc hiệu và gắn kết với kháng nguyên bằng tác nhân khử như dithiothreitol.

Ngoài ra, Fab' có thể được tạo ra bằng cách cài ADN mã hóa Fab' của kháng thể vào trong vector biểu hiện tiền nhân hoặc vector biểu hiện nhân chuẩn và đưa vector này vào trong tế bào tiền nhân và nhân chuẩn để biểu hiện Fab'.

Thuật ngữ "kháng thể chuỗi đơn", "Fv chuỗi đơn" hoặc "scFv" đề cập đến phân tử chứa khu vực biến đổi chuỗi nặng kháng thể (hoặc vùng; VH) liên kết với khu vực biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể (hoặc vùng; VL) bằng đoạn nối. Các phân tử scFv này có cấu trúc chung là NH₂-VL-đoạn nối-VH-COOH hoặc NH₂-VH-đoạn nối-VL-COOH. Các đoạn nối thích hợp trong tình trạng kỹ thuật trước đây bao gồm trình tự axit amin GGGGS lặp lại hoặc biến thể của nó, ví dụ, biến thể có từ 1-4 (bao gồm 1, 2, 3 hoặc 4) sự lặp lại (Holliger *et al.* (1993), Proc Natl Acad Sci USA. 90: 6444-6448). Các đoạn nối khác hữu ích cho sáng chế được mô tả bởi Alftan *et al.* (1995), Protein Eng. 8:725-731, Choi *et al.* (2001), Eur J Immuno.31:94-106, Hu *et al.* (1996), Cancer Res.56:3055-3061, Kipriyanov *et al.* (1999), J Mol Biol. 293:41-56 and Roovers *et al.* (2001), Cancer Immunol Immunother. 50:51-59.

"Kháng thể đa đặc hiệu" đề cập đến kháng thể chứa hai hoặc nhiều khu vực gắn kết kháng nguyên và có khả năng liên kết hai hoặc nhiều epitop khác nhau (ví dụ, hai, ba, bốn hoặc nhiều epitop khác nhau), và epitop này có thể có mặt trên các kháng nguyên giống nhau hoặc khác nhau. Các ví dụ về kháng thể đa đặc hiệu bao gồm "các kháng

thể đặc hiệu kép" mà liên kết với hai epitop khác nhau.

Thuật ngữ "kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai" của kháng nguyên liên quan đến khối u đề cập đến kháng thể đặc hiệu kép, trong đó hai vùng gắn kết kháng nguyên được hướng đến kháng lại đích kháng nguyên liên quan đến khối u. Ví dụ, kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 đề cập đến kháng thể đặc hiệu kép chứa hai vùng gắn kết kháng nguyên có đích là B7H3. Thuật ngữ "kháng thể đặc hiệu kép hóa trị một" đề cập đến kháng thể đặc hiệu kép, trong đó chỉ một vùng gắn kết kháng nguyên được hướng đến kháng lại đích xác định. Ví dụ, kháng thể đặc hiệu kép hóa trị một B7H3 đề cập đến kháng thể đặc hiệu kép chứa một vùng gắn kết kháng nguyên có đích là B7H3.

"Đoạn nối" hoặc "mảnh nối" đề cập đến "L1" được đặt giữa hai khu vực protein để nối hai khu vực này, cũng đề cập đến trình tự peptit nối được sử dụng để nối các khu vực protein. Nó thường có mức độ mềm dẻo nhất định, và việc sử dụng các đoạn nối sẽ không làm cho khu vực protein này mất đi chức năng ban đầu của nó.

Diabody là mảnh kháng thể trong đó scFv được dime hóa, và nó là mảnh kháng thể có hoạt tính gắn kết kháng nguyên hóa trị hai. Trong hoạt tính gắn kết kháng nguyên hóa trị hai, hai kháng nguyên có thể là giống nhau hoặc khác nhau.

dsFv thu được bằng cách thay thế một gốc axit amin trong mỗi VH và VL bằng gốc xystein, và sau đó nối các polypeptit được thay thế này thông qua liên kết disulfua giữa hai gốc xystein. Các gốc axit amin được thay thế bằng gốc xystein có thể được chọn lọc dựa trên dự đoán cấu trúc ba chiều của kháng thể theo các phương pháp đã biết (Protein Engineering, 7, 697 (1994)).

Trong một số phương án của sáng chế, mảnh gắn kết kháng nguyên có thể được tạo ra bằng các bước sau: thu các cADN mã hóa VH và/hoặc VL kháng thể đơn dòng của sáng chế mà nhận biết đặc hiệu và liên kết với kháng nguyên, và các cADN mã hóa các khu vực khác như yêu cầu; xây dựng ADN mã hóa mảnh gắn kết kháng nguyên; xen ADN này vào trong vector biểu hiện tiền nhân và nhân chuẩn, và sau đó đưa vector biểu hiện này vào trong tiền nhân và nhân chuẩn để biểu hiện mảnh gắn kết kháng nguyên.

"Vùng Fc" có thể là trình tự có trong tự nhiên hoặc vùng Fc biến thể. Các ranh giới của vùng Fc của chuỗi nặng immunoglobulin là biến đổi; tuy nhiên, vùng Fc của

chuỗi nặng IgG người thường được xác định là vùng kéo dài từ gốc axit amin ở vị trí Cys226 hoặc từ Pro230 đến đầu tận cùng carboxyl. Đánh số các gốc trong vùng Fc là theo đánh số chỉ số EU trong Kabat. Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Edition Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991. Vùng Fc của immunoglobulin thường có hai vùng hằng định, CH2 và CH3. Ở đây, "Fc thứ nhất" cũng được đề cập đến là "Fc1", và Fc thứ hai cũng được đề cập đến là "Fc2".

Trong "V_a1-L1-V_b1-L2-V_c2-L2-V_d2-L4-Fc1" và "V_e3-L5-V_f3-L6-Fc2", V_a1, V_b1, V_c2, V_d2, V_e3 và V_f3 là vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoặc vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể, V_a1 và V_b1 liên kết với epitop thứ nhất của kháng nguyên, V_c2 và V_d2 liên kết với epitop thứ hai của kháng nguyên, và V_e3 và V_f3 liên kết với epitop thứ ba. Epitop thứ nhất, epitop thứ hai và epitop thứ ba có thể là giống nhau hoặc không giống nhau.

Tương tự "VH_{TAA}-L1-VL_{TAA}-L2-VH_{CD3}-L3-VL_{CD3}-L4-Fc1", VH_{TAA} và VL_{TAA} là vùng biến đổi kháng thể liên kết với epitop của kháng nguyên liên quan đến khối u, và VH_{CD3} và VL_{CD3} là vùng biến đổi kháng thể liên kết với epitop của CD3.

Trong sáng chế này, "u-Fc" đề cập đến cấu trúc không gian giống u được tạo thành bởi sự kết hợp đột biến điểm T366W trong vùng Fc của kháng thể. Tương ứng, "lỗ-Fc" đề cập đến cấu trúc không gian giống lỗ được tạo thành bởi sự kết hợp các đột biến điểm T366S, L368A, và Y407V trong vùng Fc của kháng thể. U-Fc và lỗ-Fc có khả năng hơn để tạo thành các dị dime do cản trở không gian. Để thúc đẩy thêm nữa sự tạo thành các dị dime, các đột biến điểm S354C và Y349C có thể được đưa tương ứng vào trong u-Fc và lỗ-Fc, để thúc đẩy thêm nữa sự tạo thành dị dime thông qua các liên kết disulfua. Trong khi đó, để loại bỏ hoặc làm giảm bớt hiệu ứng ADCC gây ra bởi Fc kháng thể, các sự đột biến thay thế của 234A và 235A có thể cũng được đưa vào trong Fc. Ví dụ, u-Fc và lỗ-Fc ưu tiên của sáng chế được thể hiện tương ứng trong trình tự nêu trong SEQ ID NO: 69 và 70. Trong kháng thể đặc hiệu kép, u-Fc hoặc lỗ-Fc có thể được sử dụng là vùng Fc của chuỗi polypeptit thứ nhất hoặc vùng Fc của chuỗi polypeptit thứ hai. Đối với kháng thể đặc hiệu kép đơn, các vùng Fc của chuỗi polypeptit thứ nhất và thứ hai không thể cả hai đều là u-Fc hoặc lỗ-Fc.

Thuật ngữ "sự khác biệt axit amin" hoặc "sự đột biến axit amin" đề cập đến các sự thay đổi hoặc đột biến axit amin trong biến thể protein hoặc polypeptit khi so sánh với protein hoặc polypeptit nguyên thể, và bao gồm sự xen vào, sự xóa bỏ hoặc sự thay thế một hoặc nhiều axit amin trên cơ sở protein hoặc polypeptit ban đầu.

"Vùng biến đổi" của kháng thể đề cập đến vùng biến đổi chuỗi nhẹ kháng thể (VL) hoặc vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể (VH), riêng rẽ hoặc kết hợp. Như được biết trong lĩnh vực này, mỗi vùng biến đổi chuỗi nhẹ và chuỗi nặng bao gồm ba vùng xác định bổ sung (CDR) (cũng được đặt tên là các vùng siêu biến) liên kết với bốn vùng khung (FR). Các CDR trong mỗi chuỗi được giữ chặt với nhau bằng các FR và góp phần vào sự tạo thành các vị trí gắn kết kháng nguyên của kháng thể cùng với các CDR từ chuỗi khác. Có ít nhất hai kỹ thuật để xác định CDR: (1) phương pháp dựa trên khả năng biến đổi trình tự chéo loài (nghĩa là, Kabat et al. *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, (5th edition, 1991, National Institutes of Health, Bethesda MD)); và (2) phương pháp dựa trên nghiên cứu tinh thể các phức hệ kháng nguyên-kháng thể (Al-Lazikani *et al.*, *J. Molec. Biol.* 273:927-948 (1997)). Như được sử dụng ở đây, CDR có thể đề cập đến là các CDR được xác định bằng một trong số các phương pháp hoặc sự kết hợp của hai phương pháp này.

Thuật ngữ "vùng khung kháng thể" hoặc "vùng FR " đề cập đến một phần của khu vực biến đổi, VL hoặc VH, mà sử dụng làm khung cho các vòng gắn kết kháng nguyên (CDR) của khu vực biến đổi này. Chủ yếu là, nó là khu vực biến đổi không có các CDR.

Thuật ngữ "CDR" đề cập đến một trong số sáu vùng siêu biến có mặt trong khu vực biến đổi kháng thể mà góp phần chính vào gắn kết kháng nguyên. Một trong số các định nghĩa được sử dụng thông thường nhất của 6 CDR được cung cấp bởi Kabat E.A. *et al.* ((1991) *Sequences of proteins of immunological interest*. NIH Publication 91-3242). Như được sử dụng trong một số phương án ở đây, các CDR có thể được định nghĩa theo tiêu chuẩn Kabat (Kabat *et al.* *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, (5th edition, 1991, National Institutes of Health, Bethesda MD)), để định nghĩa các khu vực biến đổi chuỗi nhẹ CDR1, CDR2 và CDR3 (LCDR1, LCDR2 và LCDR3), và các khu vực biến đổi chuỗi nặng CDR1, CDR2 và CDR3 (HCDR1, HCDR2 và HCDR3), ví dụ, để định nghĩa các CDR kháng thể CD3 của sáng chế. Trong các phương án khác, các CDR có thể cũng được định nghĩa theo tiêu chuẩn IMGT và tiêu chuẩn tương tự. Ví dụ, các CDR kháng thể B7H3 được định nghĩa theo tiêu chuẩn IMGT.

Thuật ngữ "kháng nguyên khối u" đề cập đến chất được tạo ra bởi các tế bào khối u, tùy ý là protein, bao gồm "kháng nguyên liên quan đến khối u" hoặc "TAA" (mà đề cập đến protein mà được tạo ra trong các tế bào khối u và được biểu hiện khác nhau

trong các bệnh ung thư so với các mô bình thường tương ứng) và "kháng nguyên đặc hiệu khối u" hoặc "TSA" (mà đề cập đến kháng nguyên khối u mà được tạo ra trong các tế bào khối u và được biểu hiện đặc hiệu hoặc được biểu hiện bất thường trong các bệnh ung thư so với các mô bình thường tương ứng).

Các ví dụ không giới hạn về “kháng nguyên liên quan đến khối u” bao gồm, ví dụ, AFP, ALK, B7H3, protein BAGE, BCMA, BIRC5(survivin), BIRC7, β -catenin, bcr-ab1, BRCA1, BORIS, CA9, CA125, carbonic anhydrase IX, caspase -8, CALR, CCR5, CD19, CD20(MS4A1), CD22, CD30, CD33, CD38, CD40, CD123, CD133, CD138, CDK4, CEA, Claudin 18.2, cyclin-B1, CYP1B1, EGFR, EGFRvIII, ErbB2/Her2, ErbB3, ErbB4, ETV6-AML, EpCAM, EphA2, Fra-1, FOLR1, protein GAGE (như GAGE-1, -2), GD2, GD3, GloboH, Glypican-3, GM3, gp100, Her2, HLA/B-raf, HLA/k-ras, HLA/MAGE-A3, hTERT, IL13R α 2, LMP2, κ -Light, LeY, protein MAGE (như MAGE-1, -2, -3, -4, -6 và -12), MART-1, mesothelin, ML-IAP, MOv- γ , Muc1, Muc2, Muc3, Muc4, Muc5, Muc16(CA-125), MUM1, NA17, NKG2D, NY-BR1, NY-BR62, NY-BR85, NY-ESO1, OX40, p15, p53, PAP, PAX3, PAX5, PCTA-1, PLAC1, PRLR, PRAME, PSMA (FOLH1), protein RAGE, Ras, RGS5, Rho, ROR1, SART-1, SART-3, STEAP1, STEAP2, TAG-72, TGF- β , TMPRSS2, kháng nguyên Thompson-nouvelle (Tn), TRP-1, TRP-2, tyrosinase, uroplakin-3 và 5T4 (glycoprotein lá nuôi).

"CD3" đề cập đến kháng nguyên biểu hiện trên các tế bào T là một phần của thụ thể tế bào T (TCR) đa phân tử, và nó là homodimer hoặc dị dimer được tạo thành bởi hai trong số bốn chuỗi thụ thể sau: CD3- ϵ , CD3- δ , CD3- ζ và CD3- γ . CD3 người- ϵ (hCD3 ϵ) chứa trình tự axit amin được mô tả trong UniProtKB/Swiss-Prot: P07766.2. CD3 người- δ (hCD3 δ) chứa trình tự axit amin được mô tả trong UniProtKB/Swiss-Prot: P04234.1. Do đó, thuật ngữ "CD3" đề cập đến CD3 người, trừ khi chỉ định cụ thể rằng nó được là từ loài không phải người, như "CD3 chuột", "CD3 khỉ", v.v...

"Epitop" hoặc "yếu tố xác định kháng nguyên" đề cập đến vị trí trên đó kháng nguyên liên kết đặc hiệu với immunoglobulin hoặc kháng thể. Epitop thường bao gồm ít nhất 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, hoặc 15 axit amin liên tiếp hoặc không liên tiếp trong cấu trúc không gian duy nhất. Xem, ví dụ, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G.E. Morris, Ed. (1996).

Thuật ngữ "liên kết đặc hiệu với", "liên kết chọn lọc với", "liên kết chọn lọc" hoặc

"liên kết đặc hiệu" đề cập đến liên kết của kháng thể với epitop được xác định trước trên kháng nguyên. Điển hình là, kháng thể này liên kết với ái lực (K_D) nhỏ hơn khoảng $10^{-8}M$, ví dụ, nhỏ hơn khoảng $10^{-9}M$, $10^{-10}M$ hoặc $10^{-11}M$ hoặc thậm chí nhỏ hơn.

Thuật ngữ "ái lực" đề cập đến độ mạnh của tương tác giữa kháng thể và kháng nguyên ở một epitop. Trong mỗi vị trí kháng nguyên, "cánh tay" vùng biến đổi của kháng thể tương tác với kháng nguyên này ở nhiều vị trí axit amin thông qua các lực không hóa trị yếu; tương tác càng lớn, ái lực càng mạnh. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "ái lực cao" của kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó (ví dụ, mảnh Fab) thường đề cập đến kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên với K_D là $1E^{-9}M$ hoặc nhỏ hơn (ví dụ, K_D là $1E^{-10}M$ hoặc nhỏ hơn, K_D là $1E^{-11}M$ hoặc nhỏ hơn, K_D là $1E^{-12}M$ hoặc nhỏ hơn, K_D là $1E^{-13}M$ hoặc nhỏ hơn, K_D là $1E^{-14}M$ hoặc nhỏ hơn, v.v...).

Thuật ngữ " K_D " hoặc " K_D " đề cập đến hằng số cân bằng phân ly cho tương tác kháng thể-kháng nguyên cụ thể. Điển hình là, kháng thể liên kết với kháng nguyên với hằng số cân bằng phân ly (K_D) nhỏ hơn khoảng $1E^{-8}M$, ví dụ, nhỏ hơn khoảng $1E^{-9}M$, $1E^{-10}M$ hoặc $1E^{-11}M$ hoặc thậm chí nhỏ hơn, ví dụ, như được xác định bằng công nghệ cộng hưởng plasma bề mặt (Surface Plasma Resonance-SPR) trong thiết bị Biacore. Giá trị K_D càng nhỏ, thì ái lực càng lớn.

Thuật ngữ "phân tử axit nucleic" đề cập đến phân tử ADN và phân tử ARN. Phân tử axit nucleic có thể là sợi đơn hoặc sợi đôi, nhưng ưu tiên hơn là ADN sợi đôi. Axit nucleic được "liên kết hoạt động" khi được đặt trong mối quan hệ chức năng với trình tự axit nucleic khác. Ví dụ, gen khởi đầu hoặc gen tăng cường được liên kết chức năng với trình tự mã hóa nếu nó ảnh hưởng đến sự phiên mã trình tự này.

Thuật ngữ "vector" nghĩa là cấu trúc có khả năng vận chuyển một hoặc nhiều gen đích hoặc trình tự đích, và ưu tiên là, biểu hiện chúng trong tế bào chủ. Các ví dụ về các vector bao gồm, nhưng không bị giới hạn đến, vector virus, ADN trần hoặc vector biểu hiện ARN, plasmit, cosmit hoặc vector thực khuẩn thể, vector biểu hiện ADN hoặc ARN liên kết với các chất làm đông máu cation, vector biểu hiện ADN hoặc ARN được bao bọc trong liposom, và các tế bào nhân chuẩn nhất định như các tế bào sản xuất.

Các phương pháp sản xuất và tinh chế kháng thể và các mảnh gắn kết kháng nguyên được biết nhiều trong ngành, ví dụ, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring

Harbor, New York, chương 5-8 và 15. Ví dụ, chuột có thể được gây miễn dịch với kháng nguyên hoặc mảnh của nó, và các kháng thể thu được có thể sau đó được làm biến tính, tinh chế, và phân tích trình tự các trình tự axit amin bằng cách sử dụng các phương pháp thông thường được biết nhiều trong ngành. Các mảnh gắn kết kháng nguyên có thể cũng được điều chế bằng các phương pháp thông thường. Các kháng thể hoặc các mảnh gắn kết kháng nguyên của sáng chế được cải biến di truyền để đưa vào một hoặc nhiều vùng khung người lên trên các vùng CDR có nguồn gốc từ kháng thể không phải người. Các trình tự dòng mầm FR người có thể thu được từ trang web <http://imgt.cines.fr>, hoặc từ The Immunoglobulin Facts Book, 2001, ISBN 012441351, bằng cách sắp xếp đuôi thẳng so với cơ sở dữ liệu gen dòng mầm vùng biến đổi kháng thể người IMGT bằng phần mềm MOE.

Thuật ngữ "tế bào chủ" đề cập đến tế bào trong đó đã được đưa vào vector biểu hiện. Các tế bào chủ bao gồm tế bào vi khuẩn, vi sinh vật, thực vật hoặc động vật. Vi khuẩn mà dễ dàng được biến nạp bao gồm các thành viên của *enterobacteriaceae*, như chủng *Escherichia coli* hoặc *Salmonella*; *Bacillaceae* như *Bacillus subtilis*; *Pneumococcus*; *Streptococcus* và *Haemophilus influenzae*. Các vi sinh vật này bao gồm *Saccharomyces cerevisiae* và *Pichia pastoris*. Các dòng tế bào chủ động vật thích hợp bao gồm CHO (Chinese Hamster Ovary- dòng tế bào trứng chuột hamster Trung Quốc), các tế bào HEK293 (các ví dụ không giới hạn như tế bào HEK293E), và tế bào NS0.

Các kháng thể cải biến di truyền hoặc các mảnh gắn kết kháng nguyên có thể được điều chế và tinh chế bằng các phương pháp thông thường. Ví dụ, các trình tự cADN mã hóa các chuỗi nặng và nhẹ có thể được tách dòng và tái tổ hợp vào trong vector biểu hiện GS. Vector biểu hiện immunoglobulin tái tổ hợp có thể được chuyển nhiễm ổn định vào trong các tế bào CHO. Như tình trạng kỹ thuật trước đây khác, các hệ thống biểu hiện động vật có vú có thể dẫn đến sự glycosyl hóa các kháng thể, đặc biệt là ở các vị trí đầu tận cùng N bảo thủ cao của vùng Fc. Các dòng đơn tính ổn định thu được bằng cách biểu hiện kháng thể liên kết đặc hiệu với kháng nguyên. Các dòng dương tính có thể được nhân lên trong môi trường không chứa huyết thanh trong thiết bị phản ứng sinh học để sản xuất kháng thể. Môi trường nuôi cấy mà đã được tiết vào trong đó kháng thể có thể được tinh chế bằng các kỹ thuật thông thường. Ví dụ, tinh chế có thể được thực hiện trên cột FF Sepharose Protein A hoặc Protein G chứa đệm điều chỉnh. Các thành phần liên kết không đặc hiệu được rửa bỏ. Các kháng thể liên kết được rửa giải bằng gradient pH và các mảnh kháng thể được phát hiện bằng SDS-PAGE, và sau đó gom lại. Các kháng thể có thể được lọc và cô đặc sử dụng các

kỹ thuật chung. Các hỗn hợp hòa tan và các multime có thể được loại bỏ hiệu quả bằng các kỹ thuật thông thường, như trao đổi ion hoặc loại trừ kích cỡ. Các sản phẩm thu được cần được làm đông lạnh ngay lập tức, như ở -70°C , hoặc đông khô.

"Dùng" hoặc "điều trị," khi nó sử dụng với động vật có vú, người, đối tượng thí nghiệm, tế bào, mô, cơ quan hoặc dịch sinh học, đề cập đến sự tiếp xúc của chất phản ứng chẩn đoán, điều trị, được phẩm ngoại sinh với người, động vật, đối tượng, tế bào, mô, cơ quan hoặc dịch sinh học. "Dùng" và "điều trị" có thể đề cập, ví dụ, đến các phương pháp điều trị, được động học, chẩn đoán, nghiên cứu, và thí nghiệm. Điều trị tế bào bao gồm tiếp xúc chất phản ứng với tế bào này, cũng như tiếp xúc chất phản ứng với dịch, trong đó dịch này là tiếp xúc với tế bào. "Dùng" hoặc "điều trị" cũng có nghĩa là sự điều trị *in vitro* hoặc *ex vivo*, ví dụ, tế bào với hợp chất phản ứng, hợp chất chẩn đoán, hợp chất liên kết hoặc với tế bào khác. "Điều trị", khi được sử dụng cho người, đối tượng thú y hoặc đối tượng nghiên cứu, đề cập đến các phương pháp điều trị chữa trị, chẩn đoán hoặc ngăn ngừa, các áp dụng nghiên cứu và chẩn đoán.

"Điều trị" nghĩa là dùng dược chất, như chế phẩm chứa hợp chất bất kỳ của sáng chế, bên trong hoặc bên ngoài người bệnh có một hoặc nhiều triệu chứng bệnh đối với chất có hoạt tính điều trị đã biết. Điển hình là, chất được dùng với lượng hữu hiệu để làm thuyên giảm một hoặc nhiều triệu chứng bệnh trong người bệnh hoặc quần thể được điều trị, bằng cách gây ra sự thoái triển hoặc sự ức chế tiến triển của (các) triệu chứng này bằng mức đo được lâm sàng bất kỳ. Khối lượng dược chất là hữu hiệu để làm thuyên giảm triệu chứng bệnh cụ thể bất kỳ (cũng đề cập đến là "khối lượng hữu hiệu để điều trị") có thể thay đổi theo các yếu tố khác nhau như tình trạng bệnh, độ tuổi, và trọng lượng cơ thể của người bệnh, và khả năng của dược chất để gây ra đáp ứng mong muốn trong người bệnh. Trong đó triệu chứng bệnh đã được làm thuyên giảm có thể được đánh giá bằng phương pháp lâm sàng bất kỳ thường được sử dụng bởi dược sỹ hoặc nhà cung cấp dịch vụ chăm sóc sức khỏe khác để đánh giá độ nghiêm trọng hoặc tình trạng tiến triển của triệu chứng này. Trong đó phương án của sáng chế (ví dụ, phương pháp điều trị hoặc vật phẩm sản xuất) có thể không hiệu quả để làm thuyên giảm (các) triệu chứng bệnh đích ở người bệnh trong mọi bệnh nhân, nên làm thuyên giảm (các) triệu chứng bệnh đích ở một số người bệnh có ý nghĩa thống kê như được xác định bằng thử nghiệm thống kê bất kỳ đã biết trong ngành như thử nghiệm t Student, thử nghiệm chi-bình phương, thử nghiệm U theo Mann và Whitney, thử nghiệm Kruskal-Wallis (thử nghiệm H), thử nghiệm Jonckheere-Terpstra và thử nghiệm Wilcoxon.

"Sự thay đổi bảo toàn axit amin" hoặc "sự thay thế bảo toàn axit amin" nghĩa là các axit amin trong protein hoặc polypeptit được thay thế bằng các axit amin khác có các đặc điểm tương tự (như sự tích điện, kích thước chuỗi bên, tính ưa nước/tính kỵ nước, cấu hình và độ cứng của chuỗi chính v.v...), sao cho các sự thay đổi này có thể thường xuyên được tạo ra không làm thay đổi hoạt tính hóa học hoặc các đặc điểm yêu cầu khác (như ái lực và/hoặc tính đặc hiệu với kháng nguyên) của protein hoặc polypeptit. Chuyên gia trong ngành công nhận rằng nhìn chung một sự thay thế axit amin trong các vùng không quan trọng của polypeptit không làm thay đổi đáng kể hoạt tính sinh học (xem, ví dụ, Watson et al. (1987) *Molecular Biology of the Gene*, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Ed.)). Ngoài ra, các sự thay thế bằng các axit amin tương tự về cấu trúc hoặc chức năng là ít có khả năng phá vỡ hoạt tính sinh học. Các sự thay thế bảo toàn điển hình được nêu trong bảng dưới đây, "các sự thay thế bảo toàn axit amin điển hình".

Các sự thay thế bảo toàn axit amin điển hình

Gốc ban đầu	Sự thay thế bảo toàn
Ala(A)	Gly; Ser
Arg(R)	Lys; His
Asn(N)	Gln; His; Asp
Asp(D)	Glu; Asn
Cys(C)	Ser; Ala; Val
Gln(Q)	Asn; Glu
Glu(E)	Asp; Gln
Gly(G)	Ala
His(H)	Asn; Gln
Ile(I)	Leu; Val
Leu(L)	Ile; Val
Lys(K)	Arg; His
Met(M)	Leu; Ile; Tyr
Phe(F)	Tyr; Met; Leu
Pro(P)	Ala
Ser(S)	Thr
Thr(T)	Ser
Trp(W)	Tyr; Phe
Tyr(Y)	Trp; Phe

Val(V)	Ile; Leu
--------	----------

"Khối lượng hữu hiệu" hoặc "liều dùng hữu hiệu" đề cập đến khối lượng dược phẩm, hợp chất, hoặc chế phẩm được cần thiết để thu được một hoặc nhiều lợi ích hoặc các kết quả mong muốn bất kỳ. Cho các áp dụng phòng bệnh, các kết quả có lợi hoặc mong muốn bao gồm loại bỏ hoặc làm giảm nguy cơ, giảm độ nghiêm trọng, hoặc làm chậm sự khởi phát bệnh, bao gồm các sự biểu thị sinh hóa, mô, và biểu hiện của tình trạng bệnh này, sự tuân thủ nó, và kiểu hình bệnh học trung gian, trong quá trình phát triển tình trạng bệnh. Cho các ứng dụng điều trị, các kết quả có lợi hoặc mong muốn bao gồm các kết quả lâm sàng, như giảm tỷ lệ mắc bệnh của nhiều tình trạng bệnh khác nhau với kháng nguyên đích của sáng chế hoặc cải thiện một hoặc nhiều triệu chứng của tình trạng bệnh, giảm liều dùng các tác nhân khác để điều trị tình trạng bệnh, tăng cường hiệu quả của các tác nhân khác, và/hoặc làm chậm tiến triển của tình trạng bệnh liên quan đến kháng nguyên đích này của sáng chế trong người bệnh.

"Ngoại sinh" đề cập đến chất được tạo ra bên ngoài cơ thể, tế bào, hoặc người theo hoàn cảnh. "Nội sinh" đề cập đến chất được tạo ra trong tế bào, sinh vật hoặc cơ thể người theo hoàn cảnh.

"Tương đồng" và "giống" có thể hoán đổi cho nhau ở đây đề cập đến sự tương tự trong trình tự giữa hai chuỗi polynucleotit hoặc giữa hai trình tự polypeptit. Khi vị trí trong cả hai của hai chuỗi này được so sánh được giữ bởi bazơ hoặc các dưới đơn vị monome axit amin giống nhau, ví dụ, nếu vị trí trong mỗi trong số hai phân tử ADN được giữ bởi adenin, thì các phân tử này là tương đồng ở vị trí này. Phần trăm tương đồng giữa hai trình tự là hàm của số các vị trí tương xứng hoặc tương đồng cùng có ở cả hai trình tự này chia cho số các vị trí được so sánh và sau đó nhân với 100. Ví dụ, khi hai trình tự được duỗi thẳng tối ưu, nếu 6 trong số 10 vị trí trong hai chuỗi này là tương xứng hoặc tương đồng, thì hai chuỗi này là tương đồng 60%; nếu 95 trong số 100 vị trí trong hai chuỗi này là tương xứng hoặc tương đồng, thì hai chuỗi này là tương đồng 95%. Nhìn chung, khi hai trình tự được so sánh, so sánh được thực hiện để thu được phần trăm tương đồng tối đa. Ví dụ, so sánh có thể được thực hiện bằng thuật toán BLAST, trong đó các thông số của thuật toán được chọn để thu được sự tương xứng tối đa giữa mỗi trình tự so với toàn bộ chiều dài của mỗi trình tự tham chiếu.

Các sự tham chiếu sau đề cập đến thuật toán BLAST thường được sử dụng để phân tích trình tự: thuật toán BLAST (BLAST ALGORITHMS): Altschul, SF *et al.*, (1990)

J. Mol. Biol. 215:403-410; Gish, W. *et al.*, (1993) Nature Genet. 3:266-272; Madden, TL *et al.*, (1996) Meth. Enzymol. 266:131-141; Altschul, SF *et al.*, (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402; Zhang, J. *et al.* (1997) Genome Res. 7:649-656. Các thuật toán BLAST thông thường khác như thuật toán sẵn có từ NCBI BLAST cũng được các chuyên gia trong ngành biết nhiều.

"Được phân tách" đề cập đến tình trạng tinh khiết, trong đó phân tử được chỉ định là hầu như không chứa phân tử sinh học khác như axit nucleic, protein, lipid, carbohydrat, hoặc nguyên liệu khác, như mảnh vụn tế bào và môi trường sinh trưởng. Nhìn chung, thuật ngữ "được phân tách" không nhằm nghĩa là sự không có hoàn toàn các nguyên liệu này hoặc sự không có nước, đệm hoặc muối, trừ khi chúng có với khối lượng mà gây cản trở đáng kể đến việc sử dụng thí nghiệm hoặc điều trị hợp chất như được mô tả ở đây.

"Tùy ý" hoặc "một cách tùy ý" nghĩa là sự kiện hoặc hoàn cảnh mà theo sau có thể nhưng không nhất thiết xảy ra, và bản mô tả này bao gồm tình huống trong đó sự kiện này hoặc hoàn cảnh này xảy ra hoặc không xảy ra. Ví dụ, "tùy ý chứa 1-3 vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể" nghĩa là vùng biến đổi chuỗi nặng kháng thể có trình tự cụ thể có thể có mặt nhưng không nhất thiết có mặt.

"Được phẩm" đề cập đến hỗn hợp chứa một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế hoặc muối được dụng/dược lý hoặc tiền được chất của nó và các thành phần hóa học khác, như chất mang được dụng/dược lý và các tá được. Được phẩm nhằm để thúc đẩy dùng cho sinh vật, làm dễ dàng hấp thụ hoạt chất và nhờ đó tạo ra hiệu quả sinh học.

Thuật ngữ "chất mang được dụng" đề cập đến chất bất hoạt thích hợp để sử dụng trong chế phẩm để phân phối các kháng thể hoặc các mảnh gắn kết kháng nguyên. Chất mang có thể là tác nhân chống kết dính, chất kết dính, chất phủ, chất làm rắn, chất độn hoặc chất pha loãng, chất bảo quản (như chất chống oxy hóa, chống vi khuẩn hoặc chống nấm), chất làm ngọt, chất làm chậm hấp thụ, chất làm ướt, chất nhũ hóa, chất đệm và chất tương tự. Các ví dụ về các chất mang được dụng thích hợp bao gồm nước, etanol, polyol (như glyxerol, propylen glycol, polyetylen glycol, và chất tương tự), dextroza, dầu thực vật (như dầu oliu), nước muối, đệm, nước muối đệm, và chất đẳng trương, như các đường, polyol, sorbitol và natri clorua.

Thuật ngữ "bệnh ung thư", "ung thư" hoặc "ác tính" đề cập đến hoặc mô tả tình trạng sinh lý ở động vật có vú thường được đặc trưng bởi sự sinh trưởng tế bào không điều

hòa được. Các ví dụ về bệnh ung thư bao gồm, nhưng không bị giới hạn đến, caxinom, u lympho, u nguyên bào, sacom, và bệnh bạch cầu hoặc bệnh bạch huyết ác tính. Các ví dụ cụ thể hơn về bệnh ung thư bao gồm caxinom tế bào vảy, u tủy, u phổi tế bào nhỏ, u phổi tế bào không nhỏ (NSCLC), caxinom tế bào vảy đầu và cổ (HNSCC), u thần kinh đệm, u lympho Hodgkin, u lympho không Hodgkin, u lympho tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL), u lympho nang, bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính (ALL), bệnh bạch cầu dạng tủy bào cấp tính (AML), bệnh bạch cầu tế bào lympho mạn tính (CLL), bệnh bạch cầu dạng tủy bào mạn tính (CML), u lympho tế bào B lớn trung thất nguyên phát, u lympho tế bào vỏ (MCL), u lympho tế bào lympho nhỏ (SLL), u lympho tế bào B lớn giàu tế bào T/mô bào, chứng đau tủy, bệnh bạch cầu dạng tủy bào-protein 1 (Mcl-1), hội chứng loạn sinh tủy (MDS), ung thư (dài) dạ dày ruột, ung thư thận, ung thư buồng trứng, ung thư gan, bệnh bạch cầu nguyên bào lympho, bệnh bạch cầu tế bào lympho, ung thư trực tràng ruột kết, ung thư áo niêm mạc tử cung, ung thư thận, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tuyến giáp, u melanin, sacôm sụn, u nguyên bào thần kinh, ung thư tụy, u nguyên bào đệm đa hình thể, ung thư dạ dày, ung thư xương, sacôm Ewing, ung thư cổ, ung thư não, ung thư dạ dày, ung thư bàng quang, khối u tế bào gan, ung thư vú, ung thư ruột kết, ung thư tế bào gan (HCC), caxinom tế bào thận tế bào sáng (RCC), ung thư đầu và cổ, ung thư gan-ống gan, ung thư hệ thần kinh trung ương, ung thư thực quản, u trung biểu mô màng phổi ác tính, bệnh thoái biến dạng bột (amyloidosis) chuỗi nhẹ toàn thân, u lympho lympho bào-bào tương, hội chứng loạn sinh tủy, khối u tăng sinh tủy xương, khối u thần kinh nội tiết, ung thư tế bào Merkel, ung thư tinh hoàn, và ung thư da.

"Rối loạn viêm" đề cập đến bệnh, rối loạn hoặc triệu chứng bất kỳ trong đó đáp ứng viêm không điều hòa được hoặc quá mức dẫn đến các triệu chứng viêm quá mức, tổn thương mô chủ, hoặc làm giảm chức năng mô. "Bệnh viêm" cũng đề cập đến tình trạng bệnh gây ra bởi sự tập hợp hướng hóa chất bạch cầu hoặc bạch cầu trung tính.

"Viêm" đề cập đến đáp ứng khu trú bảo vệ gây ra bởi sự tổn thương hoặc sự phá hủy mô, và là hữu ích để phá hủy, làm thuyên giảm hoặc loại bỏ (tách) các chất gây hại và các mô bị tổn thương. Viêm liên quan đáng kể đến sự tập hợp hướng hóa chất bạch cầu hoặc bạch cầu trung tính. Viêm có thể gây ra bởi các sinh vật gây bệnh và virus, cũng như không lây nhiễm gây ra như chấn thương, sự tái đầy máu sau nhồi máu cơ tim, đột quỵ, đáp ứng miễn dịch với kháng nguyên lạ và đáp ứng tự miễn.

"Bệnh tự miễn" đề cập đến nhóm bệnh bất kỳ trong đó sự tổn thương mô liên quan đến các đáp ứng với các thành phần của chính cơ thể gây ra bởi miễn dịch tế bào hoặc

miễn dịch thể dịch. Các ví dụ không giới hạn về các bệnh tự miễn bao gồm bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh vẩy nến, bệnh Crohn, viêm loét ruột dạng thấp, bệnh xơ cứng rải rác, bệnh đái tháo đường typ I, bệnh viêm gan, viêm cơ tim, hội chứng Sjogren, thiếu máu tan huyết tự miễn do thải bỏ mảnh ghép, dạng pemphigut nang, bệnh Graves, viêm tuyến giáp Hashimoto, luput ban đỏ toàn thân (SLE), bệnh nhược cơ năng, pemphigut, thiếu máu ác tính, v.v...

Ngoài ra, khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến phương pháp phát hiện miễn dịch hoặc xác định các kháng nguyên đích, chất phản ứng để phát hiện miễn dịch hoặc xác định các kháng nguyên đích, các phương pháp phát hiện miễn dịch hoặc xác định tế bào biểu hiện các kháng nguyên đích, và các tác nhân chẩn đoán để chẩn đoán bệnh liên quan đến tế bào dương tính kháng nguyên đích, bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc các mảnh kháng thể của sáng chế mà nhận biết đặc hiệu và liên kết với kháng nguyên đích làm hoạt chất.

Trong sáng chế này, phương pháp phát hiện hoặc đo khối lượng kháng nguyên đích có thể là phương pháp đã biết bất kỳ. Ví dụ, bao gồm phương pháp thử nghiệm miễn dịch hoặc phát hiện miễn dịch.

Phương pháp thử nghiệm miễn dịch hoặc phát hiện miễn dịch là phương pháp phát hiện hoặc đo khối lượng của kháng thể hoặc kháng nguyên bằng kháng nguyên hoặc kháng thể được đánh dấu. Các ví dụ về phương pháp thử nghiệm miễn dịch hoặc phát hiện miễn dịch bao gồm phương pháp kháng thể miễn dịch được đánh dấu chất có hoạt tính phóng xạ (RIA), thử nghiệm miễn dịch enzym (EIA hoặc ELISA), thử nghiệm miễn dịch huỳnh quang (FIA), thử nghiệm miễn dịch phát huỳnh quang, thẩm tách western, phương pháp lý hóa, và phương pháp tương tự.

Các bệnh đề cập trên đề cập đến tế bào dương tính kháng nguyên đích có thể được chẩn đoán bằng cách phát hiện hoặc đo tế bào biểu hiện kháng nguyên đích sử dụng kháng thể hoặc mảnh kháng thể của sáng chế.

Các tế bào biểu hiện polypeptit có thể được phát hiện bằng phương pháp phát hiện miễn dịch đã biết, ưu tiên là bằng kết tủa miễn dịch, nhuộm tế bào huỳnh quang, nhuộm mô miễn dịch, và phương pháp tương tự. Ngoài ra, phương pháp này như phương pháp nhuộm kháng thể huỳnh quang bằng hệ thống FMAT8100HTS (Applied Biosystem) có thể được sử dụng.

Trong sáng chế này, các mẫu được phát hiện hoặc được đo kháng nguyên đích không được giới hạn cụ thể, miễn là chúng có thể chứa các tế bào biểu hiện kháng nguyên đích, như tế bào mô, máu, huyết tương, huyết thanh, dịch tụy, nước tiểu, phân, dịch mô hoặc dịch nuôi cấy.

Phụ thuộc vào phương pháp chẩn đoán được yêu cầu, tác nhân chẩn đoán chứa kháng thể đơn dòng hoặc mảnh kháng thể của nó của sáng chế có thể cũng chứa chất phản ứng để thực hiện phản ứng kháng nguyên-kháng thể hoặc chất phản ứng để phát hiện phản ứng này. Các chất phản ứng để thực hiện phản ứng kháng nguyên-kháng thể bao gồm đệm, muối và chất tương tự. Các chất phản ứng để phát hiện bao gồm các chất được sử dụng chung trong phương pháp thử nghiệm miễn dịch hoặc phát hiện miễn dịch, ví dụ, kháng thể thứ cấp được đánh dấu nhận biết kháng thể đơn dòng, mảnh kháng thể hoặc thể tiếp hợp của nó, và cơ chất tương ứng với chất đánh dấu này.

Các chi tiết về một hoặc nhiều phương án của sáng chế được nêu trong bản mô tả trên đây. Các phương pháp và các nguyên liệu ưu tiên được mô tả dưới đây, mặc dù phương pháp và nguyên liệu bất kỳ tương tự hoặc giống với các phương pháp và nguyên liệu được mô tả ở đây có thể được sử dụng để thực hiện hoặc thử nghiệm sáng chế. Mặc dù bản mô tả và yêu cầu bảo hộ, các đặc điểm khác, các mục đích và hữu ích của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng. Trong bản mô tả và yêu cầu bảo hộ, các dạng số ít bao gồm cả dạng số nhiều trừ khi ngữ cảnh được chỉ ra rõ ràng khác. Trừ khi được định nghĩa rõ ràng khác, tất cả các thuật ngữ khoa học và kỹ thuật được sử dụng ở đây có nghĩa được hiểu chung bởi chuyên gia trong ngành thuộc lĩnh vực này. Tất cả các sáng chế và các tài liệu công bố viện dẫn trong bản mô tả này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Các ví dụ sau được trình bày để minh họa đầy đủ hơn các phương án ưu tiên của sáng chế. Các ví dụ này không nên được hiểu làm giới hạn phạm vi của sáng chế theo cách bất kỳ, và phạm vi của sáng chế được xác định bởi yêu cầu bảo hộ.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Điều chế và sàng lọc kháng thể

Phương pháp sản xuất kháng thể đơn dòng được biết trong ngành. Một trong số các phương pháp mà có thể được sử dụng là phương pháp như được mô tả trong Kohler, G. *et al.* (1975) "Continuous Cultures Of Fused Cells Secreting Antibody Of Predefined Specificity," Nature 256:495-497 hoặc dạng cải biến của nó. Điển hình là, kháng thể đơn dòng được tạo ra trong loài không phải người, như chuột. Nhìn chung, chuột hoặc chuột rat được sử dụng để gây miễn dịch, nhưng động vật khác như thỏ

và lạc đà không bướu alpaca có thể cũng được sử dụng. Các kháng thể được điều chế bằng cách gây miễn dịch chuột bằng khối lượng gây miễn dịch tế bào, dịch chiết tế bào hoặc chế phẩm protein chứa CD3 người hoặc các kháng nguyên đích khác (như B7H3 người). Chất gây miễn dịch có thể là, nhưng không bị giới hạn đến, các tế bào bậc một, các dòng tế bào nuôi cấy, các tế bào ung thư, axit nucleic hoặc mô.

Theo một phương án, kháng thể đơn dòng liên kết với kháng nguyên đích thu được bằng cách sử dụng các tế bào chủ biểu hiện quá mức kháng nguyên đích làm chất sinh miễn dịch. Các tế bào này bao gồm, ví dụ, nhưng không bị giới hạn đến, tế bào T người, tế bào biểu hiện quá mức B7H3 người.

Để theo dõi đáp ứng kháng thể, khối lượng nhỏ mẫu sinh học (ví dụ, máu) có thể thu được từ động vật và được thử nghiệm cho các chuẩn độ kháng thể chống lại chất sinh miễn dịch. Lách và/hoặc một số hạch lympho lớn có thể được lấy ra và được tách ra thành các tế bào đơn. Nếu muốn, các tế bào lách có thể được chọn bằng cách đưa huyền phù tế bào lên đĩa hoặc lỗ được phủ kháng nguyên (sau khi loại bỏ các tế bào dính không đặc hiệu). Các tế bào B biểu hiện immunoglobulin đặc hiệu kháng nguyên liên kết màng sẽ liên kết với đĩa này và sẽ không được rửa bỏ bằng huyền phù còn lại này. Sau đó, các tế bào B thu được hoặc các tế bào lách tách ra có thể được dung hợp với các tế bào u tủy (ví dụ, X63-Ag8.653 và các tế bào sẵn có từ Salk Institute, Cell Distribution Center, San Diego, CA). Polyetylen glycol (PEG) có thể được sử dụng để dung hợp lách hoặc lympho bào với tế bào u tủy tạo ra các khối tế bào lai. Các khối tế bào lai này sau đó được nuôi cấy trong môi trường chọn lọc (ví dụ, môi trường hypoxanthin, aminopterin, thymidin medium, nếu không thì được đề cập đến là "môi trường HAT "). Sau đó, khối tế bào lai thu được được nhân lên trên đĩa này bằng sự pha loãng giới hạn, và sản xuất kháng thể liên kết đặc hiệu với chất sinh miễn dịch được phân tích bằng cách sử dụng, ví dụ, sàng lọc FACS-phân loại tế bào hoạt hóa huỳnh quang (Fluorescence Activated Cell Sorting) hoặc hóa mô miễn dịch (Immunohistochemistry-IHC). Sau đó, các khối tế bào lai tiết kháng thể đơn dòng chọn lọc được nuôi cấy *in vitro* (ví dụ, trong bình nuôi cấy mô hoặc bình phản ứng sợi rỗng) hoặc *in vivo* (ví dụ, là cổ trướng trong chuột).

Là kỹ thuật dung hợp tế bào khác, các tế bào B được làm bất tử virus Epstein-Barr (EBV) có thể được sử dụng để điều chế kháng thể đơn dòng theo sáng chế. Nếu cần thiết, khối tế bào lai được tăng sinh và tách dòng phụ, và hoạt tính chống chất sinh

miễn dịch của phần nổi được phân tích bằng phương pháp phân tích truyền thống (ví dụ, FACS, IHC, thử nghiệm phóng xạ miễn dịch, thử nghiệm miễn dịch enzym, thử nghiệm miễn dịch phát huỳnh quang, v.v...).

Theo cách khác, kháng thể đơn dòng kháng lại các kháng nguyên đích (như CD3, B7H3) và các kháng thể tương đương khác bất kỳ có thể được phân tích trình tự và được điều chế tái tổ hợp bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong ngành (ví dụ, làm giống người, điều chế kháng thể người hoàn chỉnh sử dụng chuột chuyển gen, công nghệ biểu hiện thực khuẩn thể, v.v...). Theo một phương án, kháng thể đơn dòng kháng lại các kháng nguyên đích (ví dụ, CD3, B7H3) được phân tích trình tự và sau đó các trình tự polynucleotit được tách dòng đơn tính vào trong vector để biểu hiện hoặc tăng sinh. Trình tự mã hóa kháng thể quan tâm này có thể được duy trì trong vector trong tế bào chủ và sau đó tế bào chủ có thể được tăng sinh và làm đông lạnh để sử dụng sau đó.

Các trình tự polynucleotit của kháng thể đơn dòng kháng CD3 và kháng thể tương đương khác có thể được sử dụng để thao tác di truyền để tạo ra kháng thể "được làm giống người" để cải thiện ái lực hoặc các đặc điểm khác của kháng thể này. Nguyên tắc chung của kháng thể được làm giống người bao gồm giữ trình tự cơ bản của phần gắn kết kháng nguyên của kháng thể, trong khi phần không phải của người còn lại của kháng thể được thay bằng trình tự kháng thể người. Bốn bước thường được sử dụng để làm giống người kháng thể đơn dòng. Các bước này là như sau: (1) xác định các trình tự nucleotit và các trình tự axit amin giả định của các khu vực biến đổi chuỗi nặng và nhẹ của kháng thể ban đầu; (2) thiết kế kháng thể được làm giống người, đó là, xác định khu vực vùng khung kháng thể sẽ được sử dụng trong quy trình làm giống người; (3) các phương pháp/kỹ thuật làm giống người thực tế và (4) chuyển nhiễm và biểu hiện kháng thể được làm giống người. Xem, ví dụ, Patent Mỹ No. US4816567, US5807715, US5866692, và US6331415.

1. Điều chế và sàng lọc kháng thể B7H3

Các tế bào B được phân tách bằng cách sử dụng PBMC người, lách, và các mô hạch bạch huyết và ARN được chiết để xây dựng thư viện thực khuẩn thể sợi đơn tự nhiên. thư viện thực khuẩn thể sợi đơn tự nhiên được xây dựng này được đóng gói để tạo thành các hạt thực khuẩn thể, mà được sàng lọc bằng cách gạn sử dụng phương pháp pha lỏng. Thực khuẩn thể được liên kết với pha lỏng B7H3 được biotinylat hóa, và sau

đó được tách bằng các hạt từ streptavidin. Để thu được trình tự dương tính liên kết với B7H3 người, B7H3 người được biotinyl hóa được sử dụng để gạn. Một vài dòng đơn dòng đơn tính được lấy và được đóng gói vào thành thực khuẩn thể các kháng thể chuỗi đơn cho thử nghiệm ELISA thực khuẩn thể. Các thực khuẩn thể đơn dòng được thử nghiệm về khả năng của chúng tương ứng liên kết với B7H3 người và B7H3 chuột, và các kháng thể B7H3 thu được sau khi sàng lọc.

Các kháng nguyên liên quan đến B7H3 được sử dụng để phát hiện được thể hiện như sau:

Kháng nguyên B7H3 người để phát hiện

Sản phẩm có sẵn trên thị trường (SinoBiological cat# 11188-H08H)

Trình tự là như sau:

LEVQVPEDPVVALVGTDATLCCSFSPGFSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFAEGQDQ
GSAYANRTALFPDLLAQGNASRLRLQVRVADEGSFTCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPY
SKPSMTLEPNKDLRPGDVTITCSSYQGYPEAEVFWQDGQGVPLTGNVTTSQMAN
EQGLFDVHSILRVVLGANGTYSCLVARNPVLQQDAHSSVTITPQRSPTGAVEVQVPE
DPVVALVGTDATLRCSFSPEPGFSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYANR
TALFPDLLAQGNASRLRLQVRVADEGSFTCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTL
EPNKDLRPGDVTITCSSYRGYPEAEVFWQDGQGVPLTGNVTTSQMANEQGLFDV
HSVLRVVLGANGTYSCLVARNPVLQQDAHGSVTITGQPMTHHHHHH

SEQ ID NO: 1

Lưu ý: Phần gạch chân là vùng ngoại bào của B7H3; chữ in nghiêng là đuôi Hig.

Kháng nguyên B7H3 khỉ để phát hiện

Sản phẩm có sẵn trên thị trường (SinoBiological cat#90806-C08H)

Trình tự là như sau:

LEVQVPEDPVVALVGTDATLRCSFSPEPGFSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFTEGRDQ
GSAYANRTALFLDLLAQGNASRLRLQVRVADEGSFTCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPY
SKPSMTLEPNKDLRPGDVTITCSSYRGYPEAEVFWQDGQGAPLTGNVTTSQMAN
EQGLFDVHSVLRVVLGANGTYSCLVARNPVLQQDAHGSITITPQRSPTGAVEVQVPE
DPVVALVGTDATLRCSFSPEPGFSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYANR
TALFLDLLAQGNASRLRLQVRVADEGSFTCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTL
EPNKDLRPGDVTITCSSYRGYPEAEVFWQDGQGAPLTGNVTTSQMANEQGLFDV
HSVLRVVLGANGTYSCLVARNPVLQQDAHGSVTITGQPMTFPPEHHHHHH

SEQ ID NO: 2

Lưu ý: Phần gạch chân là vùng ngoại bào của B7H3; chữ in nghiêng là đuôi Hig.

Kháng nguyên B7H3 chuột để phát hiện

Sản phẩm có sẵn trên thị trường (SinoBiological cat# 50973-M08H)

Trình tự là như sau:

VEVQVSEDPVVALVDTDATLRCSFSPEPGFSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFTEGRDQ
GSAYSNRTALFPDLLVQGNASLRLQVRVVTDEGSYTCFVSIQDFDSAASVSLQVAAPY
SKPSMTLEPNKDLRPGNMVTITCSSYQGYPEAEVFWKDGQGVPLTGNVTTSQMAN
ERGLFDVHSLRVVLGANGTYSCLVARNPVLQQDAHGSVTITGQPLTF-HHHHHH

SEQ ID NO: 3

Lưu ý: Phần gạch chân là vùng ngoại bào của B7H3; chữ in nghiêng là đuôi Hig.

Trình tự axit amin B7H3 người có chiều dài hoàn chỉnh

MLRRRGSPGMGVHVGAAALGALWFCLTGALEVQVPEDPVVALVGTDATLCCSFSPE
PGFSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFAEGDQGSAYANRTALFPDLLAQGNASLRLQR
VRVADEGSFTCFVSIRDFGSAASVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDVTITCSSY
QGYPEAEVFWQDGQGVPLTGNVTTSQMANEQGLFDVHSILRVVLGANGTYSCLV
RNPVLQQDAHSSVTITPQRSPTGAVEVQVPEDPVVALVGTDATLRCSFSPEPGFSLA
QLNLIWQLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYANRTALFPDLLAQGNASLRLQVRVADE
GSFTCFVSIRDFGSAASVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDVTITCSSYRGYPEA
EVFWQDGQGVPLTGNVTTSQMANEQGLFDVHSLRVVLGANGTYSCLVARNPVLQ
QDAHGSVTITGQPMFTFPPEALWVTVGLSVCLIALVALAFV.CWRKIKQSCEENAGA
EDQDGEGEKSKTALQPLKHSDSKEDDGQEIA

SEQ ID NO: 4

Lưu ý: Phần gạch chân kép là peptit tín hiệu (Peptit tín hiệu:1-28); Phần gạch chân là vùng ngoại bào của B7H3 (Vùng ngoại bào: 29-466), trong đó 29-139 đề cập đến khu vực Ig-giống V-typ 1, 145-238 đề cập đến khu vực Ig-giống C2-typ 1; 243-357 đề cập đến khu vực Ig-giống V-typ 2, và 363-456 đề cập đến khu vực Ig-giống C2-typ 2; Dòng chấm là vùng xuyên màng (Vùng xuyên màng: 467-487); Phần in nghiêng là vùng nội bào (Khu vực bào tương: 488-534).

Trình tự axit amin B7H3 khi có chiều dài hoàn chỉnh

MLHRRGSPGMGVHVGAAALGALWFCLTGALEVQVPEDPVVALVGTDATLRCSFS
EPGFSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYANRTALFDLLAQGNASLRL
QVRVADEGSFTCFVSIRDFGSAASVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDVTITC
SSYRGYPEAEVFWQDGQGAPLTGNVTTSQMANEQGLFDVHSLRVVLGANGTYS
CLVRNPVLQQDAHGSITITPQRSPTGAVEVQVPEDPVVALVGTDATLRCSFSPEPGF
SLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYANRTALFDLLAQGNASLRLQVR

VADEGSFTCFVSIRDFGSAAVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGDVTITCSSYRG
YPEAEVFWQDGQGAPLTGNVTTSQMANEQGLFDVHSVLRVVLGANGTYSCLVRN
PVLQQDAHGSVTITGQPMTFPEALWVTVGLSVCLVALLVALAFV.CWRKIKQSCEE
ENAGAEDQDGEGEGSKTALQPLKHSDSKEDDG QEIA

SEQ ID NO: 5

Lưu ý:

Phần gạch chân kép là peptit tín hiệu (Peptit tín hiệu:1-28);

Phần gạch chân là vùng ngoại bào của B7H3 (Vùng ngoại bào: 29-466), trong đó 29-139 đề cập đến khu vực Ig-giống V-typ 1, 145-238 đề cập đến khu vực Ig-giống C2-typ 1; 243-357 đề cập đến Khu vực Ig-giống V-typ 2, và 363-456 đề cập đến khu vực Ig-giống C2-typ 2; Dòng chấm là vùng xuyên màng (Vùng xuyên màng: 467-487); Phần in nghiêng là vùng nội bào (Khu vực bào tương: 488-534).

>Trình tự axit amin B7H3 chuột có chiều dài hoàn chỉnh

MLRGWGGPSVGVVCVRTALGVLCCLCTGAVEVQVSEDPVVALVDTDATLRCSFSPEP
GFSLAQLNLIWQLTDTKQLVHSFTEGRDQGSAYSNRTALFPDLLVQGNASRLQRV
RVTDEGSYTCFVSIQDFDSA AVSLQVAAPYSKPSMTLEPNKDLRPGNMVTITCSSYQ
GYPEAEVFWKDGQGVPLTGNVTTSQMANERGLFDVHSVLRVVLGANGTYSCLVR
NPVLQQDAHGSVTITGQPLTFPPEALWVTVGLSVCLVLLVALAFV.CWRKIKQSCEE
ENAGAEDQDGDGEGSKTALRPLKPSENKEDDGQEIA

SEQ ID NO: 6

Lưu ý:

Phần gạch chân kép là peptit tín hiệu (Peptit tín hiệu:1-28); Phần gạch chân là vùng ngoại bào của B7H3 (Vùng ngoại bào: 29-248); Dòng chấm là vùng xuyên màng (Vùng xuyên màng:249-269); Phần in nghiêng là vùng nội bào (Khu vực bào tương:270-316).

Đối với kháng thể B7H3 h1702 thu được bằng cách sàng lọc, các trình tự này và các trình tự CDR được xác định bằng tiêu chuẩn đánh số IMGT là như sau:

>h1702 VH

QVQLVQS GGGVVP GTSRLS CAASG FIFSSA MHVVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNK
YYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSARLYASFDYWGQ GALVTV
SS

SEQ ID NO: 7

>h1702 VL

QTVVTQE PFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPSWYQQTPGQAPRMLIYNTNTRSSG

VPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDES~~D~~YYCAIHVDRDIWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO: 8

Lưu ý: Được sắp xếp theo trật tự FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4, trình tự in nghiêng là FR, và trình tự gạch chân là CDR.

Bảng 1 Các trình tự CDR chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể B7H3 h1702

Kháng thể	Chuỗi nặng		Chuỗi nhẹ	
h1702	HCDR 1	GFIFSSSA SEQ ID NO: 9	LCDR1	SGSVSTSHY SEQ ID NO: 12
	HCDR 2	ISYDGSNK SEQ ID NO: 10	LCDR2	NTN SEQ ID NO: 13
	HCDR 3	ARSARLYASFDY SEQ ID NO: 11	LCDR3	AIHVDRDIWV SEQ ID NO: 14

Để cải tiến thêm hiệu suất của các kháng thể đặc hiệu kép, các đột biến thay thế xystein được thực hiện trong VH và VL của kháng thể B7H3 h1702. Đột biến G103C (theo đánh số trình tự axit amin tự nhiên, vị trí 103 của trình tự nêu trong SEQ ID NO: 16) được đưa vào trong vùng biến đổi chuỗi nhẹ, và đột biến G44C (theo đánh số trình tự axit amin tự nhiên, vị trí 44 của trình tự nêu trong SEQ ID NO: 15) được đưa vào trong vùng biến đổi chuỗi nặng, sao cho cặp liên kết disulfua được tạo thành. Vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể chuỗi đơn kháng B7H3 sau đột biến này là như sau:

B7H3 VH44C:

QVQLVQSGGGVVQPGTSLRLSCAASGFIFSSSAMHWVRQAPGK~~C~~LEWVAVISY
DGSNKYYVDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSARLYASFDYW
GGGALVTVSS

SEQ ID NO: 15

B7H3 VL103C:

QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPSWYQQTPGQAPRMLIYNTNT
RSSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDES~~D~~YYCAIHVDRDIWVFG~~C~~GTKLTVL

SEQ ID NO: 16.

2. Điều chế và sàng lọc các kháng thể CD3

Các kháng thể CD3 được làm giống người có thể thu được trên cơ sở các kháng thể CD3 chuột bằng các phương pháp như đột biến, xây dựng thư viện, làm cho giống người và sàng lọc.

Thông tin trình tự liên quan đến kháng nguyên CD3 là như sau

Kháng nguyên CD3 người để phát hiện

Sản phẩm có sẵn trên thị trường (SinoBiological cat# CT038-H2508H)

Các trình tự này là như sau:

CD3ε người (CD3ε người)

DGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGEDDDKNIGSDE
DHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMD-HHHHHH

SEQ ID NO: 17

Lưu ý:

Phần gạch chân là vùng ngoại bào của CD3ε (Vùng ngoại bào: 23-126); phần in nghiêng là đuôi His.

CD3δ người

FKIPIEELED RVFVNCNTSITWVEGTVGTLLSDITRLDLGKRILDPRGIYRCNGTDIY
KDKESTVQVHYRMCQSCVELDPATVA DYKDDDDK

SEQ ID NO: 18

Lưu ý:

Phần gạch chân là vùng ngoại bào của CD3δ (Vùng ngoại bào: 22-105); phần in nghiêng là đuôi Flag.

Kháng nguyên CD3 khi để phát hiện

Sản phẩm có sẵn trên thị trường (Acro biosystem cat# CDD-C52W4-100ug)

Các trình tự này là như sau:

CD3ε khi

QDGNEEMGSITQTPYQVSISGTTVILTC SQHLGSEAQWQHNGKNKEDSGDRLFLPE
FSEMEQSGYYVCYPRGSPEDASHHLYLKARVCENCMEMD-HHHHHH

SEQ ID NO: 19

Lưu ý:

Phần gạch chân là vùng ngoại bào của CD3ε (Vùng ngoại bào: 22-117); phần in nghiêng là đuôi His.

CD3δ khi

FKIPVEELED RVFVKCNTSVTWVEGTVGTLLTNNTRLDLGKRILDPRGIYRCNGTDI
YKDKESAVQVHYRMCQNCVELDPATLA- DYKDDDDK

SEQ ID NO: 20

Lưu ý:

Phần gạch chân là vùng ngoại bào của CD3δ (Vùng ngoại bào: 22-105); phần in nghiêng là đuôi Flag.

Kháng nguyên CD3 để phát hiện

Sản phẩm có sẵn trên thị trường (SinoBiological cat# CT033-M2508H). Các trình tự này là như sau:

CD3ε chuột

DDAENIEYKVSISGTSVELTCPLSDENLKWEKNGQELPQKHDKHLVLQDFSEVED
SGYYVCYTPASNKNTYLYLKARVCEYCVEVD-HHHHHH

SEQ ID NO: 21

Lưu ý:

Phần gạch chân là vùng ngoại bào của CD3ε (Vùng ngoại bào: 22-108); phần in nghiêng là đuôi His.

CD3δ chuột

FKIQVTEYEDKVFVTCNTSVMHLDGTVEGWFAKNKTLNLGKGVLDPRGIYLCNG
TEQLAKVVSSVQVHYRMCQNCVELDSGTMA *DYKDDDDK*

SEQ ID NO: 22

Lưu ý:

Phần gạch chân là vùng ngoại bào của CD3δ (Vùng ngoại bào: 22-105); phần in nghiêng là đuôi Flag.

Trình tự axit amin CD3ε người chiều dài hoàn chỉnh

MQSGTHWRVLGLCLLSVGWVGQDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGS
EILWQHNDKNIGGEDDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFY
LYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLLLLYYYWSKNRKAKAKPVTRGAG
AGGRQRGQNKERP PPVPNPDYEP IRKGQRDLYSGLNQRR

SEQ ID NO: 23

Lưu ý:

Phần gạch chân kép là peptit tín hiệu (Peptit tín hiệu:1-28);

Phần gạch chân là vùng ngoại bào của CD3ε (Vùng ngoại bào: 23-126), trong đó 32-112 đề cập đến khu vực giống Ig; Dòng chấm là vùng xuyên màng (Vùng xuyên màng:127-152); Phần in nghiêng là vùng nội bào (Khu vực bào tương:153-207).

Trình tự axit amin CD3δ người chiều dài hoàn chỉnh

MEHSTFLSGLVLATLLSQVSPFKIPIEELED RVFVNCNTSITWVEGTVGTLLSDITRL
DLGKRILDPRGIYRCNGTDIYKDKESTVQVHYRMCQSCVELDPATVAGIIVTDVIAT
LLLALGVFCFAGHETGRLSGAADTQALLRNDQVYQPLRDRDDAQYSHLGGNWARNK

SEQ ID NO: 24

Lưu ý:

Phần gạch chân kép là peptit tín hiệu (Peptit tín hiệu:1-21);

Phần gạch chân là vùng ngoại bào của CD3δ (Vùng ngoại bào: 22-105); Dòng chấm là vùng xuyên màng (Vùng xuyên màng: 106-126); Phần in nghiêng là vùng nội bào (Khu vực bào tương: 127-171).

Trình tự axit amin CD3ε chuột chiều dài hoàn chỉnh

MQSGTRWRVLGLCLLSIGVWGQDGNEEMGSITQTPYQVSISGTTVILTCSQHLGSE
AQWQHNGKNKEDSGDRLFLPEFSEMEQSGYYVCYPRGSNPEDASHHLYLKARVC
ENCMEMDVMAVATIVIVDICITLGLLLL*VYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQN*
KERPPVPNPDIYPIRKGQQDLYSGLNQRR

SEQ ID NO: 25

Lưu ý:

Phần gạch chân kép là peptit tín hiệu (Peptit tín hiệu:1-21);

Phần gạch chân là vùng ngoại bào của CD3δ (Vùng ngoại bào: 22-117); Dòng chấm là vùng xuyên màng (Vùng xuyên màng: 118-138); Phần in nghiêng là vùng nội bào (Khu vực bào tương:139-198).

Trình tự axit amin CD3δ khi chiều dài hoàn chỉnh

MEHSTFLSGLVLATLLSQVSPFKIPVEELED RVFVKCNTSVTWVEGTVGTLLTNTR
LDLGKRILDPRGIYRCNGTDIYKDKE SAVQVHYRMCQNCVELDPATLAGIIVTDVIA
TLLLALGVFCFAGHETGRLSGAADTQALLRNDQVYQPLRDRDDAQYSRLGGNWARNK

SEQ ID NO: 26

Lưu ý:

Phần gạch chân kép là peptit tín hiệu (Peptit tín hiệu:1-21);

Phần gạch chân là vùng ngoại bào của CD3δ (Vùng ngoại bào: 22-105); Dòng chấm là vùng xuyên màng (Vùng xuyên màng: 106-126); Phần in nghiêng là vùng nội bào (Khu vực bào tương:127-171).

Trình tự axit amin CD3ε chuột chiều dài hoàn chỉnh

MRWNTFWGILCLSLAVGTCQDDAENIEYKVSISGTSVELTCPLDSDENLKWEKNG
QELPQKHDKHLVLQDFSEVEDSGYYVCYTPASNKNTYLYLKARVCEYCVEVDLTA
VAIIIIVDICITLGLLMVIYYWSKNRKAKAKPVTRGTGAGSRPRGQNKERPPVPNPDPY
EPIRKGQORDLYSGLNQRAV

SEQ ID NO: 27

Lưu ý:

Phần gạch chân kép là peptit tín hiệu (Peptit tín hiệu:1-21);

Phần gạch chân là vùng ngoại bào của CD3δ (Vùng ngoại bào: 22-108); Dòng chấm là vùng xuyên màng (Vùng xuyên màng: 109-134); Phần in nghiêng là vùng nội bào (Khu vực bào tương:135-189).

Trình tự axit amin CD3δ chuột chiều dài hoàn chỉnh

MEHSGILASLILIAVLPGGSPFKIQVTEYEDKVFVTCNTSVMHLDGTVEGWFAKNK
TLNLGKGVLDPGRIYLCNGTEQLAKVVSSVQVHYRMCQNCVELDSGTMAGVIFID
LIATLLALGVYCFAGHETGRPSGAAEVQALLKNEQLYQPLRDREDTQYSRLGGNWP
RNKKS

SEQ ID NO: 28

Lưu ý:

Phần gạch chân kép là peptit tín hiệu (Peptit tín hiệu:1-21);

Phần gạch chân là vùng ngoại bào của CD3δ (Vùng ngoại bào: 22-105); Dòng chấm là vùng xuyên màng (Vùng xuyên màng: 106-126); Phần in nghiêng là vùng nội bào (Khu vực bào tương:127-173).

Sau khi phân tích và tối ưu hóa lặp lại, hàng loạt trình tự kháng thể kháng CD3 được làm giống người thu được. Trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng là như sau:

Bảng 2 Trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể được làm giống người CD3

Tên	SEQ ID NO:	Trình tự
HRH-1	29	<u>EVQLVESGGGLVQP</u> <u>GGSLKLSCAASGFTFN</u> <u>KYAMN</u> <u>WVRQAPGKGLE</u> <u>WVARIRSKANNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN</u> <u>NLKT</u> <u>EDTA</u> <u>VYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLVTVSS</u>
HRH-2	30	<u>EVQLVESGGGLVQP</u> <u>GGSLKLSCAASGFTFN</u> <u>KYAMN</u> <u>WVRQAPGKGLE</u> <u>WVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN</u> <u>NLKT</u> <u>EDTA</u> <u>VYYCVRHGNFGNPNYISYWAYWGQGLVTVSS</u>

HRH-3	31	<i>EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN</i> <u>WVRQAPGKGLE</u> <i>WVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA</i> <i>VYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGLVTVSS</i>
HRH-4	32	<i>EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN</i> <u>WVRQAPGKGLE</u> <i>WVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA</i> <i>VYYCVRHGNFGNSYISYWDYWGQGLVTVSS</i>
HRH-5	33	<i>EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMS</i> <u>WVRQAPGKGLEW</u> <i>VARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAV</i> <i>YYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLVTVSS</i>
HRH-6	34	<i>EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN</i> <u>WVRQAPGKGLE</u> <i>WVARIRNKYNNYATEYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA</i> <i>VYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLVTVSS</i>
HRH-7	35	<i>EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN</i> <u>WVRQAPGKGLE</u> <i>WVARIRSKYNNYATEYAASVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA</i> <i>VYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLVTVSS</i>

Trình tự vùng biến đổi chuỗi nhẹ là như sau:

>HRL

*QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPN**WVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAP*
GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO: 36

Lưu ý: Được sắp xếp theo trật tự FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4, trình tự in nghiêng là FR, và trình tự gạch chân là CDR. Số và vị trí của các CDR vùng biến đổi chuỗi nặng và nhẹ (LCDR1-LCDR3 và HCDR1-HCDR3) của kháng thể được làm giống người CD3 được liệt kê ở đây và trong bảng 3 dưới đây tuân theo tiêu chuẩn đánh số Kabat được biết nhiều.

Bảng 3 Các trình tự CDR của các kháng thể CD3

Vùng biến đổi kháng thể	CDR Chuỗi nặng		Vùng biến đổi kháng thể	CDR Chuỗi nhẹ	
HRH-1	HCDR 1	KYAMN SEQ ID NO: 37	HRL	LCDR1	GSSTGAVTSGNYP N SEQ ID NO: 48
	HCDR 2	RIRSKANNYATYYADSV KD SEQ ID NO: 38		LCDR2	GTKFLAP SEQ ID NO: 49
	HCDR 3	HGNFGNSYISYWAY SEQ ID NO: 39		LCDR3	VLWYSNRWV SEQ ID NO: 50

HRH-2	HCDR 1	KYAMN SEQ ID NO: 37
	HCDR 2	RIRSKYNNYATYYADSV KD SEQ ID NO: 40
	HCDR 3	HGNFGNPYISYWAY SEQ ID NO: 41
HRH-3	HCDR 1	KYAMN SEQ ID NO: 37
	HCDR 2	RIRSKYNNYATYYADSV KD SEQ ID NO: 40
	HCDR 3	HGNFGNEYISYWAY SEQ ID NO: 42
HRH-4	HCDR 1	KYAMN SEQ ID NO: 37
	HCDR 2	RIRSKYNNYATYYADSV KD SEQ ID NO: 40
	HCDR 3	HGNFGNSYISYWDY SEQ ID NO: 43
HRH-5	HCDR 1	KYAMS SEQ ID NO: 44
	HCDR 2	RIRSKYNNYATYYADSV KD SEQ ID NO: 40
	HCDR 3	HGNFGNSYISYWAY SEQ ID NO: 45
HRH-6	HCDR 1	KYAMN SEQ ID NO: 37
	HCDR 2	RIRNKYNNYATEYADSV KD SEQ ID NO: 46
	HCDR 3	HGNFGNSYISYWAY SEQ ID NO: 45
HRH-7	HCDR 1	KYAMN SEQ ID NO: 37
	HCDR 2	RIRSKYNNYATEYAASV KD SEQ ID NO: 47
	HCDR 3	HGNFGNSYISYWAY SEQ ID NO: 45

Xây dựng và điều chế các kháng thể chuỗi đơn

scFv kháng lại B7H3 và scFv kháng lại CD3 thu được bằng cách liên kết các vùng biến đổi chuỗi nặng và nhẹ được bắt nguồn từ các kháng thể B7H3 nêu trên, và bằng cách nối các vùng biến đổi chuỗi nặng và nhẹ có nguồn gốc tương ứng từ kháng thể

CD3, trong đó đoạn nối có thể được chọn từ các đoạn nối được biết trong ngành. Các đoạn nối điển hình có thể được chọn từ: (GGGGS)_n hoặc (GGGGS)_n GGG, trong đó n có thể là 1, 2, 3, hoặc 4.

scFv kháng B7H3 điển hình là như sau:

Bảng 4 Danh mục trình tự của các kháng thể chuỗi đơn kháng B7H3 (scFv) khác nhau

Tên của kháng thể chuỗi đơn (dạng cấu trúc)	Trình tự (SEQ ID NO:)
B7H3-scFv1 (VL _{B7H3} -đoạn nối-VH _{B7H3})	<u>QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPSWYQQTPGQ</u> <u>APRMLIYNTNTRSSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDES</u> <u>YCAIHVDRDIWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQ</u> <u>SGGGVVQPGTSLRLSCAASGFIFSSSAMHWVRQAPGKGLEWVA</u> <u>VISYDGSNKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV</u> <u>YYCARSARLYASFDYWGQ GALVTVSS</u> (SEQ ID NO: 51)
B7H3-scFv2 (VH _{B7H3} -đoạn nối-VL _{B7H3})	<u>QVQLVQSGGGVVQPGTSLRLSCAASGFIFSSSAMHWVRQAPGK</u> <u>GLEWVAVISYDGSNKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR</u> <u>AEDTAVYYCARSARLYASFDYWGQ GALVTVSSGGGGSGGGGSG</u> <u>GGGSQTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPSWYQQ</u> <u>TPGQAPRMLIYNTNTRSSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDE</u> <u>SDYYCAIHVDRDIWVFGGGTKLTVL</u> (SEQ ID NO: 52)
B7H3-scFv3 (VL _{B7H3} -đoạn nối-VH _{B7H3})	<u>QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPSWYQQTPGQ</u> <u>APRMLIYNTNTRSSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDES</u> <u>YCAIHVDRDIWVF GCGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQ</u> <u>SGGGVVQPGTSLRLSCAASGFIFSSSAMHWVRQAPGKCLEWVA</u> <u>VISYDGSNKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV</u> <u>YYCARSARLYASFDYWGQ GALVTVSS</u> (SEQ ID NO: 53)
B7H3-scFv4 (VH _{B7H3} -đoạn nối-VL _{B7H3})	<u>QVQLVQSGGGVVQPGTSLRLSCAASGFIFSSSAMHWVRQAPGK</u> <u>CLEWVAVISYDGSNKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR</u> <u>AEDTAVYYCARSARLYASFDYWGQ GALVTVSSGGGGSGGGGSG</u> <u>GGGSQTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPSWYQQ</u> <u>TPGQAPRMLIYNTNTRSSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDE</u> <u>SDYYCAIHVDRDIWVF GCGTKLTVL</u> (SEQ ID NO: 54)

Các scFv kháng CD3 điển hình là như sau:

Bảng 5 Danh mục trình tự các kháng thể chuỗi đơn kháng CD3 (scFv) khác nhau

Tên của scFv kháng CD3 (dạng cấu trúc)	Trình tự (SEQ ID NO:)
CD3-scFv1H (VH _{CD3} -đoạn nối-VL _{CD3})	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN <u>KYAMN</u> WVRQAPGK GLEWVAR <u>IRSKANN</u> YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNN LKTEDTAVYYCVR <u>HGNFGNSYISYWAY</u> WGQGTLLTVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPN WVQQKPGQAPRGLIGG <u>TKFLAP</u> GTPARFSGSLLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYC <u>VLWYSNRWV</u> FGGGTKLTVL (SEQ ID NO:55)
CD3-scFv2H (VH _{CD3} -đoạn nối-VL _{CD3})	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN <u>KYAMN</u> WVRQAPGK GLEWVAR <u>IRSKYNN</u> YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNN LKTEDTAVYYCVR <u>HGNFGNPYISYWAY</u> WGQGTLLTVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPN WVQQKPGQAPRGLIGG <u>TKFLAP</u> GTPARFSGSLLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYC <u>VLWYSNRWV</u> FGGGTKLTVL (SEQ ID NO:56)
CD3-scFv3H (VH _{CD3} -đoạn nối-VL _{CD3})	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN <u>KYAMN</u> WVRQAPGK GLEWVAR <u>IRSKYNN</u> YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNN LKTEDTAVYYCVR <u>HGNFGNEYISYWAY</u> WGQGTLLTVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPN WVQQKPGQAPRGLIGG <u>TKFLAP</u> GTPARFSGSLLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYC <u>VLWYSNRWV</u> FGGGTKLTVL (SEQ ID NO:57)
CD3-scFv4H (VH _{CD3} -đoạn nối-VL _{CD3})	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN <u>KYAMN</u> WVRQAPGK GLEWVAR <u>IRSKYNN</u> YATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNN LKTEDTAVYYCVR <u>HGNFGNSYISYWDY</u> WGQGTLLTVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYP N <u>WVQQKPGQAPRGLIGG</u> TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSG VQPEDEAEYYC <u>VLWYSNRWV</u> FGGGTKLTVL (SEQ ID NO:58)
CD3-scFv5H (VH _{CD3} -đoạn nối-VL _{CD3})	<i>EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMSWVRQAPGKGLE WVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTED TAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVTVSSGGGGSGGGGSGG GSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKP GQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAE</i>

	YYC <u>VLWYSNRWVF</u> GGGTKLTVL (SEQ ID NO:59)
CD3-scFv6H (VH _{CD3} -đoạn nối-VL _{CD3})	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN <u>KYAMN</u> WVRQAPGK GLEWVAR <u>IRNKYNNYATEYADSVKDR</u> FTISRDDSKNTAYLQMNN LKTEDTAVYYCVR <u>HGNFGNSYISYWAY</u> WGQGTLLTVSSGGGGSG GGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC <u>GSSTGAVTSGNYPN</u> WVQQKPGQAPRGLIGG <u>TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT</u> LSGV QPEDEAEYYC <u>VLWYSNRWVF</u> GGGTKLTVL (SEQ ID NO:60)
CD3-scFv7H (VH _{CD3} -đoạn nối-VL _{CD3})	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN <u>KYAMN</u> WVRQAPGK GLEWVAR <u>IRSKYNNYATEYAASVKDR</u> FTISRDDSKNTAYLQMNN LKTEDTAVYYCVR <u>HGNFGNSYISYWAY</u> WGQGTLLTVSSGGGGSG GGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC <u>GSSTGAVTSGNYPN</u> WVQQKPGQAPRGLIGG <u>TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT</u> LSGV QPEDEAEYYC <u>VLWYSNRWVF</u> GGGTKLTVL (SEQ ID NO:61)
CD3-scFv1L (VL _{CD3} -đoạn nối-VH _{CD3})	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC <u>GSSTGAVTSGNYPN</u> WVQQKPGQ APRGLIGG <u>TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT</u> LSGVQPEDEAEYY C <u>VLWYSNRWVF</u> GGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN <u>KYAMN</u> WVRQAPGKGLEWVAR <u>I</u> <u>RSKANNYATYYADSVKDR</u> FTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAV YYCVR <u>HGNFGNSYISYWAY</u> WGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:62)
CD3-scFv2L (VL _{CD3} -đoạn nối-VH _{CD3})	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC <u>GSSTGAVTSGNYPN</u> WVQQKPGQ APRGLIGG <u>TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT</u> LSGVQPEDEAEYY C <u>VLWYSNRWVF</u> GGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN <u>KYAMN</u> WVRQAPGKGLEWVAR <u>I</u> <u>RSKYNNYATYYADSVKDR</u> FTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAV YYCVR <u>HGNFGNPNYISYWAY</u> WGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:63)
CD3-scFv3L (VL _{CD3} -đoạn nối-VH _{CD3})	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC <u>GSSTGAVTSGNYPN</u> WVQQKPGQ APRGLIGG <u>TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT</u> LSGVQPEDEAEYY C <u>VLWYSNRWVF</u> GGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN <u>KYAMN</u> WVRQAPGKGLEWVAR <u>I</u> <u>RSKYNNYATYYADSVKDR</u> FTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAV YYCVR <u>HGNFGNEYISYWAY</u> WGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:64)
CD3-scFv4L (VL _{CD3} -đoạn nối-VH _{CD3})	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC <u>GSSTGAVTSGNYPN</u> WVQQKPGQ APRGLIGG <u>TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT</u> LSGVQPEDEAEYY C <u>VLWYSNRWVF</u> GGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESG

	GGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN <u>KYAMN</u> WVRQAPGKGLEWVARI RSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAV YYCVRHGNFGNSYISYWDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:65)
CD3-scFv5L (VL _{CD3} -đoạn nối-VH _{CD3})	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQQKPGQ APRGLIGG <u>TKFLAP</u> GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN <u>KYAMS</u> WVRQAPGKGLEWVARI RSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAV YYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:66)
CD3-scFv6L (VL _{CD3} -đoạn nối-VH _{CD3})	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQQKPGQ APRGLIGG <u>TKFLAP</u> GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN <u>KYAMN</u> WVRQAPGKGLEWVARI RNKYNNYATEYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAV YYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:67)
CD3-scFv7L (VL _{CD3} -đoạn nối-VH _{CD3})	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQQKPGQ APRGLIGG <u>TKFLAP</u> GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESG GGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN <u>KYAMN</u> WVRQAPGKGLEWVARI RSKYNNYATEYAASVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAV YYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:68)

Xây dựng và điều chế các kháng thể đặc hiệu kép

Kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 và các kháng thể đặc hiệu kép hóa trị một B7H3

Trong một số phương án của sáng chế, cấu trúc của kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 được thể hiện trong Fig. 1A, trong đó đầu tận cùng C của kháng thể có thể được hoặc không được đánh dấu bằng đuôi His. Hai khu vực gắn kết kháng nguyên B7H3 và một khu vực gắn kết kháng nguyên CD3 được tạo cấu hình trong cấu trúc bất đối xứng được thiết kế gồm hai chuỗi chứa Fc, trong đó mỗi khu vực gắn kết kháng nguyên B7H3 là trên mỗi chuỗi tương ứng trong số hai chuỗi này, và tất cả khu vực gắn kết kháng nguyên là ở dạng scFv. Vùng Fc có thể tạo ra kháng thể duy trì thời gian bán hủy bình thường và độ ổn định thích hợp. Thiết kế hai chuỗi này giảm đáng kể khả năng bắt cặp sai và cải thiện độ đồng nhất của mẫu này và hiệu suất của kháng

thể đích. Cấu trúc phân tử cụ thể (Dạng) của các kháng thể đặc hiệu kép được thể hiện trong Bảng 6 dưới đây. Ngoài ra, cấu trúc phân tử của các kháng thể đặc hiệu kép hóa trị một B7H3 được sử dụng trong một số phương án của sáng chế có minh khu vực Fc trong chuỗi polypeptit thứ hai, không có khu vực gắn kết kháng nguyên bất kỳ, cấu trúc này được thể hiện trong Fig. 1B.

Bảng 6 Đại diện cấu trúc của các kháng thể đặc hiệu kép

Tên cấu trúc phân tử	Trật tự sắp xếp của chuỗi polypeptit thứ nhất	Trật tự sắp xếp của chuỗi polypeptit thứ hai
AFF1	VH _{B7H3} -L1-VL _{B7H3} -L2-VH _{CD3} -L3-VL _{CD3} -L4-Fc1	VL _{B7H3} -L5-VH _{B7H3} -L6-Fc2
AFF2	VH _{B7H3} -L1-VL _{B7H3} -L2-VL _{CD3} -L3-VH _{CD3} -L4-Fc1	VL _{B7H3} -L5-VH _{B7H3} -L6-Fc2
AFF3	VL _{B7H3} -L1-VH _{B7H3} -L2-VH _{CD3} -L3-VL _{CD3} -L4-Fc1	VL _{B7H3} -L5-VH _{B7H3} -L6-Fc2
AFF4	VL _{B7H3} -L1-VH _{B7H3} -L2-VL _{CD3} -L3-VH _{CD3} -L4-Fc1	VL _{B7H3} -L5-VH _{B7H3} -L6-Fc2
AFF5	VH _{CD3} -L1-VL _{CD3} -L2-VH _{B7H3} -L3-VL _{B7H3} -L4-Fc1	VL _{B7H3} -L5-VH _{B7H3} -L6-Fc2
AFF6	VH _{CD3} -L1-VL _{CD3} -L2-VL _{B7H3} -L3-VH _{B7H3} -L4-Fc1	VL _{B7H3} -L5-VH _{B7H3} -L6-Fc2
AFF7	VL _{CD3} -L1-VH _{CD3} -L2-VH _{B7H3} -L3-VL _{B7H3} -L4-Fc1	VL _{B7H3} -L5-VH _{B7H3} -L6-Fc2
AFF8	VL _{CD3} -L1-VH _{CD3} -L2-VL _{B7H3} -L3-VH _{B7H3} -L4-Fc1	VL _{B7H3} -L5-VH _{B7H3} -L6-Fc2
AFF1-B	VH _{B7H3} -L1-VL _{B7H3} -L2-VH _{CD3} -L3-VL _{CD3} -L4-Fc1	VH _{B7H3} -L5-VL _{B7H3} -L6-Fc2
AFF2-B	VH _{B7H3} -L1-VL _{B7H3} -L2-VL _{CD3} -L3-VH _{CD3} -L4-Fc1	VH _{B7H3} -L5-VL _{B7H3} -L6-Fc2
AFF3-B	VL _{B7H3} -L1-VH _{B7H3} -L2-VH _{CD3} -L3-VL _{CD3} -L4-Fc1	VH _{B7H3} -L5-VL _{B7H3} -L6-Fc2
AFF4-B	VL _{B7H3} -L1-VH _{B7H3} -L2-VL _{CD3} -L3-VH _{CD3} -L4-Fc1	VH _{B7H3} -L5-VL _{B7H3} -L6-Fc2
AFF5-B	VH _{CD3} -L1-VL _{CD3} -L2-VH _{B7H3} -L3-VL _{B7H3} -L4-Fc1	VH _{B7H3} -L5-VL _{B7H3} -L6-Fc2
AFF6-B	VH _{CD3} -L1-VL _{CD3} -L2-VL _{B7H3} -L3-VH _{B7H3} -L4-Fc1	VH _{B7H3} -L5-VL _{B7H3} -L6-Fc2
AFF7-B	VL _{CD3} -L1-VH _{CD3} -L2-VH _{B7H3} -L3-VL _{B7H3} -L4-Fc1	VH _{B7H3} -L5-VL _{B7H3} -L6-Fc2
AFF8-B	VL _{CD3} -L1-VH _{CD3} -L2-VL _{B7H3} -L3-VH _{B7H3} -L4-Fc1	VH _{B7H3} -L5-VL _{B7H3} -L6-Fc2
AF1	VH _{B7H3} -L1-VL _{B7H3} -L2-VH _{CD3} -L3-VL _{CD3} -L4-Fc1	Fc2
AF2	VH _{B7H3} -L1-VL _{B7H3} -L2-VL _{CD3} -L3-VH _{CD3} -L4-Fc1	Fc2
AF3	VL _{B7H3} -L1-VH _{B7H3} -L2-VH _{CD3} -L3-VL _{CD3} -L4-Fc1	Fc2
AF4	VL _{B7H3} -L1-VH _{B7H3} -L2-VL _{CD3} -L3-VH _{CD3} -L4-Fc1	Fc2
AF5	VH _{CD3} -L1-VL _{CD3} -L2-VH _{B7H3} -L3-VL _{B7H3} -L4-Fc1	Fc2
AF6	VH _{CD3} -L1-VL _{CD3} -L2-VL _{B7H3} -L3-VH _{B7H3} -L4-Fc1	Fc2
AF7	VL _{CD3} -L1-VH _{CD3} -L2-VH _{B7H3} -L3-VL _{B7H3} -L4-Fc1	Fc2
AF8	VL _{CD3} -L1-VH _{CD3} -L2-VL _{B7H3} -L3-VH _{B7H3} -L4-Fc1	Fc2

Lưu ý: Trong bảng này, đầu tận cùng carboxyl của chuỗi polypeptit thứ nhất hoặc thứ hai có thể được hoặc không được đánh dấu bằng đuôi His. L1, L2, L3, L4, L5, và L6 là các đoạn nối để nối mỗi khu vực gắn kết kháng nguyên và vùng Fc.

Bảng 7 Chọn lọc trình tự đoạn nối

Đoạn nối	Cấu trúc hoặc trình tự
L1	(GGGGS) _n hoặc (GGGGS) _n GGG
L2	(GGGGS) _n
L3	(GGGGS) _n
L4	GGGDKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 98)
L5	(GGGGS) _n
L6	GGGDKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 98)

Trong đó n được chọn từ 1, 2, 3 hoặc 4; ưu tiên là, n trong L1 là 2 hoặc 3, ưu tiên hơn 3; n trong L2 là 1 hoặc 2, ưu tiên hơn 1; n trong L3 hoặc L5 là 3. Tùy ý, đoạn nối này được sử dụng để nối khu vực gắn kết kháng nguyên và vùng Fc có thể được chọn từ đoạn nối khác bất kỳ mà có thể được sử dụng để nối các khu vực chức năng của kháng thể, và không bị giới hạn đến các đoạn nối được xác định bằng các trình tự trên.

Fc1 và Fc2 được nêu trong bảng 6 trên có thể là Fc với trình tự giống, hoặc có thể tương ứng là u-Fc và lổ-Fc, hoặc tương ứng là lổ-Fc và u-Fc. Trong một số phương án của sáng chế, các trình tự của u-Fc và lổ-Fc ưu tiên là như được thể hiện trong Bảng 8:

Bảng 8 Danh mục trình tự của các Fc khác nhau

Tên	SEQ ID NO	Trình tự
u-Fc	69	APEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
lổ-Fc	70	APEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Đối với các vùng biến đổi chuỗi nặng và nhẹ nêu trên, các kháng thể chuỗi đơn, và các kháng thể đặc hiệu kép, các ADN mã hóa các polypeptit nêu trên hoặc các mảnh gắn

kết kháng nguyên có thể được xây dựng dựa trên các cADN mã hóa VH và/hoặc VL và các khu vực cần thiết khác, và các ADN được cài vào trong (các) vector biểu hiện tiền nhân hoặc (các) vector biểu hiện nhân chuẩn, và sau đó (các) vector biểu hiện được đưa vào trong sinh vật tiền nhân hoặc nhân chuẩn để biểu hiện polypeptit này hoặc các mảnh gắn kết kháng nguyên.

Ví dụ 1. Điều chế các phân tử kháng thể đặc hiệu kép, các phân tử đối chứng dương tính và các phân tử đối chứng âm tính

Theo phương pháp thiết kế phân tử kháng thể đặc hiệu kép của sáng chế, các phân tử kháng thể đặc hiệu kép đặc hiệu được thiết kế và điều chế. Các trình tự axit amin điển hình của các phân tử này được thể hiện trong Bảng 9 dưới đây:

Bảng 9 Danh mục trình tự của các kháng thể đặc hiệu kép

Tên kháng thể (tên cấu trúc)	Chuỗi polypeptit thứ nhất (SEQ ID NO)	Chuỗi polypeptit thứ hai (SEQ ID NO)
113 (AFF3-2)	<u>QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPS</u> <u>WYQQTPGQAPRMLIYNTNTRSSGVPDRFSGSILGN</u> <u>KAALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVFGGGT</u> <u>KLTVLGGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVVQ</u> <u>PGTSLRLSCAASGFIFSSAMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVISYDGSNKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ</u> <u>MNSLRAEDTAVYYCARSARLYASFDYWGQALVT</u> <u>VSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF</u> <u>TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT</u> <u>YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDA</u> <u>VYYCVRHGNFGNPNYISYWAYWGQGLTVTVSSGG</u> <u>GGSGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTC</u> <u>GSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFL</u> <u>APGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCV</u> <u>LWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPCPAPE</u> <u>AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED</u> <u>PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL</u> <u>TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP</u> <u>REPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE</u> <u>WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR</u> <u>WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHHH</u> <u>HH</u> (SEQ ID NO: 72)	<u>QTVVTQEPSFS</u> <u>VSPGGTVTLTC</u> <u>GLSSGSVSTSH</u> <u>YPSWYQQTPG</u> <u>QAPRMLIYNT</u> <u>NTRSSGVPDRF</u> <u>SGSILGNKAAL</u> <u>TITGAQADDES</u> <u>DYYCAIHVDR</u> <u>DIWVFGGGTK</u> <u>LTVLGGGGSG</u> <u>GGSGGGGSQ</u> <u>VQLVQSGGGV</u> <u>VQPGTSLRLSC</u> <u>AASGFIFSSA</u> <u>MHWVRQAPG</u> <u>KGLEWVAVIS</u> <u>YDGSNKYYVD</u> <u>SVKGRFTISR</u> <u>NSKNTLYLQM</u> <u>NSLRAEDTAV</u> <u>YYCARSARLY</u> <u>ASFDYWGQG</u>

118 (AFF6-3)	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK</u> <u>DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRH</u> <u>GNFGNEYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGS</u> <u>GGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVT</u> <u>SGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARF</u> <u>SGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW</u> <u>VFGGGTKLTVLGGGGSQTVVTQEPSFSVSPGGTVT</u> <u>LTCGLSSGSVSTSHYPSWYQQTPGQAPRMLIYNTN</u> <u>TRSSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDESYY</u> <u>CAIHVDRDIWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGG</u> <u>GSQVQLVQSGGGVVPQGTSLRLSAAAGSFIFSSA</u> <u>MHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYVDSVKG</u> <u>RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSAR</u> <u>LYASFDYWGGQALVTVSSGGGDKTHTCPPCPAPE</u> <u>AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED</u> <u>PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL</u> <u>TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP</u> <u>REPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE</u> <u>WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR</u> <u>WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKH</u> <u>HH</u> (SEQ ID NO: 73)	<u>ALVTVSSGGG</u> <u>DKTHTCPPCPA</u> <u>PEAAGGPSVFL</u> <u>FPPKPKDTLMI</u> <u>SRTPEVTCVWV</u> <u>DVSHEDPEVKF</u> <u>NWYVDGVEVH</u> <u>NAKTKPREEQY</u> <u>NSTYRVVSVLTV</u> <u>LHQDWLNGKE</u> <u>YKCKVSNKALP</u> <u>APIEKTISKAKG</u> <u>QPREPQVCTLP</u> <u>PSREEMTKNQV</u> <u>SLSCAVKGFYPS</u> <u>DIAVEWESNGQ</u> <u>PENNYKTTPPV</u> <u>LDSDGSFFLV</u> <u>KLTVDKSRWQ</u> <u>QGNVFSCSVM</u> <u>HEALHNHYTQ</u> <u>KSLSLSPGK</u>
119(AFF6-3 L1D(GS))	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK</u> <u>DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRH</u> <u>GNFGNEYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGS</u> <u>GGGQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSG</u> <u>NYPNWWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG</u> <u>SLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVF</u> <u>GGGTKLTVLGGGGSQTVVTQEPSFSVSPGGTVTLT</u> <u>CGLSSGSVSTSHYPSWYQQTPGQAPRMLIYNTNT</u> <u>RSSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDESYYC</u> <u>AIHVDRDIWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGG</u> <u>GSQVQLVQSGGGVVPQGTSLRLSAAAGSFIFSSA</u> <u>MHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYVDSVKG</u> <u>RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSAR</u> <u>LYASFDYWGGQALVTVSSGGGDKTHTCPPCPAPE</u> <u>AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED</u> <u>PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL</u>	(SEQ ID NO: 71)

	<u>TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP</u> <u>REPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE</u> <u>WESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR</u> <u>WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHHH</u> <u>HH</u> (SEQ ID NO: 74)
126 (AFF6-2)	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVK</u> <u>DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRH</u> <u>GNFGNPYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGS</u> <u>GGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVT</u> <u>SGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARF</u> <u>SGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW</u> <u>VFGGGTKLTVLGGGGSQTVVTQEPSFSVSPGGTVT</u> <u>LTCGLSSGSVSTSHYPSWYQQTPGQAPRMLIYNTN</u> <u>TRSSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDESYY</u> <u>CAIHVDRDIWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGG</u> <u>GSQVQLVQSGGGVVPQGTSLRLSCAASGFIFSSA</u> <u>MHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKKYYVDSVK</u> <u>RFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARSAR</u> <u>LYASFDYWGQALVTVSSGGGDKTHTCPPCPAPE</u> <u>AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED</u> <u>PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL</u> <u>TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP</u> <u>REPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE</u> <u>WESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR</u> <u>WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHHH</u> <u>HH</u> (SEQ ID NO: 75)
127 (AFF3-3)	<u>QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPS</u> <u>WYQQTPGQAPRMLIYNTNTRSSGVPDRFSGSILGN</u> <u>KAALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVFGGGT</u> <u>KLTVLGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVQ</u> <u>PGTSLRLSCAASGFIFSSSAMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVISYDGSNKKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ</u> <u>MNSLRAEDTAVYYCARSARLYASFDYWGQALVT</u> <u>VSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF</u> <u>TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT</u> <u>YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA</u> <u>VYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGLTVTVSSGG</u>

	<u>GGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC</u> <u>GSSTGAVTSGNYPNWVQOKPGQAPRGLIGGTKFL</u> <u>APGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCV</u> <u>LWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPCPAPE</u> <u>AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED</u> <u>PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL</u> <u>TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP</u> <u>REPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE</u> <u>WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR</u> <u>WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHHH</u> <u>HH</u> (SEQ ID NO: 76)
128(AFF3-2 (L2) ₂)	<u>QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPS</u> <u>WYQQTPGQAPRMLIYNTNTRSSGVPDFRSGSILGN</u> <u>KAALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVFGGGT</u> <u>KLTVLGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVVQ</u> <u>PGTSLRLSCAASGFIFSSSAMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVISYDGSNKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ</u> <u>MNSLRAEDTAVYYCARSARLYASFDYWGQALVT</u> <u>VSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS</u> <u>CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSK</u> <u>YNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNL</u> <u>KTEDTAVYYCVRHGNFGNPYISYWAYWGQGLVT</u> <u>VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGG</u> <u>TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQOKPGQAPRGLI</u> <u>GGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDE</u> <u>AEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTHTC</u> <u>PPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV</u> <u>VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST</u> <u>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS</u> <u>KAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFY</u> <u>PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL</u> <u>TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> <u>KHHHHHHH</u> (SEQ ID NO: 77)
132 (AFF3-3SS)	<u>QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPS</u> <u>WYQQTPGQAPRMLIYNTNTRSSGVPDFRSGSILGN</u> <u>KAALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVFGCGT</u> <u>KLTVLGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVVQ</u> <u>PGTSLRLSCAASGFIFSSSAMHWVRQAPGKCLEW</u>

	<u>VAVISYDGSNKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLO</u> <u>MNSLRAEDTAVYYCARSARLYASFDYWGQ GALVT</u> <u>VSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF</u> <u>TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT</u> <u>YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTA</u> <u>VYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGLTVTVSSGG</u> <u>GGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC</u> <u>GSSTGAVTSGNYPNWVQOKPGQAPRGLIGGTKFL</u> <u>APGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCV</u> <u>LWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTHTC PPCPAPE</u> <u>AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED</u> <u>PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL</u> <u>TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP</u> <u>REPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE</u> <u>WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR</u> <u>WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHHH</u> <u>HH</u> (SEQ ID NO: 78)	
131 (AFF3-1)	<u>QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPS</u> <u>WYQQTPGQAPRMLIYNTNTRSSGVPDRFSGSILGN</u> <u>KAALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVFGGGT</u> <u>KLTVLGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVVQ</u> <u>PGTSLRLSCAASGFIFSSSAMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVISYDGSNKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLO</u> <u>MNSLRAEDTAVYYCARSARLYASFDYWGQ GALVT</u> <u>VSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF</u> <u>TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKANNYAT</u> <u>YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTA</u> <u>VYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGG</u> <u>GGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC</u> <u>GSSTGAVTSGNYPNWVQOKPGQAPRGLIGGTKFL</u> <u>APGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCV</u> <u>LWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTHTC PPCPAPE</u> <u>AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED</u> <u>PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL</u> <u>TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP</u> <u>REPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE</u> <u>WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR</u> <u>WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHHH</u> <u>HH</u>	

	(SEQ ID NO: 79)	
154 (AFF3-4)	<u>QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPS</u> <u>WYQQTPGQAPRMLIYNTNTRSSGVPDRFSGSILGN</u> <u>KAALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVFGGGT</u> <u>KLTVLGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVVQ</u> <u>PGTSLRLSCAASGFIFSSSAMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVISYDGSNKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ</u> <u>MNSLRAEDTAVYYCARSARLYASFDYWGQ GALVT</u> <u>VSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF</u> <u>TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT</u> <u>YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA</u> <u>VYYCVRHGNFGNSYISYWDYWGQGLTVTVSSGG</u> <u>GGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC</u> <u>GSSTGAVTSGNYPNWVQOKPGQAPRGLIGGTKFL</u> <u>APGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCV</u> <u>LWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPCPAPE</u> <u>AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED</u> <u>PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL</u> <u>TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP</u> <u>REPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE</u> <u>WESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR</u> <u>WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHHH</u> <u>HH</u> (SEQ ID NO: 80)	
156 (AFF3-6)	<u>QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPS</u> <u>WYQQTPGQAPRMLIYNTNTRSSGVPDRFSGSILGN</u> <u>KAALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVFGGGT</u> <u>KLTVLGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVVQ</u> <u>PGTSLRLSCAASGFIFSSSAMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVISYDGSNKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ</u> <u>MNSLRAEDTAVYYCARSARLYASFDYWGQ GALVT</u> <u>VSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF</u> <u>TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRNKYNNYAT</u> <u>EYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA</u> <u>VYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGG</u> <u>GGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC</u> <u>GSSTGAVTSGNYPNWVQOKPGQAPRGLIGGTKFL</u> <u>APGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCV</u> <u>LWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPCPAPE</u> <u>AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED</u>	

	PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHHH HH (SEQ ID NO: 81)
155 (AFF3-5)	QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPS WYQQTPGQAPRMLIYNTNTRSSGVPDRFSGSILGN KAALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVFGGGT KLTVLGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVVQ PGTSLRLSCAASGFIFSSSAMHWVRQAPGKGLEW VAVISYDGSNKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARSARLYASF DYWGQ GALVT VSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMSWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA VYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC GSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFL APGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCV LWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHHH HH (SEQ ID NO: 82)
177 (AFF3-7)	QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPS WYQQTPGQAPRMLIYNTNTRSSGVPDRFSGSILGN KAALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVFGGGT KLTVLGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVVQ PGTSLRLSCAASGFIFSSSAMHWVRQAPGKGLEW VAVISYDGSNKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARSARLYASF DYWGQ GALVT VSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT EYAASVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA

	<u>VYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGG</u> <u>GGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC</u> <u>GSSTGAVTSGNYPNWVQOKPGQAPRGLIGGTKFL</u> <u>APGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCV</u> <u>LWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPCPAPE</u> <u>AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED</u> <u>PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL</u> <u>TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP</u> <u>REPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE</u> <u>WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR</u> <u>WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHHH</u> <u>HH</u> (SEQ ID NO: 83)
172 (AFF2-3)	<u>QVQLVQSGGGVVPQGTSLRLSCAASGFIFSSSAMH</u> <u>WVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYVDSVKGRF</u> <u>TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSARLY</u> <u>ASFDYWGQALVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTV</u> <u>VVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPSW</u> <u>YQQTPGQAPRMLIYNTNTRSSGVPDRFSGSILGNK</u> <u>AALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVFGGGTK</u> <u>LTVLGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSST</u> <u>GAVTSGNYPNWVQOKPGQAPRGLIGGTKFLAPGT</u> <u>PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY</u> <u>SNRWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQ</u> <u>LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWV</u> <u>RQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFT</u> <u>ISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFG</u> <u>NEYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGDKTHTCPPCPA</u> <u>PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH</u> <u>EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS</u> <u>VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG</u> <u>QPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA</u> <u>VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS</u> <u>RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHH</u> <u>HHH</u> (SEQ ID NO: 84)
171 (AFF1-3)	<u>QVQLVQSGGGVVPQGTSLRLSCAASGFIFSSSAMH</u> <u>WVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYVDSVKGRF</u> <u>TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSARLY</u> <u>ASFDYWGQALVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTV</u>

	<u>VVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPSW</u> <u>YQOTPGQAPRMLIYNTNTRSSGVPDRFSGSILGNK</u> <u>AALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVFGGGTK</u> <u>LTVLGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS</u> <u>GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNY</u> <u>ATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTED</u> <u>TAVYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGLTVTVSSG</u> <u>GGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTL</u> <u>TCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK</u> <u>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY</u> <u>CVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPCPA</u> <u>PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH</u> <u>EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS</u> <u>VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG</u> <u>QPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA</u> <u>VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS</u> <u>RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHH</u> <u>HHH</u> (SEQ ID NO: 85)
161 (AFF1-2)	<u>QVQLVQSGGGVVPQGTSLRLSCAASGFIFSSSAMH</u> <u>WVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYVDSVKGRF</u> <u>TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSARLY</u> <u>ASFDYWGGALVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQT</u> <u>VVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPSW</u> <u>YQOTPGQAPRMLIYNTNTRSSGVPDRFSGSILGNK</u> <u>AALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVFGGGTK</u> <u>LTVLGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS</u> <u>GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNY</u> <u>ATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTED</u> <u>TAVYYCVRHGNFGNPNYISYWAYWGQGLTVTVSSG</u> <u>GGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTL</u> <u>TCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTK</u> <u>FLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY</u> <u>CVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPCPA</u> <u>PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH</u> <u>EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS</u> <u>VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG</u> <u>QPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA</u> <u>VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS</u> <u>RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHH</u>

	<u>HHH</u> (SEQ ID NO: 86)	
162 (AFF2-2)	<u>QVQLVQSGGGVVP</u> <u>PGTSLRLSCAASG</u> <u>FIFSSSAMH</u> <u>WVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYVDSVKGRF</u> <u>TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSARLY</u> <u>ASFDYWGQALVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQT</u> <u>VVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPSW</u> <u>YQQTTPGQAPRMLIYNTNTRSSGVPDRFSGSILGNK</u> <u>AALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVFGGGTK</u> <u>LTVLGGGGSGQT</u> <u>VVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSST</u> <u>GAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGT</u> <u>PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY</u> <u>SNRWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQ</u> <u>LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWW</u> <u>RQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFT</u> <u>ISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFG</u> <u>NPYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGDKTHTCPPCPA</u> <u>PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH</u> <u>EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS</u> <u>VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG</u> <u>QPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA</u> <u>VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS</u> <u>RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHH</u> <u>HHH</u> (SEQ ID NO: 87)	
142 (AFF3-3B)	<u>QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPS</u> <u>WYQQTTPGQAPRMLIYNTNTRSSGVPDRFSGSILGN</u> <u>KAALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVFGGGT</u> <u>KLTVLGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVVO</u> <u>PGTSLRLSCAASGFISSSAMHWRQAPGKGLEW</u> <u>VAVISYDGSNKYYVDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ</u> <u>MNSLRAEDTAVYYCARSARLYASFDYWGQALVT</u> <u>VSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF</u> <u>TFNKYAMNWWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT</u> <u>YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA</u> <u>VYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGLTVTVSSGG</u> <u>GGSGGGGSGGGGSQT</u> <u>VVTQEPSLTVSPGGTVTLTC</u> <u>GSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFL</u> <u>APGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCV</u> <u>LWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPCPAPE</u>	<u>QVQLVQSGGG</u> <u>VVQPGTSLRLS</u> <u>CAASGFISSS</u> <u>AMHWVRQAP</u> <u>GKGLEWVAVI</u> <u>SYDGSNKYYV</u> <u>DSVKGRFTISR</u> <u>DNSKNTLYLQ</u> <u>MNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARSARL</u> <u>YASFDYWGQG</u> <u>ALTVSSGGG</u> <u>GSGGGGSGGG</u> <u>GSQTVVTQEP</u> <u>SFSVSPGGTVT</u>

	<u>AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED</u> <u>PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL</u> <u>TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP</u> <u>REPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE</u> <u>WESNGQOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR</u> <u>WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHHH</u> <u>HH</u> (SEQ ID NO: 76)	<u>LTCGLSSGSVS</u> <u>TSHYPSWYQQ</u> <u>TPGQAPRMLI</u> <u>YNTNTRSSGV</u> <u>PDRFSGSILGN</u> <u>KAALTITGAQ</u> <u>ADDESYYCA</u> <u>IHVDRDIWVF</u> <u>GGGTKLTVLG</u> <u>GGDKTHTCPP</u> <u>CPAPEAAGGPS</u> <u>VFLFPPKPKDT</u> <u>LMISRTPEVTCV</u> <u>VVDVSHEDPEV</u> <u>KFNWYVDGVE</u> <u>VHNAKTKPREE</u> <u>QYNSTYRVVSVL</u> <u>TVLHQDWLNG</u> <u>KEYKCKVSNKA</u> <u>LPAPIEKTISKA</u> <u>KGQPREPQVC</u> <u>TLPPSREEMTK</u> <u>NQVSLSCAVKG</u> <u>FYPSDIAVEWES</u> <u>NGQOPENNYKTT</u> <u>PPVLDSDGSFF</u> <u>LVSKLTVDKSR</u> <u>WQQGNVFSCS</u> <u>VMHEALHNHY</u> <u>TQKSLSLSPGK</u> (SEQ ID NO:88)
143 (AFF3-2B)	<u>QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPS</u> <u>WYQQTPGQAPRMLIYNTNTRSSGV PDRFSGSILGN</u> <u>KAALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVFGGGT</u> <u>KLTVLGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVVQ</u> <u>PGTSLRLSCAASGFISSAMHWVRQAPGKGLEW</u> <u>VAVISYDGSNKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ</u> <u>MNSLRAEDTAVYYCARSARLYASF DYWGQALVT</u> <u>VSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF</u> <u>TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT</u> <u>YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTA</u> <u>VYYCVRHGNFGNPNYISYWAYWGQGLTVTVSSGG</u> <u>GGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC</u> <u>GSSTGAVTSGNYPNWVQOKPGQAPRGLIGGTKFL</u> <u>APGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCV</u> <u>LWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPCPAPE</u> <u>AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED</u> <u>PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL</u> <u>TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP</u> <u>REPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVE</u> <u>WESNGQOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR</u> <u>WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHHH</u> <u>HH</u> (SEQ ID NO: 72)	(SEQ ID NO: 70)
181 (AF3-1)	SEQ ID NO: 79	
182 (AF3-2)	SEQ ID NO: 72	
183 (AF3-3)	SEQ ID NO: 76	
184 (AF3-4)	SEQ ID NO: 80	
185 (AF3-5)	SEQ ID NO: 82	
186 (AF3-6)	SEQ ID NO: 81	
187 (AF3-7)	SEQ ID NO: 83	

Lưu ý: Chuỗi polypeptit thứ hai của các phân tử kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai

B7H3 113, 118, 119, 126, 127, 128, 131, 132, 154, 155, 156, 161, 162, 171, 172 và 177 nêu trong bảng trên là VL_{B7H3}-L5-VH_{B7H3}-L6-lở-Fc, như được thể hiện trong trình tự nêu trong SEQ ID NO: 71; và chuỗi polypeptit thứ hai của phân tử kháng thể đặc hiệu kép hóa trị một B7H3 181-187 là lở-Fc, như được thể hiện trong trình tự nêu trong SEQ ID NO: 70.

Các trình tự axit amin của các kháng thể đặc hiệu kép đối chứng âm tính (NC1, NC2, NC3) và đối chứng dương tính (MGD009) được sử dụng trong sáng chế này là như sau:

NC1: Khu vực gắn kết B7H3 được thay bằng kháng thể không liên quan (kháng thể kháng fluorescein, kháng fluorescein), nhưng được giữ lại khu vực gắn kết CD3. Tài liệu tham chiếu cho trình tự axit amin của nó là: Kháng thể kháng fluorescein được sử dụng để tạo thành diabody DART đối chứng là kháng thể 4-4-20(Gruber. *M.et al.*(1994)).

Chuỗi 1 (VH_{CD3}-VL_{CD3}-VL_{ctrl}-VH_{ctrl}-u-Fc)

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYN
 NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNEYISYW
 AYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAV
 TSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEA
 EYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQDI
 ANYLSWYQQKPGKSPKLLIYGTSNLEVGVPFSRSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
 LQDKEFPRTFGGGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA
 ASGFTFSHYMAWVRQAPGKGLEWVTISYEGDITYYGDSVKGRFTISRDN SKNTLY
 LQMNSLRAEDTATYYCASQTLRESFDYWGGQTLVTVSSGGGDKTHTCPPCPAPEAA
 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
 REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
 YTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF
 LYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHHHHH

SEQ ID NO: 89

Chuỗi 2 (VL_{ctrl}-VH_{ctrl}-lở-Fc)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQDIANYLSWYQQKPGKSPKLLIYGTSNLEVG
 PSRFSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQDKEFPRTFGGGTKVEIKGGGGSGGGG
 SGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYMAWVRQAPGKGLEWVTIS
 SYEGDITYYGDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCASQTLRESFDYW
 GGQTLVTVSSGGGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
 VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK

CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 90

NC2: Khu vực gắn kết B7H3 được giữ lại, chỉ khu vực gắn kết CD3 được thay bằng kháng thể không liên quan, kháng fluorescein.

Chuỗi 1 (VH_{ctrl}-VL_{ctrl}-VL_{B7H3}-VH_{B7H3}-u-Fc)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYMAWVRQAPGKGLEWVTSISYEGDI
TYYGDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCASQTLRESFDYWGQGTL
VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQDIANYLSWYQ
QKPGKSPKLLIYGTSNLEVGVPSPRFSRSGTDFLTITSLQPEDFATYYCLQDKEFPRT
FGGGTKVEIKGGGGSQTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPSWYQQTPG
QAPRMLIYNTNTRSSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVF
GGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVVPQTSLRLSCAASGFIFSSSA
MHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYVDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA
EDTAVYYCARSARLYASFDYWGQALVTVSSGGGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRE
EMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHHHHH

SEQ ID NO: 91

Chuỗi 2

QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPSWYQQTPGQAPRMLIYNTNTRSS
GVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVFGGGTKLTVLGGGGS
GGGGSGGGGSQVQLVQSGGGVVPQTSLRLSCAASGFIFSSSAMHWVRQAPGKGLE
WVAVISYDGSNKYYVDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSARLY
ASFDYWGQALVTVSSGGGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT
CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

SEQ ID NO: 92

Lưu ý: Trật tự sắp xếp là VL_{B7H3}-đoạn nối-VH_{B7H3}-đoạn nối-Fc. Các trình tự được gạch chân là các trình tự kháng thể B7H3, và phần in nghiêng là trình tự lỗ-Fc.

NC3

Chuỗi 1 (VL_{ctrl}-VH_{ctrl}-VH_{CD3}-VL_{CD3}-u-Fc-đuôi His)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQDIANYLSWYQQKPGKSPKLLIYGTSNLEVG
 PSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQDKEFPRTFGGGTKVEIKGGGGSGGGGS
 GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYMAWVRQAPGKGLEWVTSI
 SYEGDITYYGDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCASQTLRESFDYW
 GQGT LVT VSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAP
 GKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY
 CVRHGNFGN~~E~~YISYWAYWGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVS
 PGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLG
 GKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLG GGD KTHTCPPCPAPEA
 AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
 VYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF
 FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKHHHHHH

SEQ ID NO: 93

Chuỗi 2 (VL_{ctrl} -VH_{ctrl} -l^h-Fc)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQDIANYLSWYQQKPGKSPKLLIYGTSNLEVG
 PSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQDKEFPRTFGGGTKVEIKGGGGSGGGGS
 GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYMAWVRQAPGKGLEWVTSI
 SYEGDITYYGDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCASQTLRESFDYW
 GQGT LVT VSSGGGD KTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
 VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAV
 EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
 YTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 94

Đôi chứng âm tính MGD009 chứa ba chuỗi, và điều chế và trình tự axit amin có thể được tìm thấy trong đơn sáng chế WO2017030926A1. Các trình tự axit amin của nó là như sau:

Chuỗi 1 (B7H3VL-CD3VH-Fc)

DIQLTQSPSFLSASVGDRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASYRYSGV
 PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNYPFTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGE
 VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNN
 YATYYADSVKDRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAY
 WGQGT LVT VSSGGCGGGEVAALEKEVAALEKEVAALEKEVAALEKGGGD KTHTCPP
 CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
 NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG
 QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV

DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 95

Chuỗi 2 (CD3VL-B7H3VH)

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRA
PWT PARFSGSLLGGKAALTITGAQAEDADYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGGGG
SGGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMHWVRQAPGKGLEWVAYI
SSDSSAIYYADTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCGRGRENIIYYGSRL
DYWGQGTTTVTVSSGGCGGGKVAALKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE

SEQ ID NO: 96

Chuỗi 3 (Fc)

DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPVLDS DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNRYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 97

201 (DART-Fc Cấu trúc ba chuỗi) 201 chuỗi 1 (B7H3VL-CD3VH-E-Fc)

QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPSWYQQTPGQAPRMLIYNTNTRSS
GVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDES DYCAIHVDRDIWVFGGGTKLTVLGGGSG
GGGEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRS
KYN NYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNEYI
SYWAYWGQGT LTVTVSSGGCGGGGEVAALEKEVAALEKEVAALEKEVAALEKGGGDK
THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGKHHHHHH

SEQ ID NO: 99

201 chuỗi 2 (CD3VL-B7H3VH-K)

QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGT KFL
APGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGG
GGSGGGGQVQLVQSGGGVVPQTSLRLSCAASGFIFSSAMHWVRQAPGKGLEW
VAVISYDGSNKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSARLY
ASFDYWGQ GALTVTVSSGGCGGGKVAALKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE

SEQ ID NO: 100

201 Chuỗi 3

DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTTPVLDS DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNRYTQKSL
SLSPGK

SEQ ID NO: 97

202 (Cấu trúc bốn chuỗi, trong đó tỷ lệ khối lượng của bốn chuỗi này là Chuỗi 1: Chuỗi 2: Chuỗi 3: Chuỗi 4=1:2:1:1)

202 Chuỗi 1 (B7H3VH-CH1-Fc)

QVQLVQSGGGVVPQGTSLRLSCAASGFIFSSSAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDG
SNKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSARLYASFDYWG
QGALVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK
THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL
SPGKHHHHHH

SEQ ID NO: 101

202 Chuỗi 2 (B7H3VL-CL)

QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGLSSGSVSTSHYPSWYQQTPGQAPRMLIYNTNTR
SSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDESYYCAIHVDRDIWVFGGGTKLTVLRT
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 102

202 Chuỗi 3 (B7H3 VH-CH1-CD3VH-CL)

QVQLVQSGGGVVPQGTSLRLSCAASGFIFSSSAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDG
SNKYYVDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSARLYASFDYWG
QGALVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDG
GGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGL
EVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR
HGNFGNEYISYWAYWGQGLTVTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN
FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYA
CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSL
CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNV
FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 103

202 Chuỗi 4 (CD3VL-CH1)

QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFL
APGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC

SEQ ID NO: 104.

Ví dụ 2. Biểu hiện và tinh chế các kháng thể đặc hiệu kép CD3-B7H3

Các tế bào HEK293E được chuyển nhiễm plasmid biểu hiện kháng thể đặc hiệu kép (chuỗi 1: chuỗi 2 là 1:1), phần nổi biểu hiện được thu 6 ngày sau đó, và các tạp chất được loại bỏ bằng ly tâm tốc độ cao. Phần nổi được lọc được tinh chế trên cột trệt Ni Sepharose (GE Healthcare). Rửa cột này bằng PBS cho tới khi số đọc A280 rơi xuống đường cơ sở, và sau đó cột này được rửa bằng PBS+10mM imidazol để loại bỏ các protein không tinh khiết liên kết không đặc hiệu, và dịch rửa giải được gom lại. Cuối cùng, protein đích được rửa giải bằng dung dịch PBS chứa 300mM imidazol, và các đỉnh rửa giải được gom lại. Các mẫu rửa giải được cô đặc thích hợp và sau đó được tinh chế tiếp bằng sắc ký gel Superdex200 (GE) cân bằng sơ bộ bằng đệm 550 (10mM axit axetic, pH5,5, 135mM NaCl). Đỉnh đích được thu lại. Mẫu này được cân bằng dựa trên đệm 559 (10mM axit axetic, pH5,5, 9% sucroza) thông qua cột loại muối hoặc ống ly tâm siêu lọc, và được chia theo ước số và bảo quản ở -80°C.

Ví dụ thử nghiệm 1. Ái lực của các kháng thể đặc hiệu kép với B7H3 và CD3 được phát hiện bởi thử nghiệm BIAcore

Ái lực kháng thể được phát hiện với B7H3 và CD3 được thực hiện ở dạng bất giữ kháng thể. BsAb được bất giữ bằng chip cảm biến sinh học CM5 (Cat. # BR-1005-30, GE) hoặc chip cảm biến sinh học Protein A (Cat. # 29127556, GE) được nối với kháng thể IgG kháng người (Cat.#BR-1008-39, Lot. # 10260416, GE), và sau đó mỗi kháng thể chảy qua bề mặt của chip này. Các tín hiệu phản ứng được phát hiện theo thời gian thực bằng thiết bị Biacore T200 để thu được đường cong gắn kết và phân ly. Sau sự phân ly của mỗi chu trình thí nghiệm được hoàn thành, rửa chip này và tái tạo bằng đệm tái tạo Glycine1.5 (Cat# BR100354, GE) hoặc $MgCl_2$ 3M (từ bộ kit bất giữ kháng thể người, Cat. #BR100839, GE). Dữ liệu được điều chỉnh bằng mô hình Langmuir (1:1) sử dụng phần mềm đánh giá GE Biacore T200 phiên bản 3.0, và các giá trị ái lực thu được.

Với trật tự sắp xếp không thay đổi, ái lực của các kháng thể đặc hiệu kép với CD3 có thay đổi nhẹ, khi trình tự của VH kháng thể CD3 thay đổi. Khi các trình tự HRH-6 và HRH-5 được sử dụng, ái lực của kháng thể với CD3 là yếu nhất, và liên kết với CD3 không thể được phát hiện bằng Biacore.

Bảng 10 kết quả thử nghiệm Biacore của ái lực gắn kết kháng nguyên của các kháng thể đặc hiệu kép có cấu trúc AFF3

Kháng thể đặc hiệu kép	VH CD3 liên quan	BIAcore KD(M)
131	HRH-1	4,07E-08
113	HRH-2	7,72E-08
127	HRH-3	9,72E-08
154	HRH-4	6,97E-08
156	HRH-6	Không liên kết
155	HRH-5	Không liên kết
177	HRH-7	1.62E-07

Làm ví dụ, các kháng thể chứa HRH3 là vùng biến đổi chuỗi nặng của khu vực gắn kết kháng nguyên CD3 được chọn cho thử nghiệm này. Trong số các kháng thể được chọn, các kháng thể thử nghiệm 118, 127 và 132 có ái lực với B7H3 người và CD3 người tương ứng ở mức độ 10^{-9} và 10^{-8} M, mà có thể so sánh với mức độ của MGD009. Các kháng thể này tất cả có hoạt tính liên kết chéo mạnh với cả hai B7H3 khi (xyno) và CD3 người.

Bảng 11 các kết quả thử nghiệm Biacore về ái lực gắn kết kháng nguyên của các kháng thể đặc hiệu kép chứa HRH3 được sắp xếp theo các trật tự khác nhau

Kháng thể	Ái lực (M)			
	B7H3 người	B7H3 khi	CD3 người	CD3 khi
MGD009	1,96E-09	2,65E-09	7,81E-08	4,94E-09
118	5,33E-09	7,31E-09	6,61E-08	1,59E-09
127	4,29E-09	5,61E-09	8,47E-08	1,24E-09
132	5,35E-09	6,90E-09	8,53E-08	8,13E-10

Ví dụ thử nghiệm 2. Xác định ái lực liên kết kháng thể ở mức độ tế bào

Khả năng của các kháng thể đặc hiệu kép liên kết với các kháng nguyên bề mặt tế bào được phát hiện bằng phương pháp FACS. A498 (ATCC, HTB-44), CT26/hB7H3 (dòng tế bào tái tổ hợp biểu hiện quá mức B7H3 người trong tế bào chuột CT26, được xây dựng trong phòng thí nghiệm, CT26 thu được từ Cell Bank of Chinese Academy of Sciences, TCM37) và dòng tế bào tái tổ hợp Jurkat (tế bào Jurkat thu được từ ATCC, PTS-TIB-152; dòng tế bào tái tổ hợp thu được trên cơ sở các tế bào Jurkat bằng biểu hiện quá mức gen luxiferaza và cài yếu tố đáp ứng NFAT ở phía đầu 5' của gen này) được sử dụng tách biệt để liên kết với các kháng nguyên B7H3 và CD3 trên bề mặt tế bào.

Đệm FACS (98% PBS, 2% FBS) được bổ sung vào trong đĩa đáy hình chữ U 96-lỗ (corning, 3795) để tạo huyền phù lại tế bào này, các kháng thể được pha loãng liên tiếp được bổ sung, ủ ở 4°C trong 1 giờ, và rửa đĩa này bằng đệm FACS hai lần. Sau đó kháng thể Fc IgG kháng người APC (biolegend, Cat# 409306, pha loãng ở 1:50) được bổ sung vào trong mỗi lỗ, ủ ở 4°C trong 30 phút, rửa hai lần, các tế bào này được tái tạo huyền phù trong đệm FACS, và cuối cùng các giá trị tín hiệu phát huỳnh quang được đọc bằng FACS CantoII (BD).

Các kết quả cho thấy rằng kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 118, 127, và 132 và kháng thể đối chứng âm tính NC2 (trong đó khu vực liên kết B7H3 được giữ lại, và khu vực liên kết CD3 được thay bằng kháng thể không liên quan) có khả năng liên kết với dòng tế bào A498 (mà biểu hiện cao B7H3) (xem Fig. 2A), cho thấy hiệu quả phụ thuộc gradient, với khả năng liên kết mạnh hơn khả năng của MGD009, và đặc hiệu với đích B7H3. Kháng thể đối chứng âm tính NC1 (trong đó khu vực liên kết B7H3 được thay bằng kháng thể không liên quan, nhưng khu vực liên kết CD3 được giữ lại) không liên kết với A498. Tương tự, các kháng thể đặc hiệu kép 118, 127 và 132, MGD009 và NC2 liên kết mạnh với CT26/hB7H3 (xem Fig. 2B), nhưng không liên kết với dòng tế bào CT26 mà không biểu hiện B7H3 (xem Fig. 2C), mà cũng chứng minh đầy đủ rằng các kháng thể đặc hiệu kép thử nghiệm liên kết đặc hiệu với đích B7H3 trên bề mặt màng tế bào. Các kháng thể 118, 127 và 132 thể hiện khả năng liên kết khác với khả năng của MGD009, sự khác biệt về khả năng liên kết này là rất đáng kể đối với dòng tế bào CT26/hB7H3 biểu hiện quá mức B7H3 so với dòng tế bào A498, cho thấy rằng kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 có sự tiên bộ đáng kể hơn để liên kết với tế bào biểu hiện cao B7H3, và sẽ có cửa sổ an toàn tốt hơn so với kháng thể đặc hiệu kép hóa trị một B7H3 MGD009.

Các kháng thể đặc hiệu kép 118, 127 và 132 và kháng thể đối chứng âm tính NC1 có thể liên kết với dòng tế bào tái tổ hợp Jurkat (xem Fig. 2D), cho thấy hiệu quả phụ thuộc gradient. Trong số các kháng thể này, 118 và NC1 có khả năng liên kết tế bào tái tổ hợp Jurkat tương đương với khả năng của MGD009, trong khi 127 và 132 thể hiện khả năng liên kết yếu hơn một chút. Điều này có thể là do khu vực liên kết CD3 được đặt giữa khu vực liên kết B7H3 và FC, và sự cản trở không gian nhất định có thể ảnh hưởng đến liên kết với tế bào tái tổ hợp Jurkat. Kháng thể đối chứng âm tính NC2 không có khu vực liên kết CD3 không liên kết với tế bào tái tổ hợp Jurkat, cho thấy rằng liên kết của các kháng thể đặc hiệu kép với Jurkat là đặc hiệu với đích CD3.

Ví dụ thử nghiệm 3. Thử nghiệm diệt PBMC *in vitro*

Thử nghiệm diệt PBMC qua trung gian kháng thể đặc hiệu kép trên các tế bào khối u thu được bằng cách phát hiện định lượng sự tăng sinh tế bào. Hàm lượng ATP, chất chỉ định chuyển hóa các tế bào sống và là hoàn toàn tỷ lệ với số lượng tế bào trong dịch nuôi cấy, được phát hiện bằng cách sử dụng Cell Titer-glo trong các tế bào.

Bốn tế bào đích khác nhau (T), bao gồm ba dòng tế bào khối u có các mức biểu hiện B7H3 khác nhau (A498, U87 (Cell Bank of Chinese Academy of Sciences, TCHu138), Detroit562 (ATCC, CCL-138)), và một dòng tế bào đối chứng âm tính CHOK1 mà không biểu hiện B7H3 (ATCC, CCL-61) được sử dụng. Tế bào hiệu ứng (E) là PBMC thu được từ người tình nguyện khỏe mạnh. Tế bào đích được cấy truyền trong đĩa 96-lỗ, nuôi cấy qua đêm, và các khối lượng tương đương PBMC được chiết sạch và các kháng thể đặc hiệu kép thử nghiệm được pha loãng liên tiếp (nồng độ cuối cùng cao nhất là 300nM, được pha loãng ở 1:3), hoặc PBS (đối chứng, với các tế bào hiệu ứng và tế bào đích không có kháng thể) được bổ sung vào mỗi lỗ vào ngày tiếp theo. Các đối chứng trống (trống, chỉ có môi trường, không chứa tế bào hoặc kháng thể) được thiết lập. Các tỷ lệ của E:T tương ứng là 10:1, 5:1, 5:1 và 5:1 đối với A498, U87, Detroit562 và các tế bào CHOK1. Các tế bào này được ủ trong 48 giờ và được phát hiện bằng Cell Titer-glo (đề cập đến là tài liệu hướng dẫn). Các giá trị tín hiệu được đọc trên máy đọc vi đĩa, và cuối cùng được chuyển thành tỷ lệ ức chế. Dữ liệu này được xử lý và được phân tích bằng cách sử dụng Graphpad Prism 5.

Tỷ lệ ức chế % (Ức chế %) = $100\% - (\text{giá trị tín hiệu mẫu} - \text{giá trị tín hiệu trống}) / (\text{giá trị tín hiệu đối chứng} - \text{giá trị tín hiệu trống})$.

3.1 So sánh các kháng thể chứa khu vực gắn kết kháng nguyên CD3 khác nhau với ái lực thay đổi

Các scFv CD3 có ái lực khác nhau được sử dụng để xây dựng các kháng thể đặc hiệu kép khác nhau, mà thể hiện hiệu quả diệt tế bào đích *in vitro* khác nhau (xem Fig. 3A và Fig. 3B). Các kháng thể đặc hiệu kép 155, 156, 185 và 186 tương ứng chứa HRH5 và HRH6, thể hiện hiệu quả diệt yếu nhất, mà phù hợp với các kết quả của thử nghiệm ái lực Biacore.

3.2 So sánh các kháng thể đặc hiệu kép hóa trị một và hóa trị hai B7H3

So sánh cấu trúc AFF3 (131 và 177 được sử dụng làm kháng thể điển hình của cấu trúc này) và AF3 (181 và 187 được sử dụng làm kháng thể ví dụ của cấu trúc này) được thực hiện làm ví dụ minh họa cho các kháng thể đặc hiệu kép được xây dựng từ các scFv chứa vùng biến đổi kháng thể chuỗi nặng kháng CD3 khác nhau (xem Fig. 4A và Fig. 4B). Kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 có cấu trúc AFF3 là CD3-B7H3 được gia tăng đáng kể hoạt tính diệt tế bào *in vitro* so với các kháng thể đặc hiệu kép hóa trị một B7H3 có cấu trúc AF3. Điều này áp dụng cho tất cả các kháng thể đặc hiệu kép chứa các VH CD3 khác nhau.

Bảng 12 Trật tự sắp xếp kháng thể

Tên của cấu trúc	Chuỗi polypeptit thứ nhất	Chuỗi polypeptit thứ hai
AFF3	VL _{B7H3} -L1-VH _{B7H3} -L2-VH _{CD3} -L3-VL _{CD3} -L4-Fc1	VL _{B7H3} -L5-VH _{B7H3} -L6-Fc2
AF3	VL _{B7H3} -L1-VH _{B7H3} -L2-VH _{CD3} -L3-VL _{CD3} -L4-Fc1	Fc2

3.3 Hiệu quả của các cấu trúc phân tử khác nhau của kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 đối với hoạt tính diệt khối u

Các phân tử kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 161, 162, 113 và 126 (xem Fig. 5A) và 113 và 143 (xem Fig. 5B) cùng có chung các thành phần khu vực gắn kết kháng nguyên giống nhau nhưng khác nhau về trật tự sắp xếp, được thử nghiệm song song về hoạt tính diệt tế bào khối u. Tất cả các phân tử trên có HRH2 là vùng biến đổi chuỗi nặng của khu vực gắn kết kháng nguyên CD3. Các kết quả này cho thấy rằng các phân tử kháng thể đặc hiệu hóa trị hai B7H3 có trật tự sắp xếp khác nhau tất cả đều có hiệu quả diệt đáng kể đối với các tế bào A498. Trong số các kháng thể này, 161, 162, 113 và 126 có hoạt tính diệt tương đương hoặc vượt trội hơn một chút so với hoạt tính của MGD009. Trật tự sắp xếp của các cấu trúc khác nhau có hiệu quả nhỏ đối với hoạt tính diệt tế bào khối u của kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3.

Bảng 13 So sánh cấu trúc của các kháng thể thử nghiệm khác nhau

Kháng thể	Tên của cấu trúc	Chuỗi polypeptit thứ nhất	Chuỗi polypeptit thứ hai
161	AFF1-2	VH _{B7H3} -L1-VL _{B7H3} -L2-VH _{CD3} (HRH2)-L3-VL _{CD3} -L4-Fc1	VL _{B7H3} -L5-VH _{B7H3} -L6-Fc2
162	AFF2-2	VH _{B7H3} -L1-VL _{B7H3} -L2-VL _{CD3} -L3-VH _{CD3} (HRH2)-L4-Fc1	VL _{B7H3} -L5-VH _{B7H3} -L6-Fc2
113	AFF3-2	VL _{B7H3} -L1-VH _{B7H3} -L2-VH _{CD3} (HRH2)-L3-VL _{CD3} -L4-Fc1	VL _{B7H3} -L5-VH _{B7H3} -L6-Fc2
126	AFF6-2	VH _{CD3} (HRH2)-L1-VL _{CD3} -L2-VL _{B7H3} -L3-VH _{B7H3} -L4-Fc1	VL _{B7H3} -L5-VH _{B7H3} -L6-Fc2

143	AFF3-2B	VL _{B7H3} -L1-VH _{B7H3} -L2-VH _{CD3} (HRH2)-L3-VL _{CD3} -L4-Fc1	VH _{B7H3} -L5-VL _{B7H3} -L6-Fc2
-----	---------	---	---

3.4 Các kháng thể đặc hiệu kép có hiệu quả diệt đối với các dòng tế bào khối u có mức biểu hiện B7H3 khác nhau

Ba kháng thể đặc hiệu kép thử nghiệm 118, 127 và 132 được thử nghiệm hiệu quả diệt *in vitro* đối với các dòng tế bào khối u A498, U87 và Detroit562. Hiệu quả diệt là tương quan theo chiều thuận với mức biểu hiện B7H3. Ví dụ, 118 có EC50 là 0,34, 2,4 và 14,5 nM tương ứng cho A498, U87 và Detroit562. Tất cả ba phân tử kháng thể thể hiện xu hướng này. Không một kháng thể nào trong số các kháng thể đặc hiệu kép có hiệu quả diệt đối với dòng tế bào đối chứng âm tính B7H3 CHOK1, và kháng thể đặc hiệu kép đối chứng âm tính NC1 không có hiệu quả diệt đối với dòng tế bào đích bất kỳ. Cùng với nhau, hai khía cạnh này cho thấy rằng diệt tế bào là diệt đặc hiệu đích, mà cần điều khiển lại tế bào gây hiệu ứng về phía tế bào đích dương tính B7H3 bằng các kháng thể đặc hiệu kép.

Bảng 14. Điều khiển lại các PBMC được trung gian bởi các kháng thể đặc hiệu kép thử nghiệm về phía diệt các dòng tế bào đích khác nhau

Dòng tế bào	Biểu hiện B7H3	118		127		132		NC1	
		IC50 (nM)	E _{max} (%)	IC50 (nM)	E _{max} (%)	IC50 (nM)	E _{max} (%)	IC50 (nM)	E _{max} (%)
A498	cao	0,34	65,9	2,4	67,5	2,94	66,4	>300	20,9
U87	trung bình	2,4	67,2	8,2	69,5	11,9	67,6	>300	3,8
Detroit562	thấp	14,5	39,24	15,8	26,46	15,7	15,23	>300	0,95
CHOK1	âm tính	>300	1,83	>300	3,91	>300	0,00	>300	0,81

3.5 So sánh hiệu quả diệt của các kháng thể đặc hiệu kép có cấu trúc khác nhau đối với tế bào A498

Ba kháng thể đặc hiệu kép thử nghiệm 127, 201 và 202 được thử nghiệm hiệu quả diệt *in vitro* đối với dòng tế bào khối u A498. Các kết quả này cho thấy (xem Fig. 5C) rằng các kháng thể đặc hiệu kép có ba cấu trúc này tất cả có hoạt tính diệt khối u, trong số đó, kháng thể đặc hiệu kép 127 có hoạt tính diệt vượt trội hơn so với hoạt tính của 201 hoặc 202.

Ví dụ thử nghiệm 4. Thử nghiệm hoạt hóa tế bào T *in vitro*

Để phát hiện chức năng hoạt hóa của các kháng thể đặc hiệu kép đối với các tế bào T, sự biểu hiện của gen thông báo luxiferaza được điều khiển bởi NFAT sau hoạt hóa Jurkat được đo sử dụng dòng tế bào tái tổ hợp Jurkat, khi có mặt hoặc không có mặt dòng tế bào khối u A498.

Các tế bào A498 được cấy truyền vào trong đĩa nuôi cấy tế bào 96-lỗ ($1 \times 10^5/\text{ml}$, 100 $\mu\text{L}/\text{lỗ}$), và được đặt trong thiết bị ủ 37°C , 5% CO_2 trong 20-24 giờ. Vào ngày tiếp theo, sau khi loại bỏ phần nổi dịch nuôi cấy tế bào, 90 μL huyền phù tế bào tái tổ hợp Jurkat ($5,5 \times 10^5/\text{ml}$) và 10 μL kháng thể đặc hiệu kép thử nghiệm được pha loãng liên tiếp (với nồng độ cuối cùng cao nhất là 500nM, độ pha loãng gradient 1: 3) được bổ sung vào mỗi lỗ, và đối chứng âm (là có A498 và tế bào tái tổ hợp Jurkat, không có kháng thể) và đối chứng trống (là có môi trường, không có tế bào hoặc kháng thể) được thiết lập, và ủ trong thiết bị ủ 37°C , 5% CO_2 trong 5-6 giờ. Để hoạt hóa đặc hiệu tế bào không phải khối u của tế bào tái tổ hợp Jurkat, tế bào tái tổ hợp Jurkat và các kháng thể thử nghiệm được bổ sung trực tiếp vào trong đĩa nuôi cấy 96 lỗ trống. Sau khi cùng nuôi cấy, 100 μL chất phản ứng Bright-Glo (Hệ thống thử nghiệm Luciferaza Bright-Glo™, Promega, Cat#: E2620) được bổ sung vào mỗi lỗ, được đặt ở nhiệt độ trong phòng trong từ 5-10 phút, và giá trị tín hiệu phát quang hóa học được đọc trên vi đĩa đa chức năng. Sự gia tăng số gấp huỳnh quang được tính toán theo công thức:

$$\text{Sự gia tăng số gấp} = (\text{Tín hiệu}_{\text{mẫu}} - \text{Tín hiệu}_{\text{trống}}) / (\text{Tín hiệu}_{\text{đối chứng}} - \text{Tín hiệu}_{\text{trống}}).$$

4.1 Các phân tử hóa trị hai B7H3 có trật tự sắp xếp khác nhau có thể hoạt hóa hiệu quả tất cả tế bào T

Kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 118, 127, và 132 được thử nghiệm hoạt hóa tế bào tái tổ hợp Jurkat khi có mặt hoặc không có mặt A498 để làm thay đổi hiệu quả hoạt hóa đặc hiệu và không đặc hiệu của các kháng thể đặc hiệu kép trên các tế bào T. Các kết quả cho thấy rằng kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai B7H3 118, 127 và 132 có các trật tự sắp xếp khác nhau có thể hoạt hóa hiệu quả dòng tế bào tái tổ hợp Jurkat và cảm ứng đáng kể sự biểu hiện của luxiferaza, trong sự có mặt của dòng tế bào khối u A498 (xem Fig. 6A). Nó chứng minh rằng sự hoạt hóa của tế bào tái tổ hợp Jurkat là đặc hiệu với đích B7H3, do kháng thể đối chứng âm tính NC1 không thể cảm ứng sự biểu hiện của luxiferaza. Đồng thời bổ sung cả hai tế bào tái tổ hợp Jurkat biểu hiện CD3 và tế bào khối u biểu hiện B7H3 thông qua các kháng thể đặc hiệu kép cần để hoạt hóa tế bào tái tổ hợp Jurkat. Trong trường hợp tế bào tái tổ hợp Jurkat chỉ có mặt

không có tế bào A498 (xem Fig. 6B), sự biểu hiện của luxiferaza là rất thấp, và chỉ có tín hiệu rất yếu có thể được phát hiện ở một vài điểm nồng độ kháng thể cao nhất.

Bảng 15 Trật tự sắp xếp kháng thể

Kháng thể	Chuỗi polypeptit thứ nhất	Chuỗi polypeptit thứ hai
118	VH _{CD3} (HRH3)-L1-VL _{CD3} -L2-VL _{B7H3} -L3-VH _{B7H3} -L4-Fc	VL _{B7H3} -L5-VH _{B7H3} -L6-Fc
127	VL _{B7H3} -L1-VH _{B7H3} -L2-VH _{CD3} (HRH3)-L3-VL _{CD3} -L4-Fc	VL _{B7H3} -L5-VH _{B7H3} -L6-Fc
132	VL _{B7H3} -L1-VH _{B7H3} -L2-VH _{CD3} (HRH3)-L3-VL _{CD3} -L4-Fc	VL _{B7H3} -L5-VH _{B7H3} -L5-Fc

4.2 So sánh kháng thể đặc hiệu kép hóa trị hai và hóa trị một B7H3

Các kháng thể đặc hiệu kép CD3-B7H3 hóa trị hai đã tăng cường đáng kể sự hoạt hóa tế bào T đặc hiệu đích so với các kháng thể đặc hiệu kép hóa trị một B7H3, mà là phù hợp với khả năng diệt khối u *in vitro* gia tăng của phân tử hóa trị hai B7H3 so với các phân tử hóa trị một B7H3 như được chỉ định trong Ví dụ thử nghiệm 3. Trong khi, sự hoạt hóa tế bào T không đặc hiệu đích vẫn không đổi. Do đó, phân tử hóa trị hai B7H3 (131) có hiệu quả mạnh hơn so với phân tử hóa trị một B7H3 (181) (xem Fig. 7A), trong khi các tác dụng phụ gây ra bởi sự hoạt hóa không đặc hiệu các tế bào T không bị gia tăng (xem Fig. 7B).

Bảng 16 Cấu trúc kháng thể

Kháng thể	Chuỗi polypeptit thứ nhất	Chuỗi polypeptit thứ hai
131	VL _{B7H3} -L1-VH _{B7H3} -L2-VH _{CD3} -L3-VL _{CD3} -L4-Fc1	VL _{B7H3} -L5-VH _{B7H3} -L6-Fc2
181	VL _{B7H3} -L1-VH _{B7H3} -L2-VH _{CD3} -L3-VL _{CD3} -L4-Fc1	Fc2

Ví dụ thử nghiệm 5. Thử nghiệm tiết xytokin *in vitro*

Tế bào gây hiệu ứng được sử dụng kháng lại tế bào đích dưới sự trung gian của kháng thể đặc hiệu kép, và giải phóng xytokin trong khi diệt tế bào đích. Tiết xytokin được phân tích bằng cách phát hiện định lượng hàm lượng xytokin (bao gồm IL2, IFN γ , và TNF α) trong phần nổi dịch nuôi cấy tế bào, bằng ELISA.

Thiết kế thí nghiệm và kháng thể được sử dụng là giống nhau như được mô tả trong Ví dụ thử nghiệm 4. Phần nổi dịch nuôi cấy tế bào được thu khi kết thúc thử nghiệm diệt *in vitro* và bổ sung vào trong đĩa 96-lỗ (Corning#3795), và bảo quản ở -20°C để

sử dụng sau đó. Đối với thử nghiệm ELISA, phần nổi dịch nuôi cấy đông lạnh được lấy ra, rã đông ở nhiệt độ trong phòng, ly tâm ở 3500 vòng/phút trong 10 phút, và phần nổi được thu thập cho thử nghiệm ELISA. Các quy trình cho ELISA theo các hướng dẫn được cung cấp trong kit này (kit ELISA IL-2 người, kit ELISA IFN- γ người, kit ELISA TNF- α người, Neobioscience, Cat # EHC003.96, EHC102g.96, EHC103a.96).

Các kết quả này cho thấy rằng các kháng thể đặc hiệu kép thử nghiệm có thể cảm ứng hiệu quả PBMC tiết IL2, IFN γ và TNF α trong sự có mặt của cả hai PBMC và các tế bào đích dương tính B7H3 A498 (xem Fig. 8A-8C), trong số các kháng thể này, MGD009 và 118 cảm ứng mức xytokin tiết cao nhất, sau đó đến 127 và 132, và kháng thể đối chứng âm tính NC1 cảm ứng tiết xytokin ở mức nằm ngoài giới hạn nhạy để phát hiện. MGD009 có thể cảm ứng đáng kể sự giải phóng IFN γ và TNF α ở các điểm nồng độ cao nhất trong sự có mặt của cả hai PBMC và tế bào âm tính B7H3 CHOK1 (xem Fig. 9A-Fig. 9C), trong khi ba kháng thể đặc hiệu kép thử nghiệm 118, 127 và 132 không thể cảm ứng giải phóng IFN γ và TNF α , cho thấy rằng ba kháng thể đặc hiệu kép thử nghiệm có độ an toàn tốt hơn so với MGD009, về mặt tiết xytokin không đặc hiệu đích.

Ví dụ thử nghiệm 6. Thử nghiệm được động học trong mô hình A498 chuột được xây dựng lại bằng PBMC người

Trong ví dụ thử nghiệm này, hiệu quả chống khối u của các kháng thể đặc hiệu kép CD3-B7H3 thử nghiệm theo sáng chế trong chuột được đánh giá bằng cách sử dụng chuột NOG (Beijing Charles River Experimental Animal Co., Ltd.) mô hình A498 (ATCC) được xây dựng lại bằng PBMC người.

5×10^6 tế bào/chuột/100 μ l (chứa 50% matrigel) tế bào A498 được cấy dưới da vào trong sườn phải của chuột NOG. Khi thể tích khối u trong chuột mang khối u đạt khoảng từ 130-150mm³, chuột được phân nhóm ngẫu nhiên, với 5-6 con cho mỗi nhóm, và ngày phân nhóm được xác định là ngày 0 của thí nghiệm này. Vào ngày 0 hoặc ngày 1, PBMC được chiết sạch từ hai người tình nguyện được trộn với tỷ lệ là 1:1, và 5×10^6 tế bào/100 μ l được tiêm trong màng bụng trong chuột NOG, và mỗi kháng thể được tiêm trong màng bụng, hai lần một tuần, tổng số 6 liều dùng. Thể tích khối u và trọng lượng con vật được theo dõi hai lần một tuần và dữ liệu được ghi lại. Tá được lỏng nghĩa là nhóm đối chứng âm tính được dùng đệm PBS, thay vì kháng thể.

Các kháng thể 118 và 119 thể hiện hiệu quả chống khối u nhất định với các liều dùng thấp hơn (Fig. 10A), và thể hiện hiệu quả phụ thuộc liều dùng. Kháng thể 118 có tỷ lệ ức chế khối u (TGI) là 22,17% và 60,39% tương ứng với các liều dùng là 0,01mpk và 0,03mpk, vào ngày cuối cùng của thí nghiệm (ngày 20).

Kháng thể 113 cho thấy hiệu quả chống khối u nhất định vào ngày 14, và tỷ lệ ức chế khối u trong các nhóm liều dùng 0,6mpk và 0,3mpk tương ứng đạt đến 70,05% ($p<0,05$) và 60,78% ($p<0,05$), (Fig. 10B). Vào ngày 20, hiệu quả chống khối u giữ tăng theo phương thức phụ thuộc liều, và tỷ lệ chống khối u lớn hơn 100% tương ứng ($p<0,001$) và 77,92% ($p<0,05$).

Dưới các điều kiện 0,12mpk và 0,36mpk được định liều (Fig. 10C), kháng thể 118 cho thấy tỷ lệ ức chế khối u là 39,18% và 57,44% ($p<0,001$) tương ứng với liều dùng là 0,12mpk và 0,36mpk vào ngày 12, và tỷ lệ ức chế khối u đạt đến 81,72% ($p<0,01$) và lớn hơn 100% ($p<0,001$), tương ứng vào ngày 21. Trong số các kết quả, ở liều dùng 0,36mpk, một con chuột thậm chí thể hiện sự thoái triển khối u hoàn toàn (1/6).

Với liều dùng 0,36mpk (Fig. 10D), kháng thể 126 có tỷ lệ ức chế khối u là 47,78% vào ngày 21 ($p<0,01$). Kháng thể 128 thể hiện hiệu quả chống khối u đáng kể vào ngày 19 (TGI=56,37%). Đến ngày 21, tỷ lệ ức chế khối u được gia tăng đến 69,28% ($p<0,001$). Kháng thể 127 thể hiện tỷ lệ ức chế khối u là 76,20% vào ngày 12 ($p<0,001$), và hiệu quả ức chế khối u giữ gia tăng vào ngày 21, và tỷ lệ ức chế khối u là lớn hơn 100% ($p<0,001$). Trong 3 trong số 5 con vật, thể tích khối u được thoái triển so với thể tích khối u vào ngày tạo nhóm, và thể tích khối u trong 2 con vật còn lại được thoái triển hoàn toàn.

Hoạt tính chống khối u của kháng thể 127 được lặp lại trong thí nghiệm khác (Fig. 10E). Tốc độ ức chế khối u đạt được 90,6% vào ngày 14 ($p<0,001$), và được gia tăng đến 95,80% vào ngày 17 ($p<0,001$). 127 là vẫn hiệu quả ở liều dùng thấp hơn (0,12mpk) và ở tần suất dùng thấp hơn (một tuần một lần, 127-0,36mpk-qw), với tỷ lệ ức chế khối u vào ngày 17 tương ứng đạt 51,37% ($p<0,001$) và 96,20% ($p<0,001$).

Ví dụ thử nghiệm 7. Thử nghiệm được động học trong mô hình chuột hCD3 KI

Trong thí nghiệm này, các con chuột Balb/c-hCD3 được cấy dưới da với dòng tế bào khối u CT26-hB7H3 (tế bào CT26 được bắt nguồn từ Cell Bank of the Chinese

Academy of Sciences, các tế bào TCM37, và CT26-hB7H3 thu được bằng cách biểu hiện hB7H3) để đánh giá hiệu quả ức chế của các kháng thể đặc hiệu kép CD3-B7H3 của sáng chế đối với sự sinh trưởng khối u trong chuột.

Chuột chuyển gen cái hCD3E Balb/c được mua từ Model Animal Research Center of Nanjing University (Số đăng ký 201801374/5/6, giấy phép SCXK (Jiangsu) 2015-0001).

8×10^5 tế bào/chuột/100 μ l tế bào CT26-hB7H3 được cấy dưới da vào trong sườn phải của chuột hCD3. Khi thể tích khối u trong chuột mang khối u chạm đến khoảng từ 80-120 mm³, chuột được chia ngẫu nhiên thành các nhóm khác nhau, 7 con chuột cho mỗi nhóm. Ngày phân nhóm được định nghĩa là ngày 0 của thí nghiệm, và tiêm trong màng bụng mỗi kháng thể được thực hiện, hai lần một tuần, trong tổng số 5 liều dùng. Thể tích khối u và trọng lượng con vật được theo dõi hai lần một tuần và dữ liệu được ghi lại. Tá được lỏng nghĩa là nhóm đối chứng âm tính được dùng với đệm PBS thay vì kháng thể.

Các kết quả này cho thấy rằng kháng thể 118 thể hiện hiệu quả mạnh sau khi bắt đầu dùng ở liều dùng 1mpk (Fig. 11A), và tốc độ ức chế khối u đạt được 38,34% vào ngày 13 ($p < 0,05$).

Kháng thể 132 có xu hướng ức chế sự tăng trưởng khối u ở liều dùng 3,6 mpk (Fig. 11B), và tốc độ ức chế khối u đạt được 26,35% vào ngày 13.

Ví dụ thử nghiệm 8. Thí nghiệm PK trong chuột rat

Trong thí nghiệm này, các kháng thể đặc hiệu kép CD3-B7H3 được tiêm vào trong tĩnh mạch đuôi của chuột rat SD, và các nồng độ kháng thể trong huyết thanh chuột rat ở các thời điểm khác nhau được phát hiện để đánh giá sự chuyển hóa của các kháng thể đặc hiệu kép CD3-B7H3 trong chuột rat SD.

Dược chất thử nghiệm được tiêm vào trong tĩnh mạch đuôi của chuột rat với 3 mg/kg, và thể tích dùng là 5 mL/kg. Máu được lấy ở các thời điểm khác nhau, nghĩa là, trước khi dùng và 5 phút, 8 giờ, 1 ngày, 2 ngày, 4 ngày, 7 ngày, 10 ngày, 14 ngày, 21 ngày, 28 ngày sau khi dùng. Các nồng độ kháng thể trong huyết thanh được phát hiện bằng phương pháp ELISA. Hai phương pháp ELISA khác nhau được sử dụng, trong đó kháng nguyên B7H3 (1 μ g/mL) hoặc kháng nguyên CD3 (1 μ g/mL) được đặt lên đĩa,

và Fc kháng người-HRP (abcam, ab98624) được sử dụng làm kháng thể thứ cấp. Các thông số dược động học của dược chất thử nghiệm được tính toán bằng phần mềm Winnolin, và các thông số dược động học chính thu được được thể hiện trong Bảng 17.

Các kháng thể 118, 127 và 132 có thời gian bán hủy là từ 4,9-8,1 ngày trong vùng gắn kết kháng nguyên B7H3, dài hơn một chút so với thời gian bán hủy của MGD009 và chậm mức kháng thể IgG ban đầu; và thời gian bán hủy từ 3,2-5,6 ngày trong vùng gắn kết kháng nguyên CD3. Trong đó, thông số động học của hai vùng gắn kết kháng nguyên khác nhau đối với B7H3 và CD3 trong kháng thể 118 là khác nhau nhiều, cho thấy rằng sự nguyên vẹn của phân tử này *in vivo* là thích hợp, và thời gian bán hủy tương ứng là 4,9 và 4,4 ngày. Kháng thể 127 có thời gian bán hủy tương ứng là 4,9 và 3,2 ngày cho cả hai vùng gắn kết kháng nguyên khác nhau đối với B7H3 và CD3. Các sự khác biệt về khối lượng tiếp xúc và tốc độ thanh thải là rõ ràng, với phần CD3 dưới phần B7H3. Điều này có khả năng hơn là bị gây ra bởi làm yếu khả năng liên kết của CD3 đúng hơn là bởi sự đứt gãy phân tử, vì phần CD3 là bên trong cấu trúc phân tử này. Kháng thể 132 thu được bằng cách kết hợp cặp liên kết disulfua vào trong scFv B7H3, trên cơ sở trình tự phân tử của kháng thể 127. Sự thay đổi này gia tăng đáng kể đến thời gian bán hủy của phân tử này (từ 65-75%), và cũng cải thiện đáng kể khối lượng tiếp xúc và tốc độ thanh thải.

Bảng 17 Thông số dược động học chính trong chuột rat

Thống kê	118		127		132		MGD009
	B7H3 Được phủ	CD3 Được phủ	B7H3 Được phủ	CD3 Được phủ	B7H3 Được phủ	CD3 Được phủ	B7H3 Được phủ
AUC _{0-∞} (μg/ml*h)	4797±603	3059±227	3328 ±171	437 ±37	5182±122	1634 ±654	2994±244
t _{1/2} (h)	117±16	106±11	118 ±6	76 ±5	196 ±5	134 ±13	94,7±11,1
t _{1/2} (d)	4,9±0,7	4,4±0,4	4,9 ±0,3	3,2 ±0,2	8,1±0,2	5,6 ±0,5	3,95±0,46

Yêu cầu bảo hộ

1. Kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ, trong đó:
vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa LCDR1, LCDR2 và LCDR3 như được thể hiện tương ứng trong trình tự nêu trong SEQ ID NO: 48, 49 và 50, và vùng biến đổi chuỗi nặng chứa HCDR1, HCDR2 và HCDR3 như được thể hiện tương ứng trong trình tự nêu trong SEQ ID NO: 37, 40 và 42.
2. Kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là kháng thể được làm giống người hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.
3. Kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người theo điểm 2, chứa:
vùng biến đổi chuỗi nhẹ như được thể hiện trong trình tự nêu trong SEQ ID NO: 36, và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nặng như được thể hiện trong trình tự nêu trong SEQ ID NO: 31.
4. Kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người theo điểm 3, chứa thêm vùng hằng định chuỗi nhẹ và/hoặc vùng hằng định chuỗi nặng kháng thể;
tùy ý, vùng hằng định chuỗi nhẹ là vùng hằng định chuỗi nhẹ của chuỗi kappa, lambda người hoặc biến thể của nó, và vùng hằng định chuỗi nặng là vùng hằng định chuỗi nặng của IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 người hoặc biến thể của nó.
5. Kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó mảnh gắn kết kháng nguyên được chọn từ Fab, Fab', F(ab')₂, vùng V được dime hóa (diabody) và vùng V ổn định bằng liên kết disulfua (dsFv).
6. Kháng thể chuỗi đơn, chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ và vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3.
7. Kháng thể chuỗi đơn theo điểm 6, trong đó trình tự của kháng thể chuỗi đơn

này là như được thể hiện trong trình tự nêu trong SEQ ID NO: 57 hoặc 64.

8. Kháng thể đa đặc hiệu liên kết đặc hiệu với CD3 người và (các) kháng nguyên liên quan đến khối u, kháng thể đa đặc hiệu này chứa kháng thể chuỗi đơn theo điểm 6 hoặc 7 hoặc kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5.

9. Kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 8, trong đó kháng nguyên liên quan đến khối u được chọn từ nhóm bao gồm AFP, ALK, B7H3, BAGE protein, BCMA, BIRC5, BIRC7, β -catenin, bcr-abl, BRCA1, BORIS, CA9, CA125, carbonic anhydrase IX, caspase-8, CALR, CCR5, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD38, CD40, CD123, CD133, CD138, CDK4, CEA, Claudin 18.2, cyclin-B1, CYP1B1, EGFR, EGFRvIII, ErbB2/Her2, ErbB3, ErbB4, ETV6-AML, EpCAM, EphA2, Fra-1, FOLR1, protein GAGE, GD2, GD3, GloboH, Glypican-3, GM3, gp100, Her2, HLA/B-raf, HLA/k-ras, HLA/MAGE-A3, hTERT, IL13R α 2, LMP2, κ -Light, LeY, protein MAGE, MART-1, Mesothelin, ML-IAP, MOv- γ , Muc1, Muc2, Muc3, Muc4, Muc5, CA-125, MUM1, NA17, NKG2D, NY-BR1, NY-BR62, NY-BR85, NY-ESO1, OX40, p15, p53, PAP, PAX3, PAX5, PCTA-1, PLAC1, PRLR, PRAME, PSMA, RAGE protein, Ras, RGS5, Rho, ROR1, SART-1, SART-3, STEAP1, STEAP2, TAG-72, TGF- β , TMPRSS2, kháng nguyên Thompson-nouvelle, TRP-1, TRP-2, tyrosinase, uroplakin-3 và 5T4.

10. Dược phẩm chứa lượng hữu hiệu để điều trị bệnh của kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, kháng thể chuỗi đơn theo điểm 6 hoặc điểm 7, hoặc kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 8 hoặc điểm 9, và một hoặc nhiều chất mang, chất pha loãng, đệm hoặc tá dược được dùng.

11. Phân tử axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, mã hóa kháng thể chuỗi đơn theo điểm 6 hoặc điểm 7, hoặc mã hóa kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 8 hoặc điểm 9.

12. Vector tái tổ hợp chứa phân tử axit nucleic được phân lập theo điểm 11.

13. Tế bào chủ biến nạp vector tái tổ hợp theo điểm 12, tế bào chủ này được chọn từ tế bào tiền nhân và tế bào nhân chuẩn.

14. Tế bào chủ theo điểm 13, trong đó tế bào chủ này là tế bào nhân chuẩn.

15. Tế bào chủ theo điểm 13, trong đó tế bào nhân chuẩn là tế bào động vật có vú hoặc tế bào côn trùng.

16. Phương pháp tạo ra kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, kháng thể chuỗi đơn theo điểm 6 hoặc điểm 7, hoặc kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 8 hoặc điểm 9, phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ theo điểm 13 trong môi trường nuôi cấy để tạo thành và tích tụ kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với CD3 người theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, kháng thể chuỗi đơn theo điểm 6 hoặc điểm 7, hoặc kháng thể đa đặc hiệu theo điểm 8 hoặc điểm 9, và thu hồi kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, kháng thể chuỗi đơn hoặc kháng thể đa đặc hiệu từ dịch nuôi cấy này.

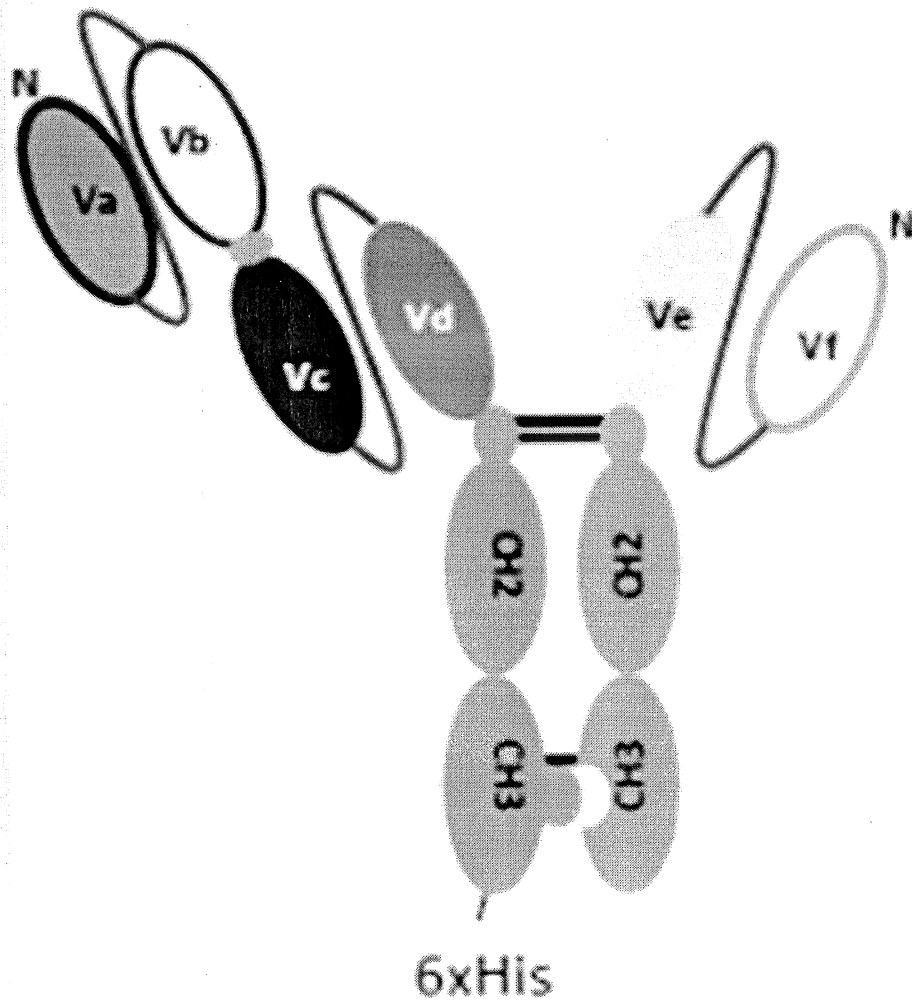
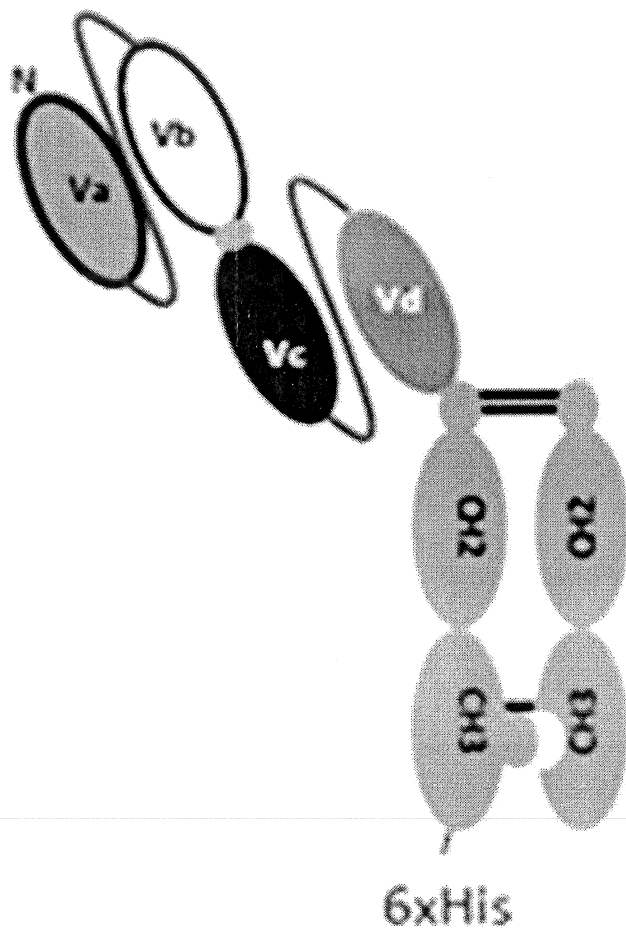


Fig. 1A

**Fig. 1B**

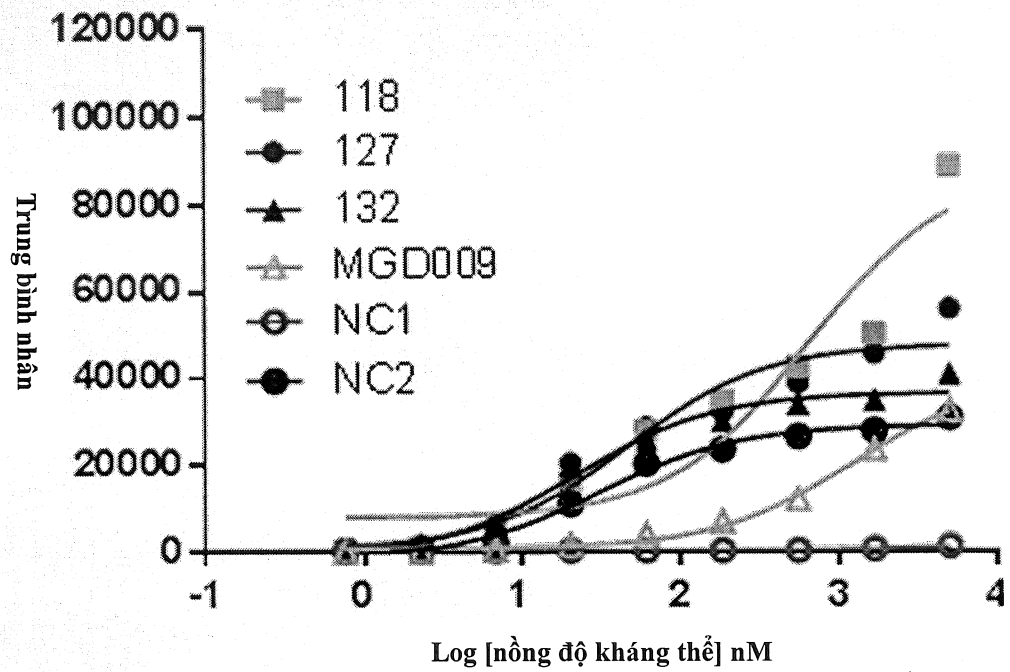


Fig. 2A

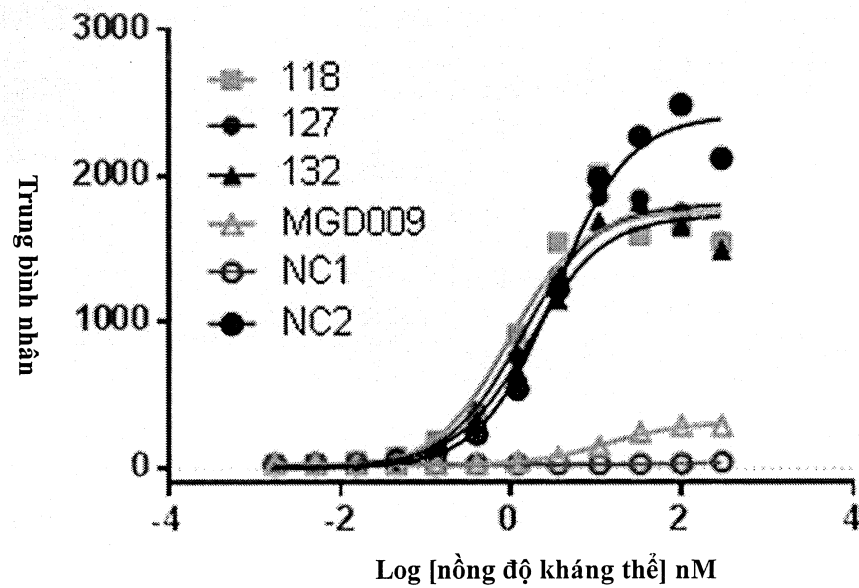


Fig. 2B

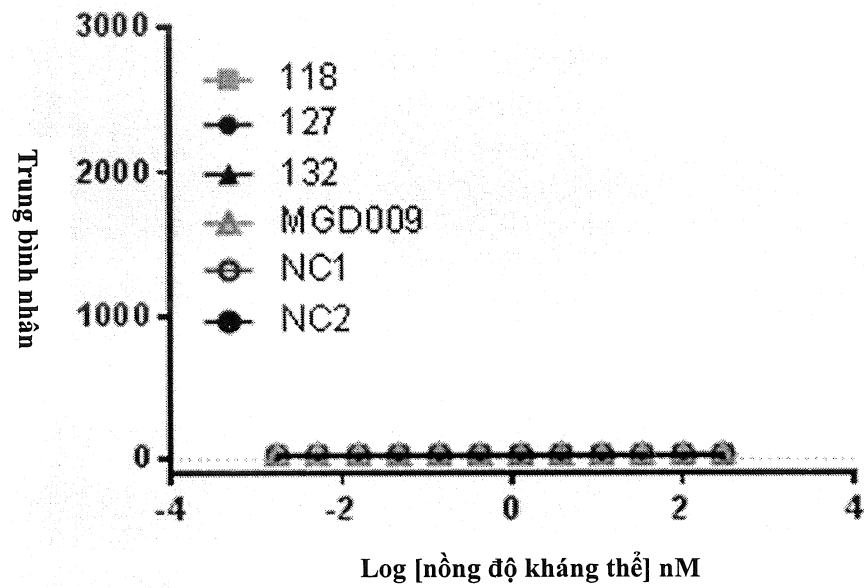


Fig. 2C

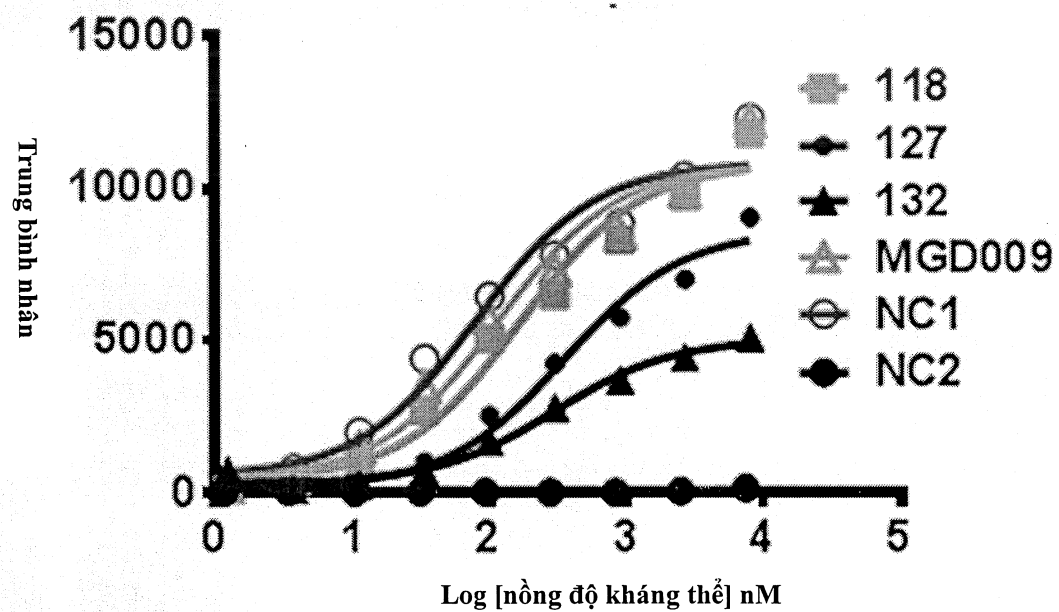


Fig. 2D

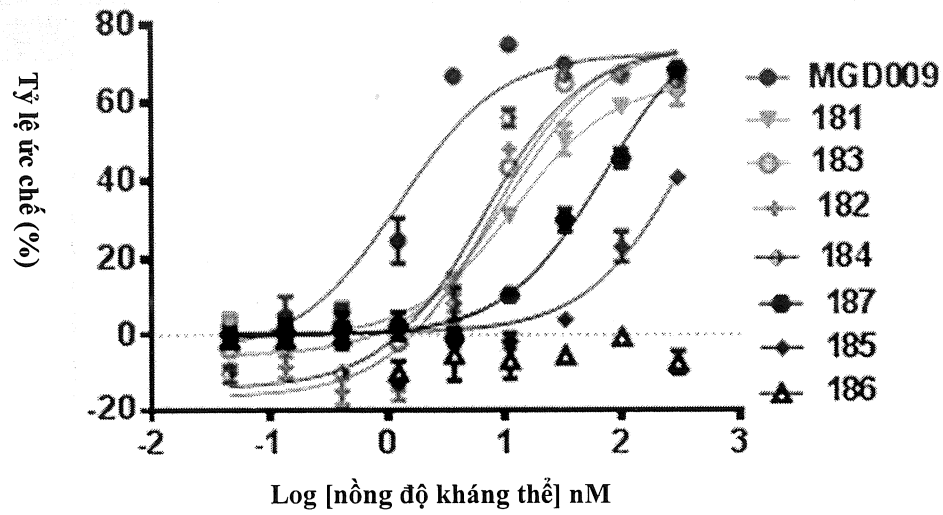


Fig. 3A

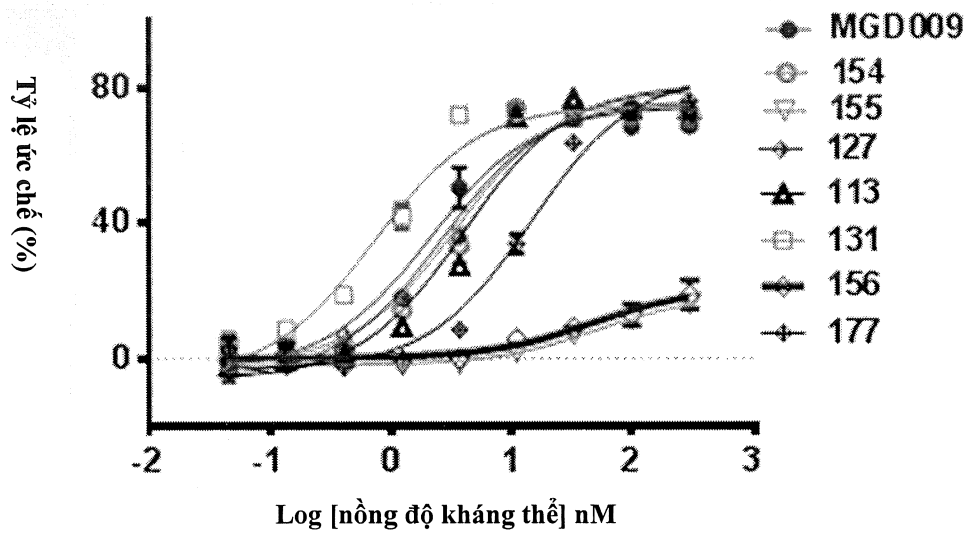


Fig. 3B

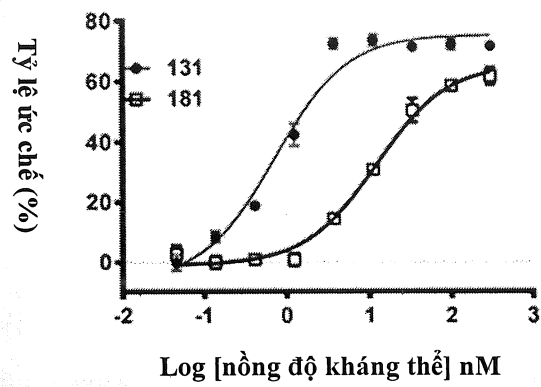


Fig. 4A

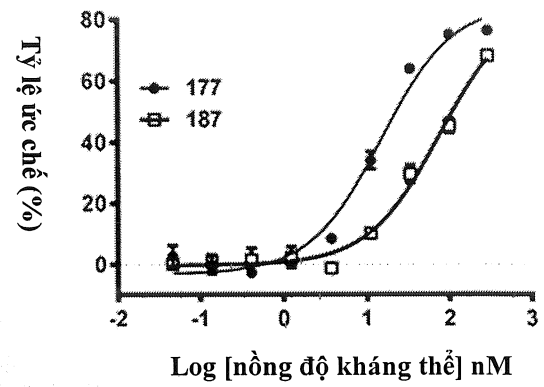


Fig. 4B

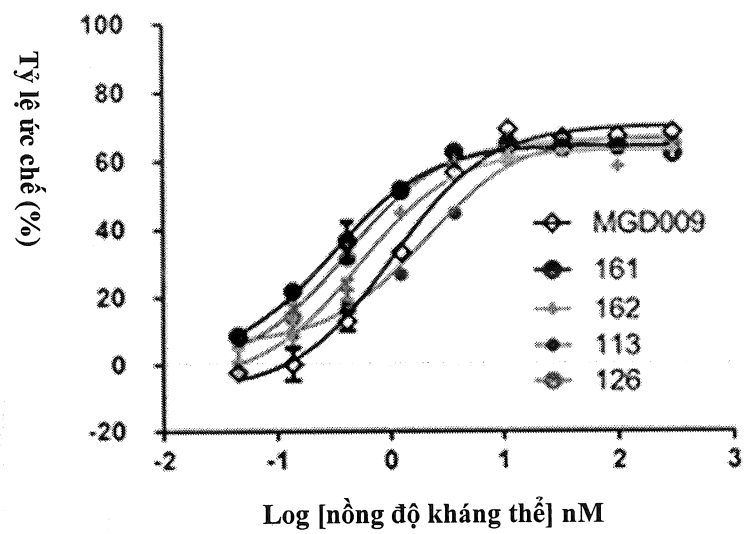


Fig. 5A

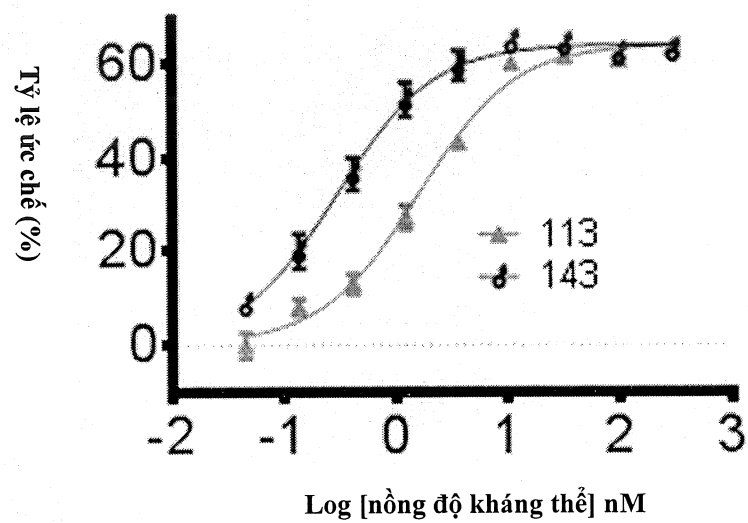


Fig. 5B

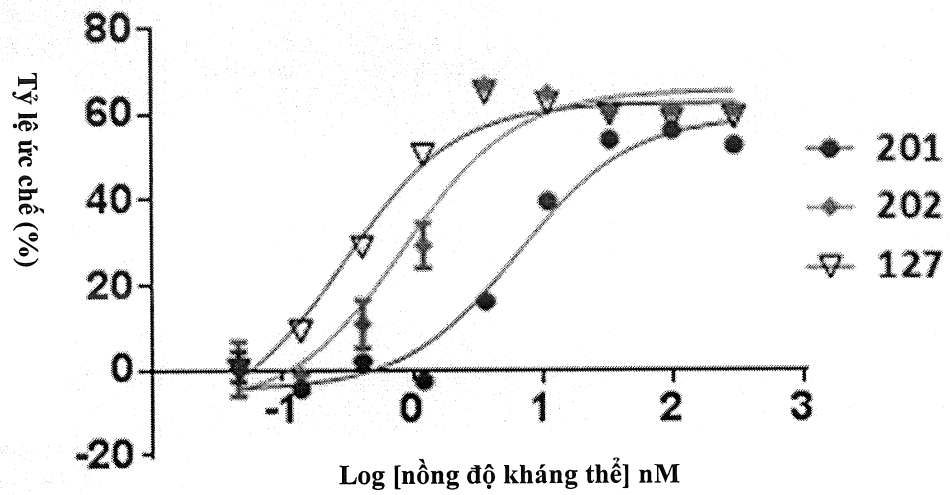


Fig. 5C

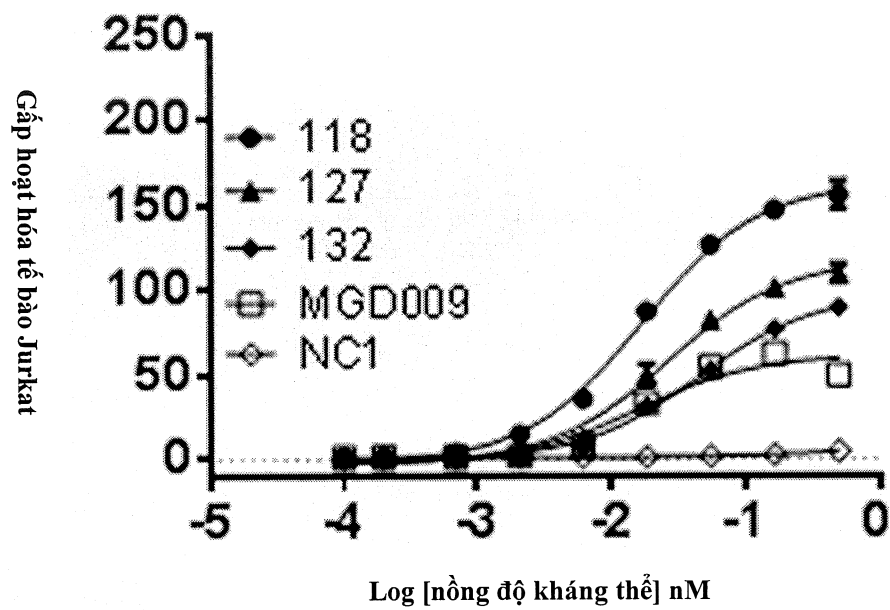


Fig. 6A

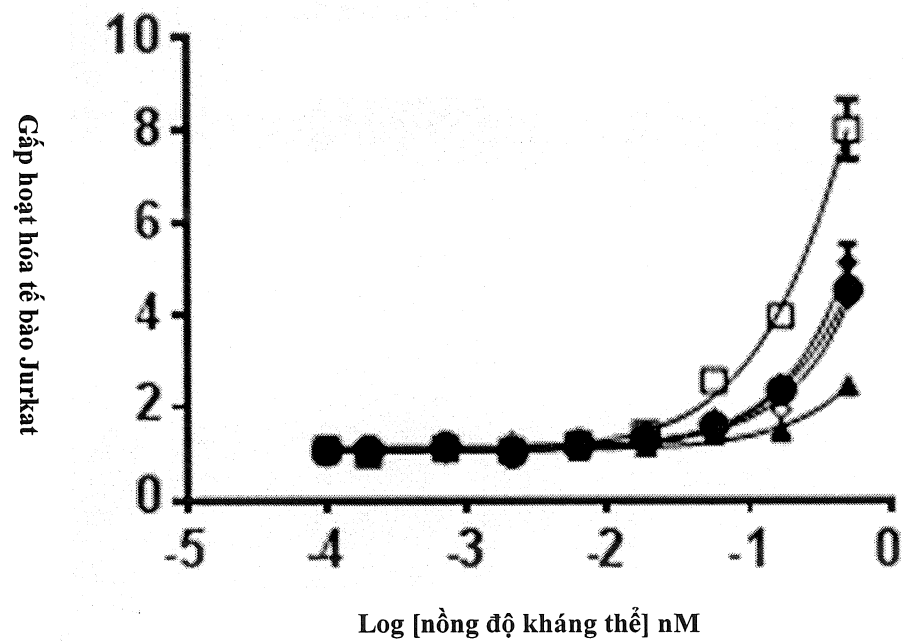


Fig. 6B

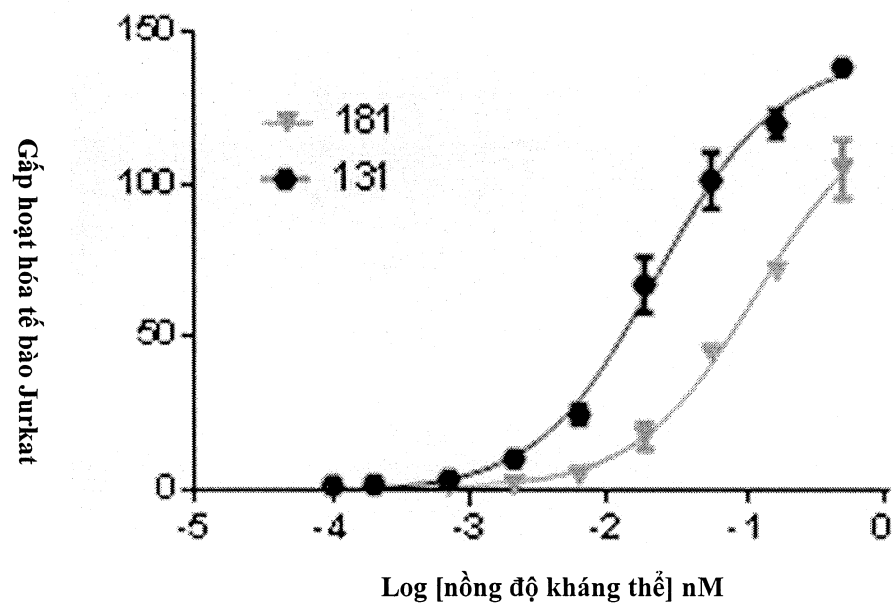
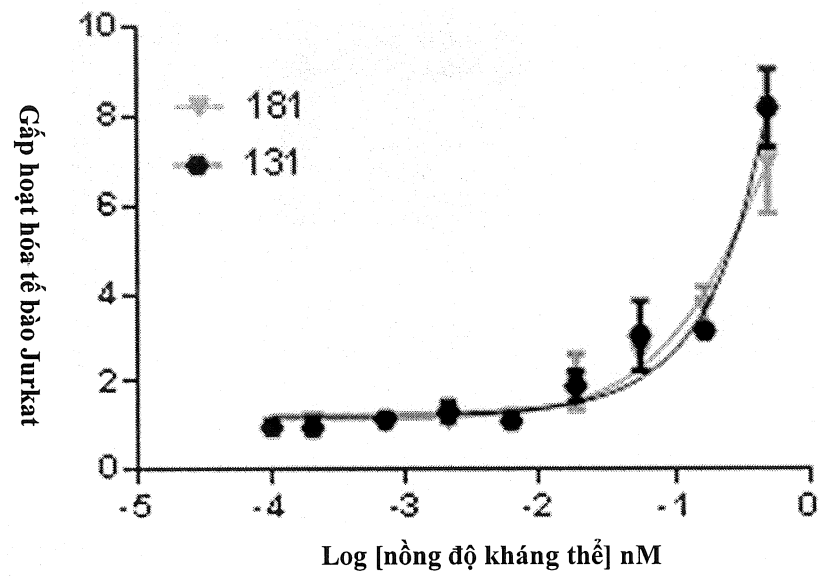
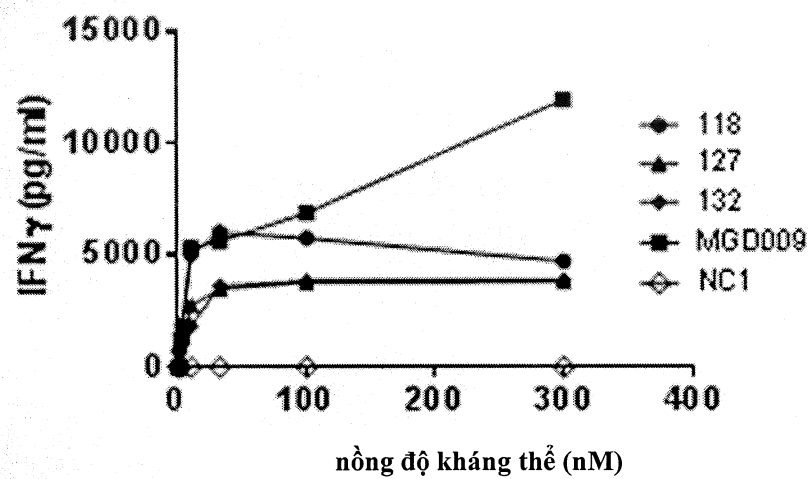


Fig. 7A

**Fig. 7B****Fig. 8A**

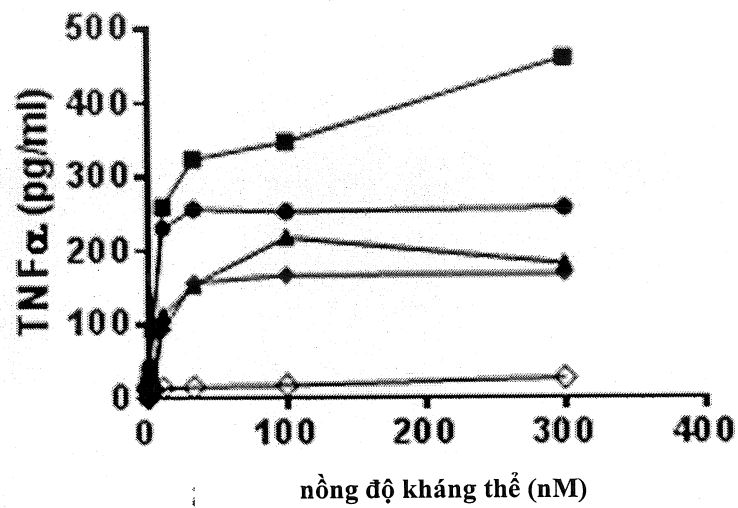


Fig. 8B

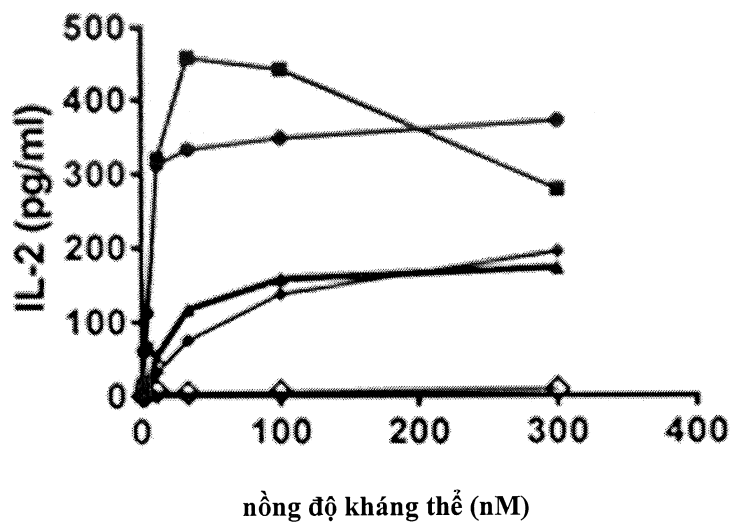


Fig. 8C

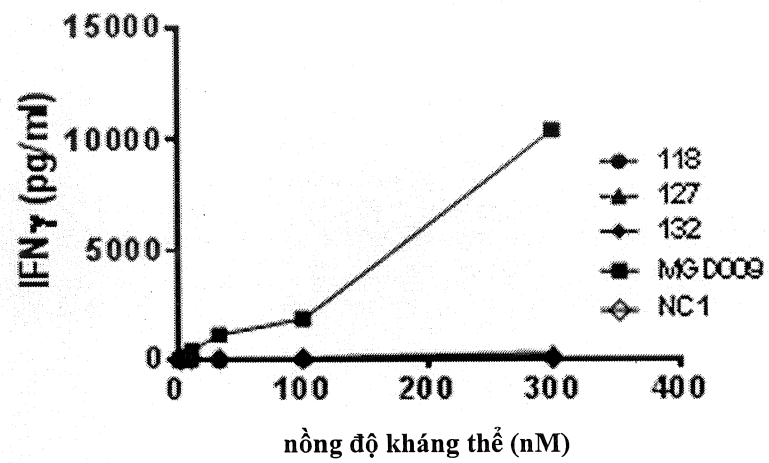


Fig. 9A

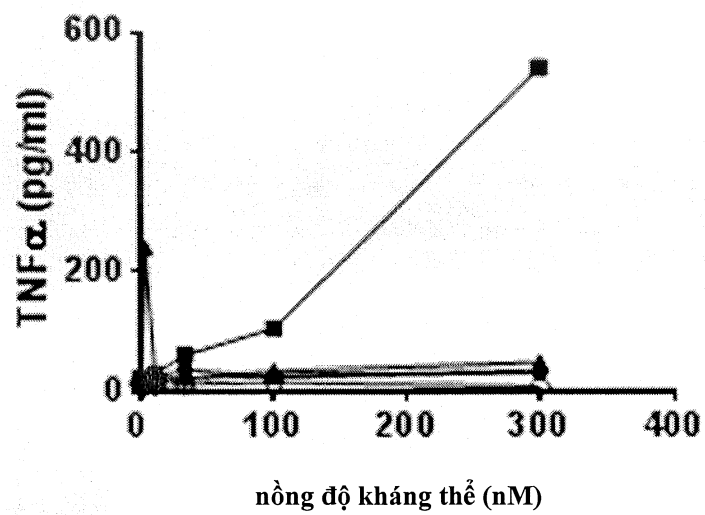


Fig. 9B

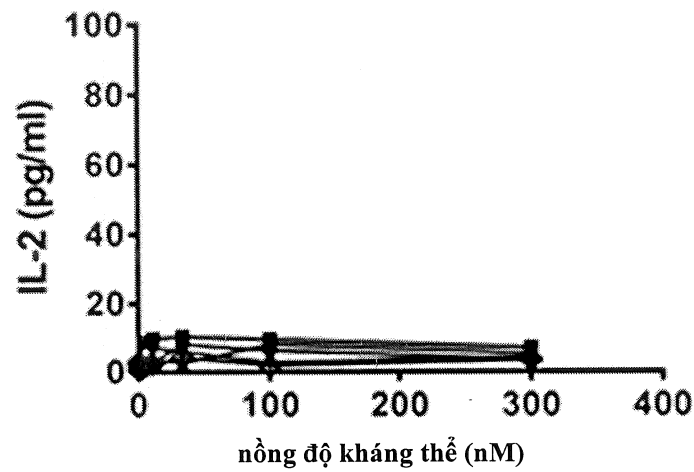


Fig. 9C

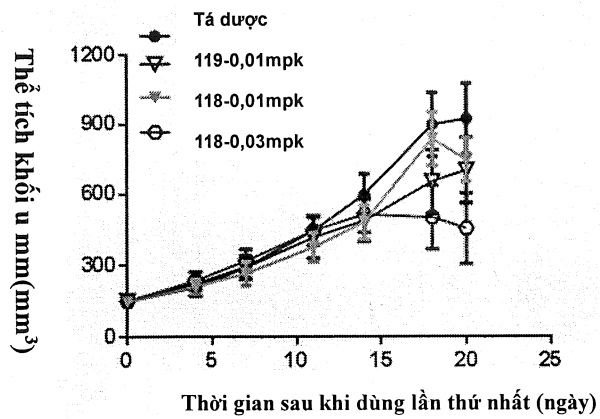


Fig. 10A

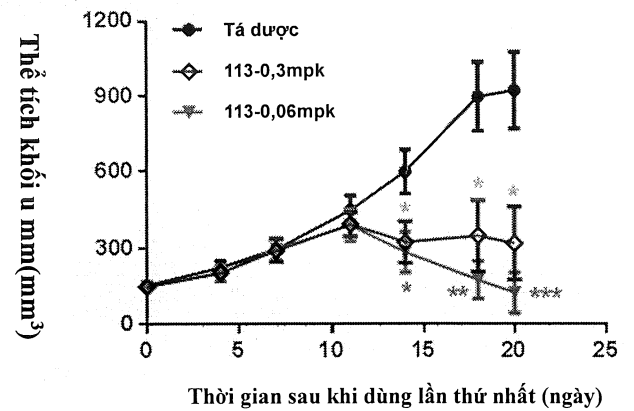


Fig. 10B

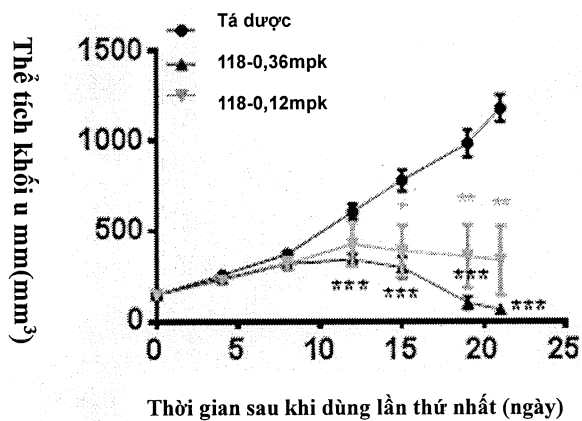


Fig. 10C

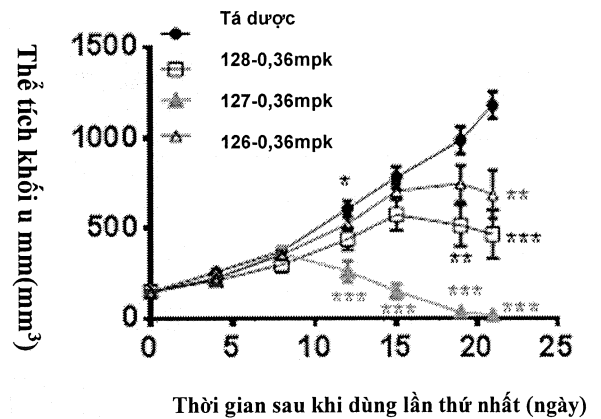


Fig. 10D

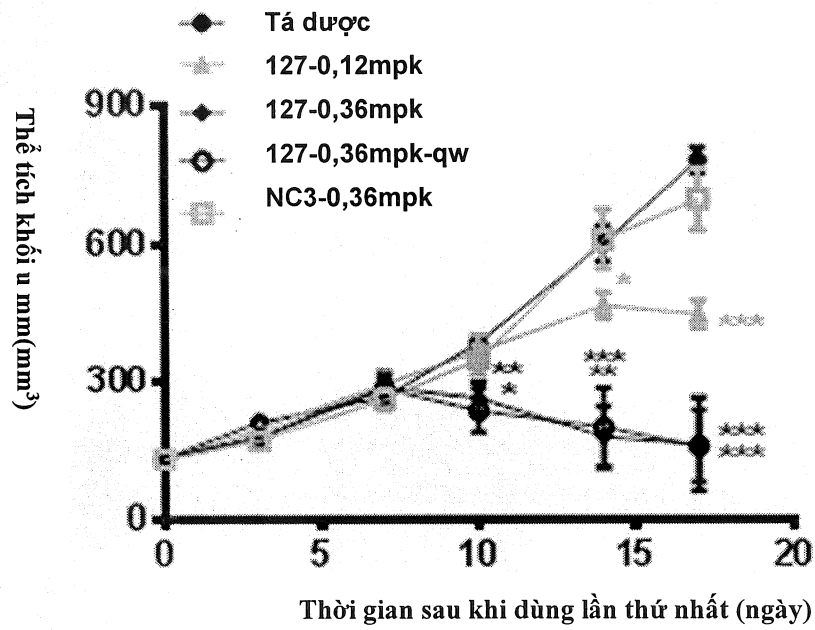


Fig. 10E

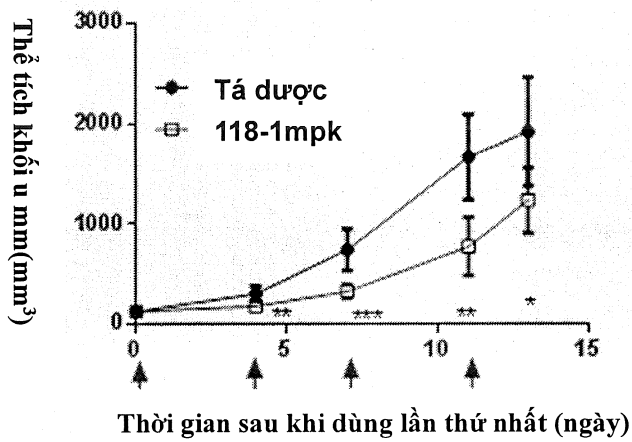


Fig. 11A

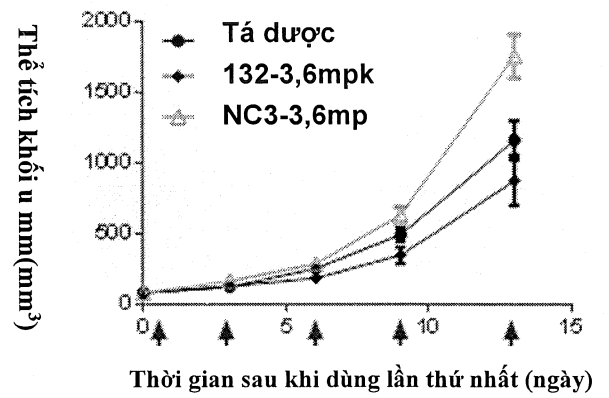


Fig. 11B

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO.,LTD.,
 SHANGHAI HENGRUI PHARMACEUTICAL CO.LTD.
 <120> KHÁNG THỂ LIÊN KẾT ĐẶC HIỆU VỚI CD3, DƯỢC PHẨM CHỨA NÓ VÀ PHƯƠNG PHÁP
 TẠO RA KHÁNG THỂ NÀY
 <150> 201811491781.3
 <151> 2018-12-7
 <160> 104
 <170> SIPOSequenceListing 1.0
 <210> 1
 <211> 439
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <221> PEPTIT
 <223> kháng nguyên B7H3 người để phát hiện
 <400> 1
 Leu Glu Val Gln Val Pro Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Gly Thr
 1 5 10 15
 Asp Ala Thr Leu Cys Cys Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu
 20 25 30
 Ala Gln Leu Asn Leu Ile Trp Gln Leu Thr Asp Thr Lys Gln Leu Val
 35 40 45
 His Ser Phe Ala Glu Gly Gln Asp Gln Gly Ser Ala Tyr Ala Asn Arg
 50 55 60
 Thr Ala Leu Phe Pro Asp Leu Leu Ala Gln Gly Asn Ala Ser Leu Arg
 65 70 75 80
 Leu Gln Arg Val Arg Val Ala Asp Glu Gly Ser Phe Thr Cys Phe Val
 85 90 95
 Ser Ile Arg Asp Phe Gly Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Tyr Ser Lys Pro Ser Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg
 115 120 125
 Pro Gly Asp Thr Val Thr Ile Thr Cys Ser Ser Tyr Gln Gly Tyr Pro
 130 135 140
 Glu Ala Glu Val Phe Trp Gln Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly
 145 150 155 160
 Asn Val Thr Thr Ser Gln Met Ala Asn Glu Gln Gly Leu Phe Asp Val
 165 170 175
 His Ser Ile Leu Arg Val Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys
 180 185 190
 Leu Val Arg Asn Pro Val Leu Gln Gln Asp Ala His Ser Ser Val Thr
 195 200 205
 Ile Thr Pro Gln Arg Ser Pro Thr Gly Ala Val Glu Val Gln Val Pro
 210 215 220
 Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Gly Thr Asp Ala Thr Leu Arg Cys
 225 230 235 240
 Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu Ala Gln Leu Asn Leu Ile

				245					250					255		
Trp	Gln	Leu	Thr	Asp	Thr	Lys	Gln	Leu	Val	His	Ser	Phe	Thr	Glu	Gly	
			260					265					270			
Arg	Asp	Gln	Gly	Ser	Ala	Tyr	Ala	Asn	Arg	Thr	Ala	Leu	Phe	Pro	Asp	
		275					280					285				
Leu	Leu	Ala	Gln	Gly	Asn	Ala	Ser	Leu	Arg	Leu	Gln	Arg	Val	Arg	Val	
	290				295						300					
Ala	Asp	Glu	Gly	Ser	Phe	Thr	Cys	Phe	Val	Ser	Ile	Arg	Asp	Phe	Gly	
305					310					315					320	
Ser	Ala	Ala	Val	Ser	Leu	Gln	Val	Ala	Ala	Pro	Tyr	Ser	Lys	Pro	Ser	
				325				330						335		
Met	Thr	Leu	Glu	Pro	Asn	Lys	Asp	Leu	Arg	Pro	Gly	Asp	Thr	Val	Thr	
			340					345					350			
Ile	Thr	Cys	Ser	Ser	Tyr	Arg	Gly	Tyr	Pro	Glu	Ala	Glu	Val	Phe	Trp	
		355					360					365				
Gln	Asp	Gly	Gln	Gly	Val	Pro	Leu	Thr	Gly	Asn	Val	Thr	Thr	Ser	Gln	
	370					375					380					
Met	Ala	Asn	Glu	Gln	Gly	Leu	Phe	Asp	Val	His	Ser	Val	Leu	Arg	Val	
385					390					395					400	
Val	Leu	Gly	Ala	Asn	Gly	Thr	Tyr	Ser	Cys	Leu	Val	Arg	Asn	Pro	Val	
				405				410						415		
Leu	Gln	Gln	Asp	Ala	His	Gly	Ser	Val	Thr	Ile	Thr	Gly	Gln	Pro	Met	
			420					425					430			
Thr	His	His	His	His	His	His										
			435													

<210> 2

<211> 443

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> kháng nguyên B7H3 khi để phát hiện

<400> 2

Leu	Glu	Val	Gln	Val	Pro	Glu	Asp	Pro	Val	Val	Ala	Leu	Val	Gly	Thr	
1				5					10					15		
Asp	Ala	Thr	Leu	Arg	Cys	Ser	Phe	Ser	Pro	Glu	Pro	Gly	Phe	Ser	Leu	
			20					25					30			
Ala	Gln	Leu	Asn	Leu	Ile	Trp	Gln	Leu	Thr	Asp	Thr	Lys	Gln	Leu	Val	
			35				40					45				
His	Ser	Phe	Thr	Glu	Gly	Arg	Asp	Gln	Gly	Ser	Ala	Tyr	Ala	Asn	Arg	
	50					55					60					
Thr	Ala	Leu	Phe	Leu	Asp	Leu	Leu	Ala	Gln	Gly	Asn	Ala	Ser	Leu	Arg	
65					70					75					80	
Leu	Gln	Arg	Val	Arg	Val	Ala	Asp	Glu	Gly	Ser	Phe	Thr	Cys	Phe	Val	
				85				90						95		
Ser	Ile	Arg	Asp	Phe	Gly	Ser	Ala	Ala	Val	Ser	Leu	Gln	Val	Ala	Ala	
			100					105					110			
Pro	Tyr	Ser	Lys	Pro	Ser	Met	Thr	Leu	Glu	Pro	Asn	Lys	Asp	Leu	Arg	
			115				120					125				
Pro	Gly	Asp	Thr	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Ser	Ser	Tyr	Arg	Gly	Tyr	Pro	
	130					135					140					
Glu	Ala	Glu	Val	Phe	Trp	Gln	Asp	Gly	Gln	Gly	Ala	Pro	Leu	Thr	Gly	

145					150				155				160
Asn	Val	Thr	Thr	Ser	Gln	Met	Ala	Asn	Glu	Gln	Gly	Leu	Phe
				165					170				175
His	Ser	Val	Leu	Arg	Val	Val	Leu	Gly	Ala	Asn	Gly	Thr	Tyr
			180					185					190
Leu	Val	Arg	Asn	Pro	Val	Leu	Gln	Gln	Asp	Ala	His	Gly	Ser
		195					200					205	
Ile	Thr	Pro	Gln	Arg	Ser	Pro	Thr	Gly	Ala	Val	Glu	Val	Gln
	210					215					220		
Glu	Asp	Pro	Val	Val	Ala	Leu	Val	Gly	Thr	Asp	Ala	Thr	Leu
225					230					235			Cys
Ser	Phe	Ser	Pro	Glu	Pro	Gly	Phe	Ser	Leu	Ala	Gln	Leu	Asn
				245					250				255
Trp	Gln	Leu	Thr	Asp	Thr	Lys	Gln	Leu	Val	His	Ser	Phe	Thr
			260					265					270
Arg	Asp	Gln	Gly	Ser	Ala	Tyr	Ala	Asn	Arg	Thr	Ala	Leu	Phe
	275						280					285	
Leu	Leu	Ala	Gln	Gly	Asn	Ala	Ser	Leu	Arg	Leu	Gln	Arg	Val
	290					295					300		
Ala	Asp	Glu	Gly	Ser	Phe	Thr	Cys	Phe	Val	Ser	Ile	Arg	Asp
305					310					315			Phe
Ser	Ala	Ala	Val	Ser	Leu	Gln	Val	Ala	Ala	Pro	Tyr	Ser	Lys
				325					330				335
Met	Thr	Leu	Glu	Pro	Asn	Lys	Asp	Leu	Arg	Pro	Gly	Asp	Thr
			340					345					350
Ile	Thr	Cys	Ser	Ser	Tyr	Arg	Gly	Tyr	Pro	Glu	Ala	Glu	Val
	355						360					365	
Gln	Asp	Gly	Gln	Gly	Ala	Pro	Leu	Thr	Gly	Asn	Val	Thr	Thr
	370					375					380		
Met	Ala	Asn	Glu	Gln	Gly	Leu	Phe	Asp	Val	His	Ser	Val	Leu
385					390					395			400
Val	Leu	Gly	Ala	Asn	Gly	Thr	Tyr	Ser	Cys	Leu	Val	Arg	Asn
				405					410				415
Leu	Gln	Gln	Asp	Ala	His	Gly	Ser	Val	Thr	Ile	Thr	Gly	Gln
			420					425					430
Thr	Phe	Pro	Pro	Glu	His	His	His	His	His	His			
		435					440						

<210> 3

<211> 222

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> kháng nguyên B7H3 chuột để phát hiện

<400> 3

Val	Glu	Val	Gln	Val	Ser	Glu	Asp	Pro	Val	Val	Ala	Leu	Val	Asp	Thr
1				5				10						15	
Asp	Ala	Thr	Leu	Arg	Cys	Ser	Phe	Ser	Pro	Glu	Pro	Gly	Phe	Ser	Leu
			20					25					30		
Ala	Gln	Leu	Asn	Leu	Ile	Trp	Gln	Leu	Thr	Asp	Thr	Lys	Gln	Leu	Val
		35				40						45			
His	Ser	Phe	Thr	Glu	Gly	Arg	Asp	Gln	Gly	Ser	Ala	Tyr	Ser	Asn	Arg
	50					55					60				

```

Thr Ala Leu Phe Pro Asp Leu Leu Val Gln Gly Asn Ala Ser Leu Arg
65          70          75          80
Leu Gln Arg Val Arg Val Thr Asp Glu Gly Ser Tyr Thr Cys Phe Val
          85          90          95
Ser Ile Gln Asp Phe Asp Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala
          100          105          110
Pro Tyr Ser Lys Pro Ser Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg
          115          120          125
Pro Gly Asn Met Val Thr Ile Thr Cys Ser Ser Tyr Gln Gly Tyr Pro
          130          135          140
Glu Ala Glu Val Phe Trp Lys Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly
145          150          155          160
Asn Val Thr Thr Ser Gln Met Ala Asn Glu Arg Gly Leu Phe Asp Val
          165          170          175
His Ser Val Leu Arg Val Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys
          180          185          190
Leu Val Arg Asn Pro Val Leu Gln Gln Asp Ala His Gly Ser Val Thr
          195          200          205
Ile Thr Gly Gln Pro Leu Thr Phe His His His His His His
          210          215          220

```

<210> 4

<211> 534

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> trình tự axit amin chiều dài hoàn chỉnh B7H3 người

<400> 4

```

Met Leu Arg Arg Arg Gly Ser Pro Gly Met Gly Val His Val Gly Ala
1          5          10          15
Ala Leu Gly Ala Leu Trp Phe Cys Leu Thr Gly Ala Leu Glu Val Gln
          20          25          30
Val Pro Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Gly Thr Asp Ala Thr Leu
          35          40          45
Cys Cys Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu Ala Gln Leu Asn
          50          55          60
Leu Ile Trp Gln Leu Thr Asp Thr Lys Gln Leu Val His Ser Phe Ala
65          70          75          80
Glu Gly Gln Asp Gln Gly Ser Ala Tyr Ala Asn Arg Thr Ala Leu Phe
          85          90          95
Pro Asp Leu Leu Ala Gln Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Gln Arg Val
          100          105          110
Arg Val Ala Asp Glu Gly Ser Phe Thr Cys Phe Val Ser Ile Arg Asp
          115          120          125
Phe Gly Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala Pro Tyr Ser Lys
          130          135          140
Pro Ser Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg Pro Gly Asp Thr
145          150          155          160
Val Thr Ile Thr Cys Ser Ser Tyr Gln Gly Tyr Pro Glu Ala Glu Val
          165          170          175
Phe Trp Gln Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly Asn Val Thr Thr
          180          185          190
Ser Gln Met Ala Asn Glu Gln Gly Leu Phe Asp Val His Ser Ile Leu

```

```

      195              200              205
Arg Val Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys Leu Val Arg Asn
    210              215              220
Pro Val Leu Gln Gln Asp Ala His Ser Ser Val Thr Ile Thr Pro Gln
225              230              235              240
Arg Ser Pro Thr Gly Ala Val Glu Val Gln Val Pro Glu Asp Pro Val
    245              250              255
Val Ala Leu Val Gly Thr Asp Ala Thr Leu Arg Cys Ser Phe Ser Pro
    260              265              270
Glu Pro Gly Phe Ser Leu Ala Gln Leu Asn Leu Ile Trp Gln Leu Thr
    275              280              285
Asp Thr Lys Gln Leu Val His Ser Phe Thr Glu Gly Arg Asp Gln Gly
    290              295              300
Ser Ala Tyr Ala Asn Arg Thr Ala Leu Phe Pro Asp Leu Leu Ala Gln
305              310              315              320
Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Gln Arg Val Arg Val Ala Asp Glu Gly
    325              330              335
Ser Phe Thr Cys Phe Val Ser Ile Arg Asp Phe Gly Ser Ala Ala Val
    340              345              350
Ser Leu Gln Val Ala Ala Pro Tyr Ser Lys Pro Ser Met Thr Leu Glu
    355              360              365
Pro Asn Lys Asp Leu Arg Pro Gly Asp Thr Val Thr Ile Thr Cys Ser
    370              375              380
Ser Tyr Arg Gly Tyr Pro Glu Ala Glu Val Phe Trp Gln Asp Gly Gln
385              390              395              400
Gly Val Pro Leu Thr Gly Asn Val Thr Thr Ser Gln Met Ala Asn Glu
    405              410              415
Gln Gly Leu Phe Asp Val His Ser Val Leu Arg Val Val Leu Gly Ala
    420              425              430
Asn Gly Thr Tyr Ser Cys Leu Val Arg Asn Pro Val Leu Gln Gln Asp
    435              440              445
Ala His Gly Ser Val Thr Ile Thr Gly Gln Pro Met Thr Phe Pro Pro
    450              455              460
Glu Ala Leu Trp Val Thr Val Gly Leu Ser Val Cys Leu Ile Ala Leu
465              470              475              480
Leu Val Ala Leu Ala Phe Val Cys Trp Arg Lys Ile Lys Gln Ser Cys
    485              490              495
Glu Glu Glu Asn Ala Gly Ala Glu Asp Gln Asp Gly Glu Gly Glu Gly
    500              505              510
Ser Lys Thr Ala Leu Gln Pro Leu Lys His Ser Asp Ser Lys Glu Asp
    515              520              525
Asp Gly Gln Glu Ile Ala
    530

```

```

<210> 5
<211> 534
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

```

<220>
<221> PEPTIT
<223> trình tự axit amin chiều dài hoàn chỉnh B7H3 khi

```

```

<400> 5
Met Leu His Arg Arg Gly Ser Pro Gly Met Gly Val His Val Gly Ala

```

1				5					10					15		
Ala	Leu	Gly	Ala	Leu	Trp	Phe	Cys	Leu	Thr	Gly	Ala	Leu	Glu	Val	Gln	
			20					25					30			
Val	Pro	Glu	Asp	Pro	Val	Val	Ala	Leu	Val	Gly	Thr	Asp	Ala	Thr	Leu	
		35					40					45				
Arg	Cys	Ser	Phe	Ser	Pro	Glu	Pro	Gly	Phe	Ser	Leu	Ala	Gln	Leu	Asn	
	50					55				60						
Leu	Ile	Trp	Gln	Leu	Thr	Asp	Thr	Lys	Gln	Leu	Val	His	Ser	Phe	Thr	
65					70					75					80	
Glu	Gly	Arg	Asp	Gln	Gly	Ser	Ala	Tyr	Ala	Asn	Arg	Thr	Ala	Leu	Phe	
			85						90					95		
Leu	Asp	Leu	Leu	Ala	Gln	Gly	Asn	Ala	Ser	Leu	Arg	Leu	Gln	Arg	Val	
			100					105					110			
Arg	Val	Ala	Asp	Glu	Gly	Ser	Phe	Thr	Cys	Phe	Val	Ser	Ile	Arg	Asp	
		115					120					125				
Phe	Gly	Ser	Ala	Ala	Val	Ser	Leu	Gln	Val	Ala	Ala	Pro	Tyr	Ser	Lys	
	130					135					140					
Pro	Ser	Met	Thr	Leu	Glu	Pro	Asn	Lys	Asp	Leu	Arg	Pro	Gly	Asp	Thr	
145					150					155					160	
Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Ser	Ser	Tyr	Arg	Gly	Tyr	Pro	Glu	Ala	Glu	Val	
				165					170					175		
Phe	Trp	Gln	Asp	Gly	Gln	Gly	Ala	Pro	Leu	Thr	Gly	Asn	Val	Thr	Thr	
			180				185					190				
Ser	Gln	Met	Ala	Asn	Glu	Gln	Gly	Leu	Phe	Asp	Val	His	Ser	Val	Leu	
	195						200					205				
Arg	Val	Val	Leu	Gly	Ala	Asn	Gly	Thr	Tyr	Ser	Cys	Leu	Val	Arg	Asn	
	210					215					220					
Pro	Val	Leu	Gln	Gln	Asp	Ala	His	Gly	Ser	Ile	Thr	Ile	Thr	Pro	Gln	
225					230					235					240	
Arg	Ser	Pro	Thr	Gly	Ala	Val	Glu	Val	Gln	Val	Pro	Glu	Asp	Pro	Val	
				245					250					255		
Val	Ala	Leu	Val	Gly	Thr	Asp	Ala	Thr	Leu	Arg	Cys	Ser	Phe	Ser	Pro	
			260					265					270			
Glu	Pro	Gly	Phe	Ser	Leu	Ala	Gln	Leu	Asn	Leu	Ile	Trp	Gln	Leu	Thr	
		275					280					285				
Asp	Thr	Lys	Gln	Leu	Val	His	Ser	Phe	Thr	Glu	Gly	Arg	Asp	Gln	Gly	
	290					295					300					
Ser	Ala	Tyr	Ala	Asn	Arg	Thr	Ala	Leu	Phe	Leu	Asp	Leu	Leu	Ala	Gln	
305					310					315					320	
Gly	Asn	Ala	Ser	Leu	Arg	Leu	Gln	Arg	Val	Arg	Val	Ala	Asp	Glu	Gly	
				325					330					335		
Ser	Phe	Thr	Cys	Phe	Val	Ser	Ile	Arg	Asp	Phe	Gly	Ser	Ala	Ala	Val	
			340					345					350			
Ser	Leu	Gln	Val	Ala	Ala	Pro	Tyr	Ser	Lys	Pro	Ser	Met	Thr	Leu	Glu	
		355					360					365				
Pro	Asn	Lys	Asp	Leu	Arg	Pro	Gly	Asp	Thr	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Ser	
	370					375						380				
Ser	Tyr	Arg	Gly	Tyr	Pro	Glu	Ala	Glu	Val	Phe	Trp	Gln	Asp	Gly	Gln	
385					390					395					400	
Gly	Ala	Pro	Leu	Thr	Gly	Asn	Val	Thr	Thr	Ser	Gln	Met	Ala	Asn	Glu	
				405					410					415		
Gln	Gly	Leu	Phe	Asp	Val	His	Ser	Val	Leu	Arg	Val	Val	Leu	Gly	Ala	
			420					425					430			
Asn	Gly	Thr	Tyr	Ser	Cys	Leu	Val	Arg	Asn	Pro	Val	Leu	Gln	Gln	Asp	
		435					440					445				
Ala	His	Gly	Ser	Val	Thr	Ile	Thr	Gly	Gln	Pro	Met	Thr	Phe	Pro	Pro	

```

      450                      455                      460
Glu Ala Leu Trp Val Thr Val Gly Leu Ser Val Cys Leu Val Ala Leu
465                      470                      475                      480
Leu Val Ala Leu Ala Phe Val Cys Trp Arg Lys Ile Lys Gln Ser Cys
      485                      490                      495
Glu Glu Glu Asn Ala Gly Ala Glu Asp Gln Asp Gly Glu Gly Glu Gly
      500                      505                      510
Ser Lys Thr Ala Leu Gln Pro Leu Lys His Ser Asp Ser Lys Glu Asp
      515                      520                      525
Asp Gly Gln Glu Leu Ala
      530

```

```

<210> 6
<211> 316
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

```

<220>
<221> PEPTIT
<223> trình tự axit amin chiều dài hoàn chỉnh B7H3 chuột

```

```

<400> 6
Met Leu Arg Gly Trp Gly Gly Pro Ser Val Gly Val Cys Val Arg Thr
1      5      10      15
Ala Leu Gly Val Leu Cys Leu Cys Leu Thr Gly Ala Val Glu Val Gln
      20      25      30
Val Ser Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Asp Thr Asp Ala Thr Leu
      35      40      45
Arg Cys Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu Ala Gln Leu Asn
      50      55      60
Leu Ile Trp Gln Leu Thr Asp Thr Lys Gln Leu Val His Ser Phe Thr
65      70      75      80
Glu Gly Arg Asp Gln Gly Ser Ala Tyr Ser Asn Arg Thr Ala Leu Phe
      85      90      95
Pro Asp Leu Leu Val Gln Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Gln Arg Val
      100     105     110
Arg Val Thr Asp Glu Gly Ser Tyr Thr Cys Phe Val Ser Ile Gln Asp
      115     120     125
Phe Asp Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala Pro Tyr Ser Lys
      130     135     140
Pro Ser Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg Pro Gly Asn Met
145     150     155     160
Val Thr Ile Thr Cys Ser Ser Tyr Gln Gly Tyr Pro Glu Ala Glu Val
      165     170     175
Phe Trp Lys Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly Asn Val Thr Thr
      180     185     190
Ser Gln Met Ala Asn Glu Arg Gly Leu Phe Asp Val His Ser Val Leu
      195     200     205
Arg Val Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys Leu Val Arg Asn
      210     215     220
Pro Val Leu Gln Gln Asp Ala His Gly Ser Val Thr Ile Thr Gly Gln
225     230     235     240
Pro Leu Thr Phe Pro Pro Glu Ala Leu Trp Val Thr Val Gly Leu Ser
      245     250     255
Val Cys Leu Val Val Leu Leu Val Ala Leu Ala Phe Val Cys Trp Arg

```

			260					265				270							
Lys	Ile	Lys	Gln	Ser	Cys	Glu	Glu	Glu	Asn	Ala	Gly	Ala	Glu	Asp	Gln				
		275					280					285							
Asp	Gly	Asp	Gly	Glu	Gly	Ser	Lys	Thr	Ala	Leu	Arg	Pro	Leu	Lys	Pro				
	290					295					300								
Ser	Glu	Asn	Lys	Glu	Asp	Asp	Gly	Gln	Glu	Ile	Ala								
305					310					315									

<210> 7
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> h1702 VH

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Thr				
1				5					10					15					
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ile	Phe	Ser	Ser	Ser				
			20					25					30						
Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val				
		35					40					45							
Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val				
	50					55					60								
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr				
65					70					75					80				
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
			85						90					95					
Ala	Arg	Ser	Ala	Arg	Leu	Tyr	Ala	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly				
			100					105					110						
Ala	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser													
			115																

<210> 8
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> h1702 VL

Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Phe	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Gly				
1				5					10					15					
Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Leu	Ser	Ser	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Ser				
			20					25					30						
His	Tyr	Pro	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Thr	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Met				
		35					40					45							
Leu	Ile	Tyr	Asn	Thr	Asn	Thr	Arg	Ser	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe				
	50					55					60								
Ser	Gly	Ser	Ile	Leu	Gly	Asn	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala				

65					70					75					80
Gln	Ala	Asp	Asp	Glu	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ile	His	Val	Asp	Arg
				85					90					95	
Asp	Ile	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu		
			100					105					110		

<210> 9
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> h1702 HCDR1

<400> 9
 Gly Phe Ile Phe Ser Ser Ser Ala
 1 5

<210> 10
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> h1702 HCDR2

<400> 10
 Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
 1 5

<210> 11
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> h1702 HCDR3

<400> 11
 Ala Arg Ser Ala Arg Leu Tyr Ala Ser Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 12
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> h1702 LCDR1

<400> 12
 Ser Gly Ser Val Ser Thr Ser His Tyr
 1 5

<210> 13
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> h1702 LCDR2

<400> 13
 Asn Thr Asn
 1

<210> 14
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> h1702 LCDR3

<400> 14
 Ala Ile His Val Asp Arg Asp Ile Trp Val
 1 5 10

<210> 15
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> B7H3 VH44C

<400> 15
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Thr
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Ser
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

			85						90					95		
Ala	Arg	Ser	Ala	Arg	Leu	Tyr	Ala	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	
			100					105					110			
Ala	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
			115													

<210> 16
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> B7H3 VL103C

<400>	16															
Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Phe	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	
1				5					10					15		
Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Leu	Ser	Ser	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Ser	
			20					25					30			
His	Tyr	Pro	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Thr	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Met	
		35					40					45				
Leu	Ile	Tyr	Asn	Thr	Asn	Thr	Arg	Ser	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	
	50					55					60					
Ser	Gly	Ser	Ile	Leu	Gly	Asn	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala	
65					70					75					80	
Gln	Ala	Asp	Asp	Glu	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ile	His	Val	Asp	Arg	
				85					90					95		
Asp	Ile	Trp	Val	Phe	Gly	Cys	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu			
			100					105					110			

<210> 17
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> Epsilon CD3 người

<400>	17															
Asp	Gly	Asn	Glu	Glu	Met	Gly	Gly	Ile	Thr	Gln	Thr	Pro	Tyr	Lys	Val	
1				5					10					15		
Ser	Ile	Ser	Gly	Thr	Thr	Val	Ile	Leu	Thr	Cys	Pro	Gln	Tyr	Pro	Gly	
			20					25					30			
Ser	Glu	Ile	Leu	Trp	Gln	His	Asn	Asp	Lys	Asn	Ile	Gly	Gly	Asp	Glu	
			35				40					45				
Asp	Asp	Lys	Asn	Ile	Gly	Ser	Asp	Glu	Asp	His	Leu	Ser	Leu	Lys	Glu	
			50			55					60					
Phe	Ser	Glu	Leu	Glu	Gln	Ser	Gly	Tyr	Tyr	Val	Cys	Tyr	Pro	Arg	Gly	
65					70					75					80	
Ser	Lys	Pro	Glu	Asp	Ala	Asn	Phe	Tyr	Leu	Tyr	Leu	Arg	Ala	Arg	Val	
				85					90					95		
Cys	Glu	Asn	Cys	Met	Glu	Met	Asp	His	His	His	His	His	His			
			100					105					110			

<210> 18
 <211> 92
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> Delta CD3 người

<400> 18
 Phe Lys Ile Pro Ile Glu Glu Leu Glu Asp Arg Val Phe Val Asn Cys
 1 5 10 15
 Asn Thr Ser Ile Thr Trp Val Glu Gly Thr Val Gly Thr Leu Leu Ser
 20 25 30
 Asp Ile Thr Arg Leu Asp Leu Gly Lys Arg Ile Leu Asp Pro Arg Gly
 35 40 45
 Ile Tyr Arg Cys Asn Gly Thr Asp Ile Tyr Lys Asp Lys Glu Ser Thr
 50 55 60
 Val Gln Val His Tyr Arg Met Cys Gln Ser Cys Val Glu Leu Asp Pro
 65 70 75 80
 Ala Thr Val Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys
 85 90

<210> 19
 <211> 102
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> epsilon CD3 khi

<400> 19
 Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Ser Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Gln
 1 5 10 15
 Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr Cys Ser Gln His Leu
 20 25 30
 Gly Ser Glu Ala Gln Trp Gln His Asn Gly Lys Asn Lys Glu Asp Ser
 35 40 45
 Gly Asp Arg Leu Phe Leu Pro Glu Phe Ser Glu Met Glu Gln Ser Gly
 50 55 60
 Tyr Tyr Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Asn Pro Glu Asp Ala Ser His
 65 70 75 80
 His Leu Tyr Leu Lys Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp
 85 90 95
 His His His His His His
 100

<210> 20
 <211> 92
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> delta CD3 khi

<400> 20
 Phe Lys Ile Pro Val Glu Glu Leu Glu Asp Arg Val Phe Val Lys Cys
 1 5 10 15
 Asn Thr Ser Val Thr Trp Val Glu Gly Thr Val Gly Thr Leu Leu Thr
 20 25 30
 Asn Asn Thr Arg Leu Asp Leu Gly Lys Arg Ile Leu Asp Pro Arg Gly
 35 40 45
 Ile Tyr Arg Cys Asn Gly Thr Asp Ile Tyr Lys Asp Lys Glu Ser Ala
 50 55 60
 Val Gln Val His Tyr Arg Met Cys Gln Asn Cys Val Glu Leu Asp Pro
 65 70 75 80
 Ala Thr Leu Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 85 90

<210> 21
 <211> 93
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> epsilon CD3 chuột

<400> 21
 Asp Asp Ala Glu Asn Ile Glu Tyr Lys Val Ser Ile Ser Gly Thr Ser
 1 5 10 15
 Val Glu Leu Thr Cys Pro Leu Asp Ser Asp Glu Asn Leu Lys Trp Glu
 20 25 30
 Lys Asn Gly Gln Glu Leu Pro Gln Lys His Asp Lys His Leu Val Leu
 35 40 45
 Gln Asp Phe Ser Glu Val Glu Asp Ser Gly Tyr Tyr Val Cys Tyr Thr
 50 55 60
 Pro Ala Ser Asn Lys Asn Thr Tyr Leu Tyr Leu Lys Ala Arg Val Cys
 65 70 75 80
 Glu Tyr Cys Val Glu Val Asp His His His His His
 85 90

<210> 22
 <211> 92
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> delta CD3 chuột

<400> 22
 Phe Lys Ile Gln Val Thr Glu Tyr Glu Asp Lys Val Phe Val Thr Cys
 1 5 10 15

Asn	Thr	Ser	Val	Met	His	Leu	Asp	Gly	Thr	Val	Glu	Gly	Trp	Phe	Ala		
			20					25					30				
Lys	Asn	Lys	Thr	Leu	Asn	Leu	Gly	Lys	Gly	Val	Leu	Asp	Pro	Arg	Gly		
		35					40					45					
Ile	Tyr	Leu	Cys	Asn	Gly	Thr	Glu	Gln	Leu	Ala	Lys	Val	Val	Ser	Ser		
	50					55					60						
Val	Gln	Val	His	Tyr	Arg	Met	Cys	Gln	Asn	Cys	Val	Glu	Leu	Asp	Ser		
65					70					75					80		
Gly	Thr	Met	Ala	Asp	Tyr	Lys	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys						
				85					90								

<210> 23
 <211> 207
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> trình tự axit amin chiều dài hoàn chỉnh epsilon CD3 người

Met	Gln	Ser	Gly	Thr	His	Trp	Arg	Val	Leu	Gly	Leu	Cys	Leu	Leu	Ser		
1				5					10					15			
Val	Gly	Val	Trp	Gly	Gln	Asp	Gly	Asn	Glu	Glu	Met	Gly	Gly	Ile	Thr		
			20					25					30				
Gln	Thr	Pro	Tyr	Lys	Val	Ser	Ile	Ser	Gly	Thr	Thr	Val	Ile	Leu	Thr		
			35				40					45					
Cys	Pro	Gln	Tyr	Pro	Gly	Ser	Glu	Ile	Leu	Trp	Gln	His	Asn	Asp	Lys		
	50					55					60						
Asn	Ile	Gly	Gly	Asp	Glu	Asp	Asp	Lys	Asn	Ile	Gly	Ser	Asp	Glu	Asp		
65				70						75					80		
His	Leu	Ser	Leu	Lys	Glu	Phe	Ser	Glu	Leu	Glu	Gln	Ser	Gly	Tyr	Tyr		
				85				90						95			
Val	Cys	Tyr	Pro	Arg	Gly	Ser	Lys	Pro	Glu	Asp	Ala	Asn	Phe	Tyr	Leu		
			100					105					110				
Tyr	Leu	Arg	Ala	Arg	Val	Cys	Glu	Asn	Cys	Met	Glu	Met	Asp	Val	Met		
		115					120					125					
Ser	Val	Ala	Thr	Ile	Val	Ile	Val	Asp	Ile	Cys	Ile	Thr	Gly	Gly	Leu		
	130					135					140						
Leu	Leu	Leu	Val	Tyr	Tyr	Trp	Ser	Lys	Asn	Arg	Lys	Ala	Lys	Ala	Lys		
145					150					155					160		
Pro	Val	Thr	Arg	Gly	Ala	Gly	Ala	Gly	Gly	Arg	Gln	Arg	Gly	Gln	Asn		
				165				170						175			
Lys	Glu	Arg	Pro	Pro	Pro	Val	Pro	Asn	Pro	Asp	Tyr	Glu	Pro	Ile	Arg		
			180					185					190				
Lys	Gly	Gln	Arg	Asp	Leu	Tyr	Ser	Gly	Leu	Asn	Gln	Arg	Arg	Ile			
		195					200					205					

<210> 24
 <211> 171
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT

<223> trình tự axit amin chiều dài hoàn chỉnh delta CD3 người

<400> 24

```

Met Glu His Ser Thr Phe Leu Ser Gly Leu Val Leu Ala Thr Leu Leu
1      5      10      15
Ser Gln Val Ser Pro Phe Lys Ile Pro Ile Glu Glu Leu Glu Asp Arg
20      25      30
Val Phe Val Asn Cys Asn Thr Ser Ile Thr Trp Val Glu Gly Thr Val
35      40      45
Gly Thr Leu Leu Ser Asp Ile Thr Arg Leu Asp Leu Gly Lys Arg Ile
50      55      60
Leu Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Arg Cys Asn Gly Thr Asp Ile Tyr Lys
65      70      75      80
Asp Lys Glu Ser Thr Val Gln Val His Tyr Arg Met Cys Gln Ser Cys
85      90      95
Val Glu Leu Asp Pro Ala Thr Val Ala Gly Ile Ile Val Thr Asp Val
100      105      110
Ile Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Gly Val Phe Cys Phe Ala Gly His
115      120      125
Glu Thr Gly Arg Leu Ser Gly Ala Ala Asp Thr Gln Ala Leu Leu Arg
130      135      140
Asn Asp Gln Val Tyr Gln Pro Leu Arg Asp Arg Asp Asp Ala Gln Tyr
145      150      155      160
Ser His Leu Gly Gly Asn Trp Ala Arg Asn Lys
165      170

```

<210> 25

<211> 198

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> trình tự axit amin chiều dài hoàn chỉnh epsilon CD3 khỉ

<400> 25

```

Met Gln Ser Gly Thr Arg Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys Leu Leu Ser
1      5      10      15
Ile Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Ser Ile Thr
20      25      30
Gln Thr Pro Tyr Gln Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr
35      40      45
Cys Ser Gln His Leu Gly Ser Glu Ala Gln Trp Gln His Asn Gly Lys
50      55      60
Asn Lys Glu Asp Ser Gly Asp Arg Leu Phe Leu Pro Glu Phe Ser Glu
65      70      75      80
Met Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Asn Pro
85      90      95
Glu Asp Ala Ser His His Leu Tyr Leu Lys Ala Arg Val Cys Glu Asn
100      105      110
Cys Met Glu Met Asp Val Met Ala Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp
115      120      125
Ile Cys Ile Thr Leu Gly Leu Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys
130      135      140

```

```

Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly
145          150          155          160
Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn
          165          170          175
Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg Lys Gly Gln Gln Asp Leu Tyr Ser Gly
          180          185          190
Leu Asn Gln Arg Arg Ile
          195

```

```

<210> 26
<211> 171
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

```

<220>
<221> PEPTIT
<223> trình tự axit amin chiều dài hoàn chỉnh delta CD3 khi

```

```

<400> 26
Met Glu His Ser Thr Phe Leu Ser Gly Leu Val Leu Ala Thr Leu Leu
1          5          10          15
Ser Gln Val Ser Pro Phe Lys Ile Pro Val Glu Glu Leu Glu Asp Arg
          20          25          30
Val Phe Val Lys Cys Asn Thr Ser Val Thr Trp Val Glu Gly Thr Val
          35          40          45
Gly Thr Leu Leu Thr Asn Asn Thr Arg Leu Asp Leu Gly Lys Arg Ile
          50          55          60
Leu Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Arg Cys Asn Gly Thr Asp Ile Tyr Lys
65          70          75          80
Asp Lys Glu Ser Ala Val Gln Val His Tyr Arg Met Cys Gln Asn Cys
          85          90          95
Val Glu Leu Asp Pro Ala Thr Leu Ala Gly Ile Ile Val Thr Asp Val
          100          105          110
Ile Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Gly Val Phe Cys Phe Ala Gly His
          115          120          125
Glu Thr Gly Arg Leu Ser Gly Ala Ala Asp Thr Gln Ala Leu Leu Arg
          130          135          140
Asn Asp Gln Val Tyr Gln Pro Leu Arg Asp Arg Asp Asp Ala Gln Tyr
145          150          155          160
Ser Arg Leu Gly Gly Asn Trp Ala Arg Asn Lys
          165          170

```

```

<210> 27
<211> 189
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

```

<220>
<221> PEPTIT
<223> trình tự axit amin chiều dài hoàn chỉnh epsilon CD3 chuột

```

```

<400> 27
Met Arg Trp Asn Thr Phe Trp Gly Ile Leu Cys Leu Ser Leu Leu Ala
1          5          10          15

```

```

Val Gly Thr Cys Gln Asp Asp Ala Glu Asn Ile Glu Tyr Lys Val Ser
                20                25                30
Ile Ser Gly Thr Ser Val Glu Leu Thr Cys Pro Leu Asp Ser Asp Glu
                35                40                45
Asn Leu Lys Trp Glu Lys Asn Gly Gln Glu Leu Pro Gln Lys His Asp
                50                55                60
Lys His Leu Val Leu Gln Asp Phe Ser Glu Val Glu Asp Ser Gly Tyr
65                70                75                80
Tyr Val Cys Tyr Thr Pro Ala Ser Asn Lys Asn Thr Tyr Leu Tyr Leu
                85                90                95
Lys Ala Arg Val Cys Glu Tyr Cys Val Glu Val Asp Leu Thr Ala Val
                100                105                110
Ala Ile Ile Ile Ile Val Asp Ile Cys Ile Thr Leu Gly Leu Leu Met
                115                120                125
Val Ile Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys Pro Val
130                135                140
Thr Arg Gly Thr Gly Ala Gly Ser Arg Pro Arg Gly Gln Asn Lys Glu
145                150                155                160
Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg Lys Gly
                165                170                175
Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Ala Val
                180                185

```

<210> 28

<211> 173

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> trình tự axit amin chiều dài hoàn chỉnh delta CD3 chuột

<400> 28

```

Met Glu His Ser Gly Ile Leu Ala Ser Leu Ile Leu Ile Ala Val Leu
1                5                10                15
Pro Gln Gly Ser Pro Phe Lys Ile Gln Val Thr Glu Tyr Glu Asp Lys
                20                25                30
Val Phe Val Thr Cys Asn Thr Ser Val Met His Leu Asp Gly Thr Val
                35                40                45
Glu Gly Trp Phe Ala Lys Asn Lys Thr Leu Asn Leu Gly Lys Gly Val
50                55                60
Leu Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Leu Cys Asn Gly Thr Glu Gln Leu Ala
65                70                75                80
Lys Val Val Ser Ser Val Gln Val His Tyr Arg Met Cys Gln Asn Cys
                85                90                95
Val Glu Leu Asp Ser Gly Thr Met Ala Gly Val Ile Phe Ile Asp Leu
100                105                110
Ile Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Gly Val Tyr Cys Phe Ala Gly His
115                120                125
Glu Thr Gly Arg Pro Ser Gly Ala Ala Glu Val Gln Ala Leu Leu Lys
130                135                140
Asn Glu Gln Leu Tyr Gln Pro Leu Arg Asp Arg Glu Asp Thr Gln Tyr
145                150                155                160
Ser Arg Leu Gly Gly Asn Trp Pro Arg Asn Lys Lys Ser
                165                170

```

<210> 29
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> HRH-1

<400> 29
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 30
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> HRH-2

<400> 30
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Pro Tyr Ile Ser Tyr Trp
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 31
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> HRH-3

<400> 31
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Glu Tyr Ile Ser Tyr Trp
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 32
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> HRH-4

<400> 32
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 33
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> HRH-5

<400> 33
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 34
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> HRH-6

<400> 34
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Arg Asn Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Glu Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 35
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> HRH-7

<400> 35
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Glu Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 36
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> HRL

<400> 36
 Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
 20 25 30
 Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 37

<211> 5
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> HRH-1 HCDR1

<400> 37
 Lys Tyr Ala Met Asn
 1 5

<210> 38
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> HRH-1 HCDR2

<400> 38
 Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
 1 5 10 15
 Val Lys Asp

<210> 39
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> HRH-1 HCDR3

<400> 39
 His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr
 1 5 10

<210> 40
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> HRH-2 HCDR2

<400> 40
 Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
 1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 41
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> HRH-2 HCDR3

<400> 41
 His Gly Asn Phe Gly Asn Pro Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr
 1 5 10

<210> 42
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> HRH-3 HCDR3

<400> 42
 His Gly Asn Phe Gly Asn Glu Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr
 1 5 10

<210> 43
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> HRH-4 HCDR3

<400> 43
 His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Asp Tyr
 1 5 10

<210> 44
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> KHU VỰC
 <223> HRH-5 HCDR1

<400> 44

Lys Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 45
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> KHU VỰC
<223> HRH-5 HCDR3

<400> 45
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr
1 5 10

<210> 46
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> KHU VỰC
<223> HRH-6 HCDR2

<400> 46
Arg Ile Arg Asn Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Glu Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15
Val Lys Asp

<210> 47
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> KHU VỰC
<223> HRH-7 HCDR2

<400> 47
Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Glu Tyr Ala Ala Ser
1 5 10 15
Val Lys Asp

<210> 48
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> KHU VỰC

<223> HRL LCDR1

<400> 48

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
1 5 10

<210> 49

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> KHU VỰC

<223> HRL LCDR2

<400> 49

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro
1 5

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> KHU VỰC

<223> HRL LCDR3

<400> 50

Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
1 5

<210> 51

<211> 244

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> B7H3-scFv1

<400> 51

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser Gly Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30
His Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Met
35 40 45
Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Thr Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

```

Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65      70      75      80
Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Ala Ile His Val Asp Arg
      85      90      95
Asp Ile Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
      100      105      110
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
      115      120      125
Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Thr Ser Leu Arg
      130      135      140
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Ser Ala Met His
145      150      155      160
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile
      165      170      175
Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg
      180      185      190
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
      195      200      205
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser
      210      215      220
Ala Arg Leu Tyr Ala Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ala Leu Val
225      230      235      240
Thr Val Ser Ser

```

```

<210> 52
<211> 244
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

```

<220>
<221> PEPTIT
<223> B7H3-scFv2

```

```

<400> 52
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Thr
1      5      10      15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Ser
      20      25      30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35      40      45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
      50      55      60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65      70      75      80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85      90      95
Ala Arg Ser Ala Arg Leu Tyr Ala Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
      100      105      110
Ala Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
      115      120      125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe
      130      135      140
Ser Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser
145      150      155      160

```

```

Gly Ser Val Ser Thr Ser His Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro
                165                170                175
Gly Gln Ala Pro Arg Met Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Thr Arg Ser Ser
                180                185                190
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala
                195                200                205
Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys
                210                215                220
Ala Ile His Val Asp Arg Asp Ile Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225                230                235                240
Leu Thr Val Leu

```

```

<210> 53
<211> 244
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

```

<220>
<221> PEPTIT
<223> B7H3-scFv3

```

```

<400> 53
Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
1                5                10                15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser Gly Ser Val Ser Thr Ser
                20                25                30
His Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Met
                35                40                45
Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Thr Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
                50                55                60
Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65                70                75                80
Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Ala Ile His Val Asp Arg
                85                90                95
Asp Ile Trp Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
                100                105                110
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
                115                120                125
Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Thr Ser Leu Arg
                130                135                140
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Ser Ala Met His
145                150                155                160
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val Ala Val Ile
                165                170                175
Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg
                180                185                190
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
                195                200                205
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser
                210                215                220
Ala Arg Leu Tyr Ala Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ala Leu Val
225                230                235                240
Thr Val Ser Ser

```

<210> 54
 <211> 244
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> B7H3-scFv4

<400> 54
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Thr
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Ser
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Ala Arg Leu Tyr Ala Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Ala Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe
 130 135 140
 Ser Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser
 145 150 155 160
 Gly Ser Val Ser Thr Ser His Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro
 165 170 175
 Gly Gln Ala Pro Arg Met Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Thr Arg Ser Ser
 180 185 190
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala
 195 200 205
 Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys
 210 215 220
 Ala Ile His Val Asp Arg Asp Ile Trp Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys
 225 230 235 240
 Leu Thr Val Leu

<210> 55
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> CD3-scFv1H

<400> 55

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1      5      10      15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
20      25      30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35      40      45
Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50      55      60
Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65      70      75      80
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85      90      95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
100     105     110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115     120     125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
130     135     140
Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145     150     155     160
Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
165     170     175
Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
180     185     190
Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195     200     205
Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
210     215     220
Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225     230     235     240
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

```

<210> 56
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> CD3-scFv2H

```

<400> 56
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1      5      10      15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
20      25      30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35      40      45
Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50      55      60
Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65      70      75      80
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85      90      95

```

```

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Pro Tyr Ile Ser Tyr Trp
      100      105      110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
      115      120      125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
      130      135      140
Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145      150      155      160
Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
      165      170      175
Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
      180      185      190
Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
      195      200      205
Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
      210      215      220
Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225      230      235      240
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
      245

```

```

<210> 57
<211> 249
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

```

<220>
<221> PEPTIT
<223> CD3-scFv3H

```

```

<400> 57
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1      5      10      15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
      20      25      30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35      40      45
Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
      50      55      60
Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65      70      75      80
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
      85      90      95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Glu Tyr Ile Ser Tyr Trp
      100      105      110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
      115      120      125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
      130      135      140
Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145      150      155      160
Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
      165      170      175
Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
      180      185      190

```

```

Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
      195      200      205
Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
      210      215      220
Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225      230      235      240
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
      245

```

```

<210> 58
<211> 249
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

```

<220>
<221> PEPTIT
<223> CD3-scFv4H

```

```

<400> 58
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1      5      10      15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
      20      25      30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35      40      45
Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
      50      55      60
Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65      70      75      80
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
      85      90      95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
      100      105      110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
      115      120      125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
      130      135      140
Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145      150      155      160
Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
      165      170      175
Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
      180      185      190
Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
      195      200      205
Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
      210      215      220
Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225      230      235      240
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
      245

```

```

<210> 59
<211> 249
<212> PRT

```

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> CD3-scFv5H

<400> 59

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr
			20					25					30		
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp
	50					55				60					
Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr
65				70					75						80
Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
				85				90						95	
Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp
			100					105					110		
Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly
		115					120					125			
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val
	130					135					140				
Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu
145					150					155					160
Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn
				165					170					175	
Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly
			180					185					190		
Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu
		195					200					205			
Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp
	210					215					220				
Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe
225					230					235					240
Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu							
				245											

<210> 60

<211> 249

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> CD3-scFv6H

<400> 60

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr
			20					25					30		

Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Arg	Ile	Arg	Asn	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Glu	Tyr	Ala	Asp
	50					55				60					
Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr
65					70					75					80
Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
				85					90					95	
Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp
			100					105					110		
Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly
		115					120					125			
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val
	130					135					140				
Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu
145					150					155					160
Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn
				165					170					175	
Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly
			180					185					190		
Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu
		195					200					205			
Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp
	210					215					220				
Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe
225					230					235					240
Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu							
				245											

<210> 61
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> CD3-scFv7H

<400>	61														
Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1			5						10					15	
Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr
		20						25					30		
Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Glu	Tyr	Ala	Ala
	50					55				60					
Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr
65					70					75					80
Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
				85					90					95	
Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp
			100					105					110		
Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly
		115					120					125			

```

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
 130      135      140
Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145      150      155      160
Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
      165      170      175
Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
      180      185      190
Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
      195      200      205
Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
      210      215      220
Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225      230      235      240
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
      245

```

```

<210> 62
<211> 249
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

```

<220>
<221> PEPTIT
<223> CD3-scFv1L

```

```

<400> 62
Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1      5      10      15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
      20      25      30
Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
      35      40      45
Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
      50      55      60
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65      70      75      80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
      85      90      95
Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
      100      105      110
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
      115      120      125
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
      130      135      140
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
145      150      155      160
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
      165      170      175
Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
      180      185      190
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
      195      200      205
Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
      210      215      220

```

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
 225 230 235 240
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 245

<210> 63
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> CD3-scFv2L

<400> 63
 Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
 20 25 30
 Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
 100 105 110
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
 115 120 125
 Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
 130 135 140
 Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
 145 150 155 160
 Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
 165 170 175
 Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
 180 185 190
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
 195 200 205
 Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
 210 215 220
 His Gly Asn Phe Gly Asn Pro Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
 225 230 235 240
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 245

<210> 64
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT

<223> CD3-scFv3L

<400> 64

Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly
			20					25					30		
Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly
		35					40					45			
Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val
65					70					75					80
Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn
				85					90					95	
Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly
			100					105					110		
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu
		115					120					125			
Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu
	130					135					140				
Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp
145					150					155					160
Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg
				165					170					175	
Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp
			180					185					190		
Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln
		195					200					205			
Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg
	210					215					220				
His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Glu	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly
225					230					235					240
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser							
				245											

<210> 65

<211> 249

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> CD3-scFv4L

<400> 65

Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly
			20					25					30		
Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly
		35					40					45			
Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe
	50					55					60				

```

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65      70      75      80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
      85      90      95
Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
      100      105      110
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
      115      120      125
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
      130      135      140
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
145      150      155      160
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
      165      170      175
Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
      180      185      190
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
      195      200      205
Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
      210      215      220
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Asp Tyr Trp Gly
225      230      235      240
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
      245

```

```

<210> 66
<211> 249
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

```

<220>
<221> PEPTIT
<223> CD3-scFv5L

```

```

<400> 66
Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1      5      10      15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
      20      25      30
Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
      35      40      45
Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
      50      55      60
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65      70      75      80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
      85      90      95
Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
      100      105      110
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
      115      120      125
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
      130      135      140
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Ser Trp
145      150      155      160

```

Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg		
				165					170					175			
Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp		
			180					185					190				
Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln		
		195					200					205					
Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg		
	210					215					220						
His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly		
225					230					235					240		
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
				245													

<210> 67
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> CD3-scFv6L

<400> 67

Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly		
1				5					10					15			
Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly		
			20					25					30				
Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly		
		35					40					45					
Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe		
	50					55					60						
Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val		
65					70					75					80		
Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn		
				85					90					95			
Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly		
			100					105					110				
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu		
	115						120					125					
Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu		
	130					135					140						
Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp		
145					150				155						160		
Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg		
				165					170					175			
Asn	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Glu	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp		
			180					185					190				
Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln		
		195					200					205					
Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg		
	210					215					220						
His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly		
225					230					235					240		
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
				245													

<210> 68
 <211> 249
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> CD3-scFv7L

<400> 68
 Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
 20 25 30
 Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
 100 105 110
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
 115 120 125
 Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
 130 135 140
 Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
 145 150 155 160
 Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
 165 170 175
 Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Glu Tyr Ala Ala Ser Val Lys Asp
 180 185 190
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
 195 200 205
 Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
 210 215 220
 His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
 225 230 235 240
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 245

<210> 69
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> knob-Fc

<400> 69

Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
1				5					10					15	
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val
			20					25					30		
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr
		35					40					45			
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
	50					55					60				
Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
65					70					75				80	
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
				85					90					95	
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
			100					105					110		
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Glu	Glu	Met
		115					120					125			
Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
	130					135					140				
Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
145					150					155				160	
Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
				165				170						175	
Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
			180				185						190		
Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln
		195					200					205			
Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys							
	210					215									

<210> 70

<211> 217

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> hole-Fc

<400> 70

Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
1				5					10					15	
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val
			20					25					30		
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr
		35					40					45			
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
	50					55					60				
Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
65					70					75				80	
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
				85					90					95	
Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
			100					105					110		
Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met
		115					120					125			

```

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
    130                135                140
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145                150                155                160
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
                165                170                175
Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
                180                185                190
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
    195                200                205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
    210                215

```

```

<210> 71
<211> 474
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

```

<220>
<221> PEPTIT
<223> chuỗi polypeptit thứ hai 113

```

```

<400> 71
Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
1      5      10      15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser Gly Ser Val Ser Thr Ser
    20      25      30
His Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Met
    35      40      45
Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Thr Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
    50      55      60
Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65      70      75      80
Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Ala Ile His Val Asp Arg
    85      90      95
Asp Ile Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
    100     105     110
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
    115     120     125
Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Thr Ser Leu Arg
    130     135     140
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Ser Ala Met His
145     150     155     160
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile
    165     170     175
Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg
    180     185     190
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
    195     200     205
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser
    210     215     220
Ala Arg Leu Tyr Ala Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ala Leu Val
225     230     235     240
Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
    245     250     255

```

```

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
      260      265
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
      275      280      285
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Phe Asn Trp
      290      295      300
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
305      310      315      320
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
      325      330      335
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
      340      345      350
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
      355      360      365
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
      370      375      380
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
385      390      395      400
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
      405      410      415
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
      420      425      430
Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
      435      440      445
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
      450      455      460
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465      470

```

```

<210> 72
<211> 734
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

```

<220>
<221> PEPTIT
<223> chuỗi polypeptit thứ nhất 113

```

```

<400> 72
Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
1      5      10      15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser Gly Ser Val Ser Thr Ser
      20      25      30
His Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Met
      35      40      45
Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Thr Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
      50      55      60
Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65      70      75      80
Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Ala Ile His Val Asp Arg
      85      90      95
Asp Ile Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
      100      105      110
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln

```

		115					120				125				
Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Thr	Ser	Leu	Arg
	130					135					140				
Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ile	Phe	Ser	Ser	Ser	Ala	Met	His
145					150					155					160
Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Val	Ile
				165					170					175	
Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg
			180					185					190		
Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met
		195					200					205			
Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Ser
	210					215					220				
Ala	Arg	Leu	Tyr	Ala	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Ala	Leu	Val
225					230					235					240
Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser
				245					250					255	
Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala
			260					265					270		
Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln
		275					280					285			
Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr
	290					295					300				
Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr
305					310					315					320
Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn
			325					330						335	
Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn
			340					345					350		
Phe	Gly	Asn	Pro	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
		355					360					365			
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
	370					375					380				
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr
385					390					395					400
Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly
			405						410					415	
Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly
			420					425					430		
Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly
	435						440					445			
Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu
	450					455					460				
Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val
465					470					475					480
Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr
			485						490					495	
Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala
			500					505					510		
Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro
	515						520					525			
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val
	530					535					540				
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val
545					550					555					560
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln

				565					570				575				
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln		
			580					585					590				
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala		
	595						600					605					
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro		
	610					615					620						
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Glu	Glu	Met	Thr		
625					630					635					640		
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser		
				645					650					655			
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr		
			660					665					670				
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr		
	675						680					685					
Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe		
	690					695					700						
Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys		
705					710					715					720		
Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	His	His	His	His	His	His				
				725					730								

<210> 73

<211> 734

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> chuỗi polypeptit thứ nhất 118

<400> 73

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly		
1				5					10					15			
Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr		
			20					25					30				
Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val		
	35					40						45					
Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp		
	50					55				60							
Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr		
65					70				75					80			
Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr		
				85					90					95			
Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Glu	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp		
			100					105					110				
Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly		
	115						120					125					
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val		
	130					135					140						
Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu		
145					150					155					160		
Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn		
				165					170					175			

Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly
			180					185					190		
Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu
		195					200					205			
Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp
	210					215					220				
Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe
225					230					235					240
Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr
				245					250					255	
Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Phe	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val
			260					265					270		
Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Leu	Ser	Ser	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Ser	His	Tyr
		275					280					285			
Pro	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Thr	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Met	Leu	Ile
	290					295					300				
Tyr	Asn	Thr	Asn	Thr	Arg	Ser	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly
305					310					315					320
Ser	Ile	Leu	Gly	Asn	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala	Gln	Ala
				325					330					335	
Asp	Asp	Glu	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ile	His	Val	Asp	Arg	Asp	Ile
		340						345					350		
Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly
		355					360					365			
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Val
	370					375					380				
Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Thr	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser
385					390					395					400
Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ile	Phe	Ser	Ser	Ser	Ala	Met	His	Trp	Val
				405					410					415	
Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Val	Ile	Ser	Tyr
			420					425					430		
Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr
		435					440					445			
Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser
	450					455					460				
Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Ser	Ala	Arg
465					470					475					480
Leu	Tyr	Ala	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Ala	Leu	Val	Thr	Val
				485					490					495	
Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala
		500						505					510		
Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro
		515					520					525			
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val
	530					535					540				
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val
545					550					555					560
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln
				565					570					575	
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln
			580					585					590		
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala
		595					600					605			
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro
	610					615					620				

```

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr
625          630          635          640
Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
          645          650          655
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
          660          665          670
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
          675          680          685
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
          690          695          700
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
705          710          715          720
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys His His His His His His
          725          730

```

```

<210> 74
<211> 732
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

```

<220>
<221> PEPTIT
<223> chuỗi polypeptit thứ nhất 119

```

```

<400> 74
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1          5          10          15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
          20          25          30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
          35          40          45
Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
          50          55          60
Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65          70          75          80
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
          85          90          95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Glu Tyr Ile Ser Tyr Trp
          100          105          110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
          115          120          125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gln Thr Val Val Thr Gln
          130          135          140
Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys
145          150          155          160
Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val
          165          170          175
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys
          180          185          190
Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly
          195          200          205
Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala
210          215          220
Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly

```

225					230					235				240
Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val
				245					250					255
Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Phe	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr
			260					265					270	Leu
Thr	Cys	Gly	Leu	Ser	Ser	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Ser	His	Tyr	Pro
		275					280					285		Ser
Trp	Tyr	Gln	Gln	Thr	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Met	Leu	Ile	Tyr
	290					295					300			Asn
Thr	Asn	Thr	Arg	Ser	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser
305					310					315				Ile
Leu	Gly	Asn	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala	Gln	Ala	Asp
				325					330					Asp
Glu	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ile	His	Val	Asp	Arg	Asp	Ile	Trp
			340					345					350	Val
Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
		355					360					365		Gly
Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln
	370					375					380			Ser
Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Thr	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys
385					390					395				Ala
Ala	Ser	Gly	Phe	Ile	Phe	Ser	Ser	Ser	Ala	Met	His	Trp	Val	Arg
				405					410					Gln
Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp
			420					425					430	Gly
Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile
	435					440						445		Ser
Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu
	450					455					460			Arg
Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Ser	Ala	Arg	Leu
465					470					475				Tyr
Ala	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Ala	Leu	Val	Thr	Val	Ser
				485					490					Ser
Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
			500					505					510	Glu
Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
	515						520					525		Asp
Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val
	530					535					540			Asp
Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
545					550					555				Gly
Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr
				565					570					Asn
Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
			580					585					590	Trp
Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu
	595						600					605		Pro
Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
	610					615					620			Glu
Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys
625					630					635				Asn
Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp
				645					650					Ile
Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys
			660				665						670	Thr
Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser
														Lys

		675					680				685						
Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys		
	690					695					700						
Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu		
705					710					715					720		
Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	His	His	His	His	His	His						
				725					730								

<210> 75
 <211> 734
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> polypeptit thứ nhất 126

<400> 75

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly		
1				5					10					15			
Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr		
			20					25					30				
Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val		
		35				40						45					
Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp		
	50					55					60						
Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr		
65				70						75					80		
Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr		
				85				90						95			
Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Pro	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp		
			100					105					110				
Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly		
		115					120					125					
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val		
	130					135					140						
Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu		
145					150					155					160		
Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn		
				165					170					175			
Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly		
			180					185					190				
Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu		
		195					200					205					
Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp		
	210					215					220						
Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe		
225					230					235					240		
Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr		
				245					250					255			
Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Phe	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val		
			260					265					270				
Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Leu	Ser	Ser	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Ser	His	Tyr		
		275					280					285					

Pro	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Thr	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Met	Leu	Ile
	290					295					300				
Tyr	Asn	Thr	Asn	Thr	Arg	Ser	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly
305					310					315					320
Ser	Ile	Leu	Gly	Asn	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala	Gln	Ala
				325					330					335	
Asp	Asp	Glu	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ile	His	Val	Asp	Arg	Asp	Ile
			340					345					350		
Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly
		355					360					365			
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Val
	370					375					380				
Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Thr	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser
385					390					395					400
Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ile	Phe	Ser	Ser	Ser	Ala	Met	His	Trp	Val
				405					410					415	
Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Val	Ile	Ser	Tyr
			420					425					430		
Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr
		435					440					445			
Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser
	450					455					460				
Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Ser	Ala	Arg
465					470					475					480
Leu	Tyr	Ala	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Ala	Leu	Val	Thr	Val
				485					490					495	
Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala
			500					505					510		
Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro
		515					520					525			
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val
	530					535					540				
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val
545					550					555					560
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln
				565					570					575	
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln
			580					585					590		
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala
	595					600						605			
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro
	610					615					620				
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Glu	Glu	Met	Thr
625					630					635					640
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser
				645					650					655	
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr
			660					665					670		
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr
		675					680					685			
Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe
	690					695					700				
Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys
705					710					715					720
Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	His	His	His	His	His	His		
				725					730						

<210> 76
 <211> 734
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> polypeptit thứ nhất 127

<400> 76
 Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser Gly Ser Val Ser Thr Ser
 20 25 30
 His Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Met
 35 40 45
 Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Thr Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Ala Ile His Val Asp Arg
 85 90 95
 Asp Ile Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
 100 105 110
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
 115 120 125
 Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Thr Ser Leu Arg
 130 135 140
 Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Ser Ala Met His
 145 150 155 160
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile
 165 170 175
 Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg
 180 185 190
 Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
 195 200 205
 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser
 210 215 220
 Ala Arg Leu Tyr Ala Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ala Leu Val
 225 230 235 240
 Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
 245 250 255
 Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
 260 265 270
 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
 275 280 285
 Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
 290 295 300
 Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
 305 310 315 320
 Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
 325 330 335
 Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn

```

          340          345          350
Phe Gly Asn Glu Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
          355          360          365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
          370          375          380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385          390          395          400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
          405          410          415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
          420          425          430
Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
          435          440          445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
          450          455          460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465          470          475          480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
          485          490          495
Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
          500          505          510
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
          515          520          525
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
          530          535          540
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
545          550          555          560
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
          565          570          575
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
          580          585          590
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
          595          600          605
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
          610          615          620
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr
625          630          635          640
Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
          645          650          655
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
          660          665          670
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
          675          680          685
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
          690          695          700
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
705          710          715          720
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys His His His His His His
          725          730

```

<210> 77

<211> 739

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> polypeptit thứ nhất 128

<400> 77

Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Phe	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Leu	Ser	Ser	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Ser
		20						25					30		
His	Tyr	Pro	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Thr	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Met
		35					40					45			
Leu	Ile	Tyr	Asn	Thr	Asn	Thr	Arg	Ser	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Ile	Leu	Gly	Asn	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala
65					70					75					80
Gln	Ala	Asp	Asp	Glu	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ile	His	Val	Asp	Arg
				85					90					95	
Asp	Ile	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly
			100					105					110		
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln
		115					120					125			
Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Thr	Ser	Leu	Arg
	130					135					140				
Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ile	Phe	Ser	Ser	Ser	Ala	Met	His
145					150					155					160
Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Val	Ile
			165						170					175	
Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg
		180						185					190		
Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met
	195						200					205			
Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Ser
	210					215					220				
Ala	Arg	Leu	Tyr	Ala	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Ala	Leu	Val
225					230					235					240
Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	
			245					250					255		
Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu
		260					265					270			
Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met
	275						280				285				
Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg
	290					295					300				
Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
305					310					315					320
Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr
			325					330						335	
Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			340					345					350		
Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Pro	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr
		355					360					365			
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
	370					375					380				
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln
385					390					395					400

Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys
				405					410					415	
Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val
			420					425					430		
Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys
		435					440					445			
Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly
	450					455					460				
Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala
465					470					475					480
Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly
			485						490					495	
Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys
			500					505					510		
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
		515					520					525			
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
	530					535					540				
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys
545					550					555					560
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
			565					570						575	
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
			580					585					590		
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
		595					600					605			
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
	610					615					620				
Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys
625					630					635					640
Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys
			645					650						655	
Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln
			660					665					670		
Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly
		675					680					685			
Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln
	690					695					700				
Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn
705					710					715					720
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	His	His	His
			725					730					735		
His	His	His													

<210> 78

<211> 734

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> polypeptit thứ nhất 132

<400> 78

Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Phe	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Leu	Ser	Ser	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Ser
		20						25					30		
His	Tyr	Pro	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Thr	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Met
		35					40					45			
Leu	Ile	Tyr	Asn	Thr	Asn	Thr	Arg	Ser	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Ile	Leu	Gly	Asn	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala
65					70					75					80
Gln	Ala	Asp	Asp	Glu	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ile	His	Val	Asp	Arg
				85					90					95	
Asp	Ile	Trp	Val	Phe	Gly	Cys	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly
			100					105					110		
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln
		115					120					125			
Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Thr	Ser	Leu	Arg
	130					135					140				
Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ile	Phe	Ser	Ser	Ser	Ala	Met	His
145					150					155					160
Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Cys	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Val	Ile
				165					170					175	
Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg
			180					185					190		
Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met
		195				200						205			
Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Ser
	210					215					220				
Ala	Arg	Leu	Tyr	Ala	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Ala	Leu	Val
225					230					235					240
Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser
				245					250					255	
Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala
			260				265						270		
Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln
		275				280					285				
Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr
	290					295					300				
Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr
305					310					315					320
Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn
				325					330					335	
Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn
			340					345					350		
Phe	Gly	Asn	Glu	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
		355					360					365			
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
	370					375					380				
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr
385					390					395					400
Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly
				405					410					415	
Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly
			420					425					430		
Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly

```

<400>      79
Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
1              5              10              15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser Gly Ser Val Ser Thr Ser
              20              25              30
His Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Met
              35              40              45

```

Leu	Ile	Tyr	Asn	Thr	Asn	Thr	Arg	Ser	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Ile	Leu	Gly	Asn	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala
65					70					75					80
Gln	Ala	Asp	Asp	Glu	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ile	His	Val	Asp	Arg
				85					90					95	
Asp	Ile	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly
			100					105					110		
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln
		115					120					125			
Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Thr	Ser	Leu	Arg
	130						135				140				
Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ile	Phe	Ser	Ser	Ser	Ala	Met	His
145					150					155					160
Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Val	Ile
				165					170					175	
Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg
			180					185					190		
Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met
		195					200					205			
Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Ser
	210					215					220				
Ala	Arg	Leu	Tyr	Ala	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Ala	Leu	Val
225					230					235					240
Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser
				245					250					255	
Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala
			260					265					270		
Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln
		275					280					285			
Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Ala
	290					295					300				
Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr
305					310					315					320
Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn
				325					330					335	
Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn
			340					345					350		
Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
	355					360					365				
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
	370					375				380					
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr
385					390					395					400
Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly
				405					410					415	
Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly
			420					425					430		
Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly
	435						440					445			
Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu
	450					455					460				
Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val
465					470					475					480
Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr
				485					490					495	

```

Val Leu Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
                    500                    505
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
                    515                    520                    525
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
                    530                    535                    540
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
545                    550                    555                    560
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
                    565                    570                    575
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
                    580                    585                    590
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
595                    600                    605
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
610                    615                    620
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr
625                    630                    635                    640
Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
                    645                    650                    655
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
                    660                    665                    670
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
675                    680                    685
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
690                    695                    700
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
705                    710                    715                    720
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys His His His His His His
                    725                    730

```

<210> 80

<211> 734

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> polypeptit thứ nhất 154

<400> 80

```

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
1                    5                    10                    15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser Gly Ser Val Ser Thr Ser
20                    25                    30
His Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Met
35                    40                    45
Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Thr Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50                    55                    60
Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65                    70                    75                    80
Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Ala Ile His Val Asp Arg
85                    90                    95
Asp Ile Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly

```

			100					105					110			
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	
		115					120					125				
Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Thr	Ser	Leu	Arg	
		130					135					140				
Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ile	Phe	Ser	Ser	Ser	Ala	Met	His	
145					150					155					160	
Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Val	Ile	
			165						170					175		
Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	
			180					185					190			
Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	
		195					200					205				
Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Ser	
		210				215						220				
Ala	Arg	Leu	Tyr	Ala	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Ala	Leu	Val	
225					230					235					240	
Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	
				245					250					255		
Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	
			260					265					270			
Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	
		275					280					285				
Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	
		290				295					300					
Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	
305				310						315					320	
Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	
			325					330						335		
Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	
			340					345					350			
Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	
		355					360					365				
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	
		370				375					380					
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	
385					390					395					400	
Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	
			405					410						415		
Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	
			420					425					430			
Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	
		435					440					445				
Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	
		450				455					460					
Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	
465				470					475						480	
Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	
			485					490						495		
Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	
			500					505					510			
Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	
		515					520					525				
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	
	530					535					540					
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	

545					550					555				560
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
				565					570				575	
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
			580					585					590	
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
		595					600					605		
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
	610					615					620			
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Glu	Glu	Met
625					630					635				640
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
				645					650					655
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
			660					665					670	
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
		675					680					685		
Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
	690					695					700			
Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln
705					710					715				720
Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	His	His	His	His	His	His	
				725					730					

<210> 81

<211> 734

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> polypeptit thứ nhất 156

<400> 81

Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Phe	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Leu	Ser	Ser	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Ser
			20					25					30		
His	Tyr	Pro	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Thr	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Met
		35					40					45			
Leu	Ile	Tyr	Asn	Thr	Asn	Thr	Arg	Ser	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Ile	Leu	Gly	Asn	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala
65					70					75					80
Gln	Ala	Asp	Asp	Glu	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ile	His	Val	Asp	Arg
				85				90						95	
Asp	Ile	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly
			100					105					110		
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln
		115					120						125		
Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Thr	Ser	Leu	Arg
	130					135					140				
Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ile	Phe	Ser	Ser	Ser	Ala	Met	His
145					150					155					160

Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Val	Ile
				165					170					175	
Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg
			180					185					190		
Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met
		195					200					205			
Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Ser
	210					215				220					
Ala	Arg	Leu	Tyr	Ala	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Ala	Leu	Val
225					230					235					240
Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser
				245					250					255	
Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala
			260					265					270		
Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln
		275					280					285			
Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Asn	Lys	Tyr
	290					295					300				
Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Glu	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr
305					310					315					320
Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn
			325						330					335	
Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn
			340					345					350		
Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
		355					360					365			
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
	370					375					380				
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr
385					390					395					400
Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly
				405				410						415	
Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly
			420					425					430		
Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly
		435					440					445			
Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu
	450					455					460				
Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val
465					470					475					480
Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr
				485				490						495	
Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala
			500					505					510		
Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro
		515					520					525			
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val
	530					535					540				
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val
545					550					555					560
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln
				565					570					575	
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln
			580					585					590		
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala
		595					600						605		

```

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 610      615      620
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr
625      630      635      640
Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
      645      650      655
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
      660      665      670
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
      675      680      685
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
      690      695      700
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
705      710      715      720
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys His His His His His His
      725      730

```

```

<210> 82
<211> 734
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

```

<220>
<221> PEPTIT
<223> polypeptit thứ nhất 155

```

```

<400> 82
Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
1      5      10      15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser Gly Ser Val Ser Thr Ser
      20      25      30
His Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Met
      35      40      45
Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Thr Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
      50      55      60
Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
      65      70      75      80
Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Ala Ile His Val Asp Arg
      85      90      95
Asp Ile Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
      100      105      110
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
      115      120      125
Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Thr Ser Leu Arg
      130      135      140
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Ser Ala Met His
      145      150      155      160
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile
      165      170      175
Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg
      180      185      190
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
      195      200      205
Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser

```

210	215	220
Ala Arg Leu Tyr Ala Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ala Leu Val		
225	230	235
Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser		
	245	250
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala		
	260	265
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln		
	275	280
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr		
	290	295
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr		
305	310	315
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn		
	325	330
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn		
	340	345
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
	355	360
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
	370	375
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr		
385	390	395
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly		
	405	410
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly		
	420	425
Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly		
	435	440
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu		
	450	455
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val		
465	470	475
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr		
	485	490
Val Leu Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala		
	500	505
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro		
	515	520
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val		
	530	535
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val		
545	550	555
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln		
	565	570
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln		
	580	585
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala		
	595	600
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro		
	610	615
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr		
625	630	635
Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser		
	645	650
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr		

			660					665				670				
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	
		675					680					685				
Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	
	690					695					700					
Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	
705					710					715					720	
Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	His	His	His	His	His	His			
				725					730							

<210> 83

<211> 734

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> polypeptit thứ nhất 177

<400> 83

Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Phe	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	
1				5					10					15		
Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Leu	Ser	Ser	Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Ser	
			20					25					30			
His	Tyr	Pro	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Thr	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Met	
		35					40					45				
Leu	Ile	Tyr	Asn	Thr	Asn	Thr	Arg	Ser	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	
	50					55					60					
Ser	Gly	Ser	Ile	Leu	Gly	Asn	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala	
65					70					75					80	
Gln	Ala	Asp	Asp	Glu	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ile	His	Val	Asp	Arg	
			85						90					95		
Asp	Ile	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	
			100					105					110			
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	
		115					120					125				
Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Thr	Ser	Leu	Arg	
	130					135					140					
Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ile	Phe	Ser	Ser	Ser	Ala	Met	His	
145					150					155					160	
Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Val	Ile	
			165						170					175		
Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	
		180						185					190			
Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	
		195					200						205			
Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Ser	
	210					215					220					
Ala	Arg	Leu	Tyr	Ala	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Ala	Leu	Val	
225					230					235					240	
Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	
				245					250					255		
Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	
			260					265					270			

Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln
		275					280					285			
Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr
	290					295					300				
Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Glu	Tyr	Ala	Ala	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr
305					310					315					320
Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn
				325					330					335	
Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn
			340					345					350		
Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
		355					360					365			
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
	370					375					380				
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr
385					390					395					400
Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly
				405					410					415	
Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly
			420					425					430		
Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly
	435						440					445			
Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu
	450					455					460				
Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val
465					470					475					480
Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr
				485					490					495	
Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala
			500					505					510		
Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro
		515					520					525			
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val
	530					535					540				
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val
545					550					555					560
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln
				565					570					575	
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln
			580					585					590		
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala
		595					600					605			
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro
	610					615					620				
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Glu	Glu	Met	Thr
625					630					635					640
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser
				645					650					655	
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr
			660					665					670		
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr
		675					680					685			
Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe
	690					695					700				
Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys
705					710					715					720

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys His His His His His His
 725 730

<210> 84
 <211> 734
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> polypeptit thứ nhất 172

<400> 84
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Thr
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Ser
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Ala Arg Leu Tyr Ala Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Ala Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe
 130 135 140
 Ser Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser
 145 150 155 160
 Gly Ser Val Ser Thr Ser His Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro
 165 170 175
 Gly Gln Ala Pro Arg Met Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Thr Arg Ser Ser
 180 185 190
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala
 195 200 205
 Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys
 210 215 220
 Ala Ile His Val Asp Arg Asp Ile Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 225 230 235 240
 Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
 245 250 255
 Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly
 260 265 270
 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
 275 280 285
 Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe
 290 295 300
 Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
 305 310 315 320
 Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu

				325					330					335			
Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly		
			340					345					350				
Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser		
		355					360					365					
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu		
	370					375					380						
Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe		
385					390					395					400		
Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys		
			405						410					415			
Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala		
			420					425					430				
Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp		
		435					440					445					
Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu		
	450					455					460						
Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Glu		
465				470						475					480		
Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val		
			485					490						495			
Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala		
		500					505						510				
Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro		
	515					520						525					
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val		
	530					535					540						
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val		
545				550						555					560		
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln		
			565					570						575			
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln		
			580					585					590				
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala		
	595						600					605					
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro		
	610					615					620						
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Glu	Glu	Met	Thr		
625				630						635					640		
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser		
			645					650						655			
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr		
		660					665						670				
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr		
	675						680					685					
Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe		
	690				695					700							
Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys		
705				710						715					720		
Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	His	His	His	His	His	His				
			725					730									

<210> 85

<211> 734

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> polypeptit thứ nhất 171

<400> 85

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Thr
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ile	Phe	Ser	Ser	Ser
			20					25					30		
Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70					75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85						90						95
Ala	Arg	Ser	Ala	Arg	Leu	Tyr	Ala	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
			100					105					110		
Ala	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly
		115					120					125			
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Phe
	130					135					140				
Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Leu	Ser	Ser
145					150					155					160
Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Ser	His	Tyr	Pro	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Thr	Pro
				165					170					175	
Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Met	Leu	Ile	Tyr	Asn	Thr	Asn	Thr	Arg	Ser	Ser
			180					185					190		
Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Ile	Leu	Gly	Asn	Lys	Ala	Ala
		195					200					205			
Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala	Gln	Ala	Asp	Asp	Glu	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Cys
	210					215					220				
Ala	Ile	His	Val	Asp	Arg	Asp	Ile	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys
225				230						235					240
Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser
			245					250						255	
Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala
			260				265						270		
Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln
		275					280					285			
Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr
	290					295					300				
Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr
305					310					315					320
Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn
			325						330					335	
Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn
			340					345					350		
Phe	Gly	Asn	Glu	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
		355					360					365			
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
	370					375					380				

Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr
385					390					395					400
Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly
			405						410					415	
Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly
			420					425					430		
Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly
		435					440					445			
Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu
	450					455					460				
Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val
465					470					475					480
Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr
				485					490					495	
Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala
			500					505					510		
Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro
		515					520					525			
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val
	530					535					540				
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val
545					550					555					560
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln
				565					570					575	
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln
			580					585					590		
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala
		595					600					605			
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro
	610					615					620				
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Glu	Glu	Met	Thr
625					630					635					640
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser
				645					650					655	
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr
			660					665					670		
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr
		675					680					685			
Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe
	690					695					700				
Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys
705					710					715					720
Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	His	His	His	His	His	His		
				725					730						

<210> 86

<211> 734

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> polypeptit thứ nhất 161

```

<400> 86
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Thr
1      5      10      15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Ser
20      25      30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35      40      45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50      55      60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65      70      75      80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85      90      95
Ala Arg Ser Ala Arg Leu Tyr Ala Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100      105      110
Ala Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115      120      125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe
130      135      140
Ser Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser
145      150      155      160
Gly Ser Val Ser Thr Ser His Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro
165      170      175
Gly Gln Ala Pro Arg Met Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Thr Arg Ser Ser
180      185      190
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala
195      200      205
Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys
210      215      220
Ala Ile His Val Asp Arg Asp Ile Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225      230      235      240
Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
245      250      255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
260      265      270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
275      280      285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
290      295      300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305      310      315      320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
325      330      335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
340      345      350
Phe Gly Asn Pro Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
355      360      365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
370      375      380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385      390      395      400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
405      410      415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
420      425      430
Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly

```

```

<400>      87
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Thr
1              5              10              15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Ser
              20              25              30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
              35              40              45

```

Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70					75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85						90					95	
Ala	Arg	Ser	Ala	Arg	Leu	Tyr	Ala	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
			100					105					110		
Ala	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly
	115						120					125			
Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Phe
	130					135					140				
Ser	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Leu	Ser	Ser
145					150					155					160
Gly	Ser	Val	Ser	Thr	Ser	His	Tyr	Pro	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Thr	Pro
				165					170					175	
Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Met	Leu	Ile	Tyr	Asn	Thr	Asn	Thr	Arg	Ser	Ser
			180					185					190		
Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Ile	Leu	Gly	Asn	Lys	Ala	Ala
	195						200					205			
Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ala	Gln	Ala	Asp	Asp	Glu	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Cys
	210					215					220				
Ala	Ile	His	Val	Asp	Arg	Asp	Ile	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys
225				230						235					240
Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu
				245					250					255	
Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly
			260					265					270		
Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln
		275					280					285			
Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe
	290					295					300				
Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly
305					310					315					320
Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu
				325					330					335	
Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly
			340					345					350		
Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
		355				360						365			
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu
	370					375					380				
Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe
385					390					395					400
Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys
				405					410					415	
Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala
			420					425					430		
Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp
		435					440					445			
Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu
	450					455					460				
Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Pro
465					470					475					480
Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val
				485					490					495	

```

Ser Ser Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
      500      505
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
      515      520      525
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
      530      535      540
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
545      550      555      560
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
      565      570      575
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
      580      585      590
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
      595      600      605
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
      610      615      620
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr
625      630      635      640
Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
      645      650      655
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
      660      665      670
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
      675      680      685
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
      690      695      700
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
705      710      715      720
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys His His His His His
      725      730

```

<210> 88

<211> 474

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> PEPTIT

<223> polypeptit thứ hai 142

<400> 88

```

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Thr
1      5      10      15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Ser
      20      25      30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35      40      45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
      50      55      60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65      70      75      80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85      90      95
Ala Arg Ser Ala Arg Leu Tyr Ala Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

```

```
<210> 89
<211> 730
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

73

<400> 89

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr
			20					25					30		
Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp
	50					55					60				
Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr
65					70					75					80
Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
				85					90					95	
Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Glu	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp
			100					105					110		
Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly
		115					120					125			
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Val	Val
	130					135					140				
Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly	Thr	Val	Thr	Leu
145					150					155					160
Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly	Asn	Tyr	Pro	Asn
				165					170					175	
Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly	Leu	Ile	Gly	Gly
		180					185					190			
Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Leu
	195						200					205			
Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val	Gln	Pro	Glu	Asp
	210					215					220				
Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn	Arg	Trp	Val	Phe
225					230					235					240
Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Ile
				245					250					255	
Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg
			260					265					270		
Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Ala	Asn	Tyr	Leu	Ser
	275						280					285			
Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Gly
	290					295					300				
Thr	Ser	Asn	Leu	Glu	Val	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Arg
305					310					315					320
Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp
				325					330					335	
Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Asp	Lys	Glu	Phe	Pro	Arg	Thr	Phe
			340					345					350		
Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
		355					360					365			
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly
	370					375					380				
Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala
385					390					395					400
Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	His	Tyr	Tyr	Met	Ala	Trp	Val	Arg	Gln	Ala
				405					410					415	
Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Thr	Ser	Ile	Ser	Tyr	Glu	Gly	Asp

```

<400>    90
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1          5          10          15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ala Asn Tyr
          20          25          30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile

```

76

<210> 91
 <211> 725
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> Chuỗi NC2 1

<400> 91
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Thr Ser Ile Ser Tyr Glu Gly Asp Ile Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ser Gln Thr Leu Arg Glu Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125
 Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val
 130 135 140
 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln
 145 150 155 160
 Asp Ile Ala Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser
 165 170 175
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Glu Val Gly Val Pro
 180 185 190
 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 195 200 205
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp
 210 215 220
 Lys Glu Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 225 230 235 240
 Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser
 245 250 255
 Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser Gly
 260 265 270
 Ser Val Ser Thr Ser His Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly
 275 280 285
 Gln Ala Pro Arg Met Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Thr Arg Ser Ser Gly
 290 295 300
 Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu
 305 310 315 320
 Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Ala
 325 330 335
 Ile His Val Asp Arg Asp Ile Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 340 345 350
 Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

```
<210> 92
<211> 474
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
```

```
<220>
<221> PEPTIT
<223> Chuỗi NC2 2
```

<400> 92
 Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser Gly Ser Val Ser Thr Ser
 20 25 30
 His Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Met
 35 40 45
 Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Thr Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Ala Ile His Val Asp Arg
 85 90 95
 Asp Ile Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
 100 105 110
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
 115 120 125
 Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Thr Ser Leu Arg
 130 135 140
 Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Ser Ala Met His
 145 150 155 160
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile
 165 170 175
 Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg
 180 185 190
 Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
 195 200 205
 Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser
 210 215 220
 Ala Arg Leu Tyr Ala Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ala Leu Val
 225 230 235 240
 Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 245 250 255
 Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 260 265 270
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 275 280 285
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 290 295 300
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 305 310 315 320
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 325 330 335
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 340 345 350
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 355 360 365
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 370 375 380
 Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
 385 390 395 400
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 405 410 415
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

			420				425					430							
Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn				
		435					440					445							
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr				
	450					455					460								
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys										
465					470														

<210> 93
 <211> 730
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> chuỗi NC3 1

<400> 93

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly				
1				5				10					15						
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Ala	Asn	Tyr				
		20						25				30							
Leu	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile				
	35					40						45							
Tyr	Gly	Thr	Ser	Asn	Leu	Glu	Val	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly				
	50				55					60									
Ser	Arg	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro				
65				70						75					80				
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	Asp	Lys	Glu	Phe	Pro	Arg				
			85					90						95					
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser				
		100						105					110						
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu				
	115					120						125							
Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys				
	130				135						140								
Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	His	Tyr	Tyr	Met	Ala	Trp	Val	Arg				
145				150						155					160				
Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Thr	Ser	Ile	Ser	Tyr	Glu				
			165					170						175					
Gly	Asp	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Gly	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile				
	180						185						190						
Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu				
	195					200						205							
Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ser	Gln	Thr	Leu	Arg				
	210				215						220								
Glu	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser				
225				230						235					240				
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu				
			245					250						255					
Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe				
	260					265							270						
Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys				
	275				280							285							
Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Ala				

290	295	300													
Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp															
305	310	315													320
Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu															
	325	330													335
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Glu															
	340	345													350
Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val															
	355	360													365
Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly															
	370	375													380
Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly															
385	390	395													400
Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser															
	405	410													415
Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg															
	420	425													430
Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg															
	435	440													445
Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly															
	450	455													460
Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser															
465	470	475													480
Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly															
	485	490													495
Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala															
	500	505													510
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu															
	515	520													525
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser															
	530	535													540
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu															
545	550	555													560
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr															
	565	570													575
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn															
	580	585													590
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro															
	595	600													605
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln															
	610	615													620
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val															
625	630	635													640
Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val															
	645	650													655
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro															
	660	665													670
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr															
	675	680													685
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val															
	690	695													700
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu															
705	710	715													720
Ser Pro Gly Lys His His His His His His															
	725	730													

<210> 94
 <211> 470
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> chuỗi NC3 2

<400> 94
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ala Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Thr Ser Asn Leu Glu Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp Lys Glu Phe Pro Arg
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
 100 105 110
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
 115 120 125
 Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
 130 135 140
 Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg
 145 150 155 160
 Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Thr Ser Ile Ser Tyr Glu
 165 170 175
 Gly Asp Ile Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
 180 185 190
 Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 195 200 205
 Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Ser Gln Thr Leu Arg
 210 215 220
 Glu Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 225 230 235 240
 Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 245 250 255
 Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 260 265 270
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 275 280 285
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 290 295 300
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 305 310 315 320
 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 325 330 335
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 340 345 350
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

```
<210> 95
<211> 504
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> PEPTIT
<223> chuỗi MGD009 1
```

<400>	95														
Asp 1	Ile	Gln	Leu	Thr 5	Gln	Ser	Pro	Ser	Phe 10	Leu	Ser	Ala	Ser	Val 15	Gly
Asp	Arg	Val	Thr 20	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala 25	Ser	Gln	Asn	Val	Asp 30	Thr	Asn
Val	Ala	Trp 35	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro 40	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys 45	Ala	Leu	Ile
Tyr	Ser 50	Ala	Ser	Tyr	Arg	Tyr 55	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
Ser 65	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp 70	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro 80
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr 85	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln 90	Tyr	Asn	Asn	Tyr	Pro 95	Phe
Thr	Phe	Gly	Gln 100	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu 105	Ile	Lys	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly
Gly	Gly	Gly 115	Glu	Val	Gln	Leu	Val 120	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln
Pro	Gly 130	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu 135	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe
Ser 145	Thr	Tyr	Ala	Met	Asn 150	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu 160
Glu	Trp	Val	Gly	Arg 165	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr 170	Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr 175	Tyr
Tyr	Ala	Asp	Ser 180	Val	Lys	Asp	Arg	Phe 185	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser
Lys	Asn	Ser 195	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met 200	Asn	Ser	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr
Ala	Val 210	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg 215	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn	Ser	Tyr	Val
Ser	Trp	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser

```

225          230          235          240
Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala
          245          250          255
Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
          260          265          270
Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
          275          280          285
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
          290          295          300
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
305          310          315          320
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
          325          330          335
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
          340          345          350
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
          355          360          365
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
          370          375          380
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
385          390          395          400
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
          405          410          415
Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
          420          425          430
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
          435          440          445
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
          450          455          460
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
465          470          475          480
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
          485          490          495
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
          500

```

```

<210> 96
<211> 274
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

```

```

<220>
<221> PEPTIT
<223> chuỗi MGD009 2

```

```

<400> 96
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1          5          10          15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
          20          25          30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
          35          40          45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
          50          55          60
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala

```

65					70					75					80
Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn
				85					90					95	
Leu	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gly	Gly
			100					105					110		
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly
		115				120						125			
Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly
	130					135					140				
Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Phe	Gly	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly
145					150					155					160
Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Tyr	Ile	Ser	Ser	Asp	Ser	Ser	Ala	Ile
				165					170					175	
Tyr	Tyr	Ala	Asp	Thr	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn
			180					185					190		
Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Asp	Glu	Asp
		195					200					205			
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Arg	Gly	Arg	Glu	Asn	Ile	Tyr	Tyr	Gly
	210					215					220				
Ser	Arg	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser
225					230					235					240
Gly	Gly	Cys	Gly	Gly	Gly	Lys	Val	Ala	Ala	Leu	Lys	Glu	Lys	Val	Ala
				245				250						255	
Ala	Leu	Lys	Glu	Lys	Val	Ala	Ala	Leu	Lys	Glu	Lys	Val	Ala	Ala	Leu
			260					265					270		
Lys	Glu														

<210> 97
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> chuỗi MGD009 3

<400> 97

Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly
1				5					10					15	
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
			20					25				30			
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
		35					40					45			
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
	50					55					60				
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
65				70						75					80
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
				85				90						95	
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
			100					105					110		
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
		115					120					125			
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser

130		135		140
Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu				
145		150		155
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro				
		165		170
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val				
		180		185
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met				
		195		200
His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser				
		210		215
Pro Gly Lys				220
225				

<210> 98
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> PEPTIT
 <223> đoạn nối

<400> 98
 Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10

<210> 99
 <211> 513
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> CHUỖI
 <223> chuỗi 201 1

<400> 99
 Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser Gly Ser Val Ser Thr Ser
 20 25 30
 His Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Met
 35 40 45
 Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Thr Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Ala Ile His Val Asp Arg
 85 90 95
 Asp Ile Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
 100 105 110
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly

		115				120				125					
Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly
	130					135					140				
Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly
145					150					155					160
Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr	Asn	Asn	Tyr
				165					170					175	
Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg
			180					185					190		
Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Thr
	195					200					205				
Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asn
	210					215					220				
Glu	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr
225					230				235						240
Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Cys	Gly	Gly	Gly	Glu	Val	Ala	Ala	Leu	Glu	Lys
				245					250					255	
Glu	Val	Ala	Ala	Leu	Glu	Lys	Glu	Val	Ala	Ala	Leu	Glu	Lys	Glu	Val
			260					265					270		
Ala	Ala	Leu	Glu	Lys	Gly	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro
	275					280						285			
Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro
	290				295						300				
Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr
305					310					315					320
Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn
				325					330					335	
Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg
			340					345					350		
Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val
		355					360					365			
Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser
	370					375					380				
Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys
385					390					395					400
Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu
				405					410					415	
Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe
			420				425						430		
Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu
	435					440						445			
Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe
	450					455					460				
Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly
465					470					475					480
Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr
				485					490					495	
Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	His	His	His	His	His
			500					505					510		

His

<210> 100
 <211> 271
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> CHUỖI
 <223> chuỗi 201 2

<400> 100
 Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
 20 25 30
 Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95
 Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
 100 105 110
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly
 115 120 125
 Val Val Gln Pro Gly Thr Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 130 135 140
 Phe Ile Phe Ser Ser Ser Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 145 150 155 160
 Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
 165 170 175
 Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 180 185 190
 Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 195 200 205
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Ala Arg Leu Tyr Ala Ser Phe
 210 215 220
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Ala Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys
 225 230 235 240
 Gly Gly Gly Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys
 245 250 255
 Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
 260 265 270

<210> 101
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> CHUỖI
 <223> chuỗi 202 1

<400> 101
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Thr
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Ser

89

<210> 102
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> CHUỖI
 <223> chuỗi 202 2

<400> 102
 Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser Gly Ser Val Ser Thr Ser
 20 25 30
 His Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Met
 35 40 45
 Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Thr Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Ala Ile His Val Asp Arg
 85 90 95
 Asp Ile Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Arg Thr
 100 105 110
 Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
 115 120 125
 Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
 130 135 140
 Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
 145 150 155 160
 Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
 165 170 175
 Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
 180 185 190
 Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
 195 200 205
 Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 103
 <211> 692
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <221> CHUỖI
 <223> chuỗi 202 3

<400> 103
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Thr
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Ser
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

		35				40				45					
Ala	Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70					75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85						90					95	
Ala	Arg	Ser	Ala	Arg	Leu	Tyr	Ala	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
			100					105					110		
Ala	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
	115						120					125			
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu
	130					135					140				
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
145					150					155					160
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
				165					170					175	
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
			180					185					190		
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro
	195						200					205			
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Gly
	210					215					220				
Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser
225					230						235				240
Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala
				245					250					255	
Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Lys	Tyr	Ala	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln
			260					265					270		
Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ala	Arg	Ile	Arg	Ser	Lys	Tyr
	275						280					285			
Asn	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Asp	Arg	Phe	Thr
	290					295					300				
Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Asn
305					310					315					320
Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn
				325					330					335	
Phe	Gly	Asn	Glu	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Trp	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
			340					345					350		
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile
	355						360					365			
Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val
	370					375					380				
Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys
385					390					395					400
Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu
				405					410					415	
Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu
			420					425					430		
Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr
	435						440					445			
His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu
	450					455					460				
Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala
465					470					475					480
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu

				485					490					495			
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser		
			500					505					510				
His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu		
		515					520					525					
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr		
	530					535					540						
Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn		
545					550					555					560		
Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro		
				565				570						575			
Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln		
			580					585					590				
Val	Cys	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val		
		595					600					605					
Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val		
	610					615					620						
Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro		
625					630					635					640		
Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr		
				645				650						655			
Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val		
			660					665					670				
Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu		
		675				680						685					
Ser	Pro	Gly	Lys														
	690																

<210> 104

<211> 214

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> CHUỖI

<223> chuỗi 202 4

<400> 104

Gln	Thr	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly	Gly		
1				5					10					15			
Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly		
			20					25					30				
Asn	Tyr	Pro	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Gly		
		35				40						45					
Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Lys	Phe	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe		
	50					55					60						
Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val		
65					70					75					80		
Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Val	Leu	Trp	Tyr	Ser	Asn		
				85					90					95			
Arg	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Ser	Ser	Ala		
			100					105					110				
Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser		
		115					120					125					
Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe		

130						135						140				
Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	
145						150				155					160	
Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	
				165					170					175		
Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	
			180					185					190			
Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	
		195					200					205				
Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys											
210																