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

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

(11) **1-0047366**

(51)[2019.01] **C12N 15/13**; A61P 35/00; C07K 16/30; C12N 1/15; C12P 21/08; C12N 1/21; C12N 5/10; A61K 39/395; C12N 1/19

(13) **B**

(21) 1-2020-00987
(22) 26/07/2018
(86) PCT/JP2018/028047 26/07/2018
(87) WO 2019/022187 A1 31/01/2019
(30) 2017-145701 27/07/2017 JP
(45) 25/06/2025 447
(43) 27/07/2020 388A
(73) DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED (JP)
3-5-1, Nihonbashi Honcho, Chuo-ku, Tokyo 103-8426, Japan
(72) FUKUCHI, Keisuke (JP); NANAI, Kayoko (JP); AMANO, Masato (JP); YONEDA, Kozo (JP); TOTOKI, Yusuke (JP); YAMAMOTO, Shoji (JP).
(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)

# (54) KHÁNG THỂ KHÁNG CD147 VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA KHÁNG THỂ NÀY

(21) 1-2020-00987

(57) Mục đích của sáng chế là đề xuất kháng thể kháng CD147 có hiệu quả kháng u mạnh và có độ an toàn cao. Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất dược phẩm chứa kháng thể này. Sáng chế đề xuất kháng thể đặc hiệu CD147 hoạt hóa CD147 và có hiệu quả kháng u cao. Sáng chế đề xuất kháng thể kháng CD147 có hiệu quả kháng u cao độc lập với các chức năng của tế bào thực hiện. Sáng chế đề xuất dược phẩm chứa kháng thể kháng CD147 này.

**Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến kháng thể kháng CD147 có hiệu quả kháng u mạnh, phương pháp tạo ra kháng thể kháng CD147, và chất kháng u chứa kháng thể kháng CD147 này.

**Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Các tiến bộ trong các phương pháp và phương thuốc để điều trị bệnh ung thư đã cho thấy rằng các bệnh ung thư mà trước đây được cho là không thể chữa khỏi là có thể điều trị và chữa khỏi hoàn toàn. Kháng thể CTLA4 và kháng thể PD1, đã được phát triển dưới dạng các dược chất kháng thể có độ ổn định dược chất và độ đặc hiệu đặc biệt tốt, có tỷ lệ đáp ứng khách quan cao đối với, và đôi khi chữa khỏi, u melanin và một số bệnh ung thư thể rắn thông qua sự hoạt hóa các tế bào miễn dịch bao gồm các tế bào T, mang tin tốt lành cho các bệnh nhân ung thư. Việc điều trị cho phần lớn các bệnh ung thư thể rắn khó chữa bằng các phương thuốc này đã được tiến hành thử. Tuy nhiên, phần lớn các bệnh ung thư tụy và bệnh ung thư gan, v.v., không thể hiện tính mẫn cảm với các dược chất này, và có tỷ lệ tái phát cao ngay cả khi được điều trị bằng cách loại bỏ bằng phẫu thuật hoặc được điều trị dựa trên việc sử dụng các chất kháng ung thư thông thường. Do đó, các cách điều trị và phương thuốc mà nhờ đó bệnh ung thư có thể được chữa khỏi hoàn toàn được tìm kiếm một cách nghiêm túc.

CD147 là một protein xuyên màng một lần có 2 đến 3 vùng giống globulin miễn dịch, và được biết là hoạt hóa các phân tử liên quan đến tín hiệu xuôi dòng, như các phân tử thuộc họ FAK, MEK, Erk, JAK/STAT, AKT và MAPK thông qua các tương tác giữa nhiều protein CD147, hoặc thông qua các tương tác với các phân tử bề mặt màng tế bào hoặc ngoại bào, như CD44, các phân tử thuộc họ Integrin, CD98, VEGFR, CypA/B, và MCT1/3/4, các phân tử này tham gia vào quá trình phát triển, xâm lấn, và viêm, bằng cách đó làm tăng quá trình sản sinh các proteaza như MMP, và quá trình phát triển bệnh ung thư, di căn, và xâm lấn. Ngoài ra, đã có thông báo rằng mức biểu hiện CD147 cao dẫn tới thời gian sống ngắn và tiên lượng xấu. Do đó, CD147 được cho là một trong số các phân tử đích để điều trị bệnh ung thư.

Các kháng thể hướng đích CD147, ABX-CBL và Licartin trên thực tế đã được sử dụng trên lâm sàng cho người. ABX-CBL ức chế sự liên kết giữa CD147 và xyclophilin

A, và không chỉ ngăn chặn hoạt tính tế bào T, mà còn có hoạt tính gây độc tế bào đối với các tế bào bình thường bao gồm các tế bào T dương tính với CD147 theo cách phụ thuộc bổ thể trong máu. Các thử nghiệm lâm sàng được thực hiện đối với GVHD để làm bệnh cần điều trị đã cho thấy hiệu quả không đủ và dẫn đến việc quan sát được các tình trạng đau cơ nghiêm trọng, và do đó kháng thể này không được chấp thuận làm dược chất (tài liệu sáng chế 1, tài liệu phi sáng chế 1).

Licartin là một dược phẩm sinh học được điều chế bằng cách bổ sung chất đồng vị phóng xạ, iot I 131, vào đoạn Fab'2 của kháng thể HAb18, và đã được chấp thuận làm thuốc ở Trung Quốc, loại bệnh ung thư liên quan là bệnh ung thư gan (tài liệu phi sáng chế 2, tài liệu phi sáng chế 3). Licartin không có đoạn Fc của kháng thể để hoạt hóa các tế bào miễn dịch và bổ thể, và không được thông báo là có độc tính trung gian bởi miễn dịch và không được thông báo trên lâm sàng là chữa khỏi hoàn toàn bệnh ung thư gan.

Đối với các kháng thể khác hướng đích CD147, hoạt tính sinh học ngăn chặn kháng thể đơn dòng kháng CD147 liên quan đến CD147, như tạo mạch hoặc sản sinh metaloproteaza chất nền tạo ra VEGF (tài liệu sáng chế 2), hoạt hóa tế bào T ức chế kháng thể đơn dòng kháng CD147 (tài liệu phi sáng chế 4), và liên kết đặc hiệu kháng thể với phân tử CD147 được đặc trưng bởi có hoạt tính ADCC và hoạt tính CDC (tài liệu sáng chế 3) là đã biết. Tuy nhiên, kháng thể CD147 không có các chức năng của tế bào thực hiện và có hiệu quả kháng u là chưa được biết đến. Ngoài ra, sự liên quan giữa sự hoạt hóa hệ thống truyền tín hiệu tế bào thông qua CD147 và hiệu quả kháng u là chưa được biết đến.

Danh mục tài liệu trích dẫn

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: WO1999/045031

Tài liệu sáng chế 2: WO2010/036460

Tài liệu sáng chế 3: WO2017/061602

Tài liệu phi sáng chế

Tài liệu phi sáng chế 1: DeegH, etal., J. Blood., 2052-2058, 2001

Tài liệu phi sáng chế 2: ChenZ, etal., Int. J. RadiationOncologyBiol. Phys., 435-444, 2006

Tài liệu phi sáng chế 3: XuJ, etal., Hepatology, 269-276, 2007

Tài liệu phi sáng chế 4: KochC, etal., InternationalImmunology, 777-786, 1999

**Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Vấn đề cần được giải quyết bởi sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất kháng thể kháng CD147 mới có các tác dụng dược lý mới, độ an toàn rất tốt, và hiệu quả kháng u cao, dược phẩm chứa kháng thể này, và phương pháp điều trị khối u bằng cách sử dụng kháng thể hoặc dược phẩm này và sản phẩm tương tự.

Cách thức giải quyết vấn đề

Nhờ các nghiên cứu sâu để đạt được mục đích nêu trên, các tác giả sáng chế lần đầu tiên đã phát hiện được rằng sự hoạt hóa các phân tử liên quan đến tín hiệu thông qua CD147 có liên quan đến hiệu quả kháng u. Các tác giả sáng chế đã điều chế thành công kháng thể đặc hiệu CD147 hoạt hóa CD147 và có hiệu quả kháng u cao. Kháng thể theo sáng chế có đặc điểm là có hiệu quả kháng u cao theo cách độc lập với các chức năng của tế bào thực hiện. Các kháng thể có hiệu quả kháng u theo cách phụ thuộc chức năng của tế bào thực hiện đã được thông báo. Tuy nhiên, kháng thể theo sáng chế có đặc điểm là không tác dụng lên các tế bào T và PBMC, và có hiệu quả kháng u cao theo cách độc lập với các chức năng của tế bào thực hiện, và do đó là kháng thể tuyệt vời được mong đợi là an toàn để làm dược phẩm. Kháng thể theo sáng chế có hiệu quả trong các tế bào ung thư gan, hiệu quả này mạnh hơn đáng kể so với hiệu quả của sorafenib được sử dụng làm một trong số các thuốc chăm sóc chuẩn cho bệnh ung thư gan. Kháng thể theo sáng chế có hiệu quả trong các tế bào ung thư tụy, hiệu quả này mạnh hơn đáng kể so với hiệu quả của gemcitabine được sử dụng làm một trong số các thuốc chăm sóc chuẩn cho bệnh ung thư tụy. Kháng thể theo sáng chế có hiệu quả trong các tế bào bạch cầu dạng tủy mạn tính, hiệu quả này mạnh hơn đáng kể so với hiệu quả của imatinib được sử dụng làm một trong số các thuốc chăm sóc chuẩn cho bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính. Các tác giả sáng chế đã xác định được rằng kháng thể CD147 theo sáng chế hoạt hóa hệ thống truyền tín hiệu p38MAPK và SMAD trong các tế bào ung thư. Các tác giả sáng chế đã xác định được rằng kháng thể CD147 theo sáng chế có hiệu quả kháng u rất tốt trong các tế bào dương tính với SMAD4,

Sáng chế bao gồm các khía cạnh sau đây.

[1]

Kháng thể kháng CD147 của người hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó, kháng thể này cạnh tranh với ít nhất một kháng thể được chọn từ nhóm bao gồm kháng thể (A) đến (F) sau đây để liên kết với CD147 của người và hoạt hóa sự truyền tín hiệu thông qua CD147:

(A) kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 71 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 69;

(B) kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 51 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 49;

(C) kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 61 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 59,

(D) kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 81 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 79;

(E) kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 10 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 8; và

(F) kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 20 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 18.

[2]

Kháng thể kháng CD147 của người hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó, kháng thể này liên kết với epitop mà ít nhất một kháng thể được chọn từ nhóm bao gồm kháng thể (A) đến (F) sau đây liên kết với, và hoạt hóa sự truyền tín hiệu thông qua CD147:

(A) kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 71 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 69;

(B) kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 51 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 49;

(C) kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 61 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 59;

(D) kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 81 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 79;

(E) kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 10 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 8; và

(F) kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 20 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 18.

[3]

Kháng thể kháng CD147 của người hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục [1] hoặc [2], kháng thể này có hoạt tính ADCC giảm hoặc không có hoạt tính ADCC.

[4]

Kháng thể kháng CD147 của người hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [3], kháng thể này có hoạt tính CDC giảm hoặc không có hoạt tính CDC.

[5]

Kháng thể kháng CD147 của người hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [4], kháng thể này có hoạt tính ADCP giảm hoặc không có hoạt tính ADCP.

[6]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [5], kháng thể này liên kết với epitop bao gồm các gốc arginin (Arg) ở vị trí 106 đến glyxin (Gly) ở vị trí 165 trong SEQ ID NO: 3.

[7]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [6], kháng thể này liên kết với epitop bao gồm các gốc arginin (Arg) ở vị trí 106, lysin (Lys) ở vị trí 108, alanin (Ala) ở vị trí 109, valin (Val) ở vị trí 110, lysin (Lys) ở vị trí 127, serin (Ser) ở vị trí 128, axit glutamic (Glu) ở vị trí 129, serin (Ser) ở vị trí 130, valin (Val) ở vị trí 131, prolin (Pro) ở vị trí 132, prolin (Pro) ở vị trí 133, valin (Val) ở vị trí 134, glutamin (Gln) ở vị trí 164 và glyxin (Gly) ở vị trí 165 trong trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 3.

[8]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [7], trong đó:

trong trình tự chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi có CDRH1, CDRH2 và CDRH3, CDRH1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 75, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 76, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 77; và

trong trình tự chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi có CDRL1, CDRL2 và CDRL3, CDRL1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 72, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 73, và CDRL3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 74.

[9]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [5], kháng thể này liên kết với epitop bao gồm trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 143 hoặc trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin bị xóa, thay thế hoặc bổ sung trong trình tự của SEQ ID NO: 143.

[10]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [5] hoặc [9], trong đó:

trong trình tự chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi có CDRH1, CDRH2 và CDRH3, CDRH1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 55, CDRH2 bao gồm

trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 56, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 57; và

trong trình tự chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi có CDRL1, CDRL2 và CDRL3, CDRL1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 52, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 53, và CDRL3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 54.

[11]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [5] hoặc [9], trong đó:

trong trình tự chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi có CDRH1, CDRH2 và CDRH3, CDRH1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 65, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 66, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 67; và

trong trình tự chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi có CDRL1, CDRL2 và CDRL3, CDRL1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 62, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 63, và CDRL3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 64.

[12]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [5] hoặc [9], trong đó:

trong trình tự chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi có CDRH1, CDRH2 và CDRH3, CDRH1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 85, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 86, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 87; và

trong trình tự chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi có CDRL1, CDRL2 và CDRL3, CDRL1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 82, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 83, và CDRL3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 84.

[13]

Đoạn liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [12], đoạn này được chọn từ nhóm bao gồm Fab, F(ab')2, Fab' và Fv.

[14]

Kháng thể theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [12], kháng thể này là scFv.

[15]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [12], kháng thể này là kháng thể thể khảm.

[16]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [12], kháng thể này được nhân hóa.

[17]

Kháng thể theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [16], trong đó chuỗi nặng bao gồm vùng hằng định chuỗi nặng globulin miễn dịch G1 của người, vùng hằng định chuỗi nặng globulin miễn dịch G2 của người hoặc vùng hằng định chuỗi nặng globulin miễn dịch G4 của người, và chuỗi nhẹ bao gồm vùng hằng định chuỗi nhẹ κ globulin miễn dịch của người.

[18]

Kháng thể theo mục [17], trong đó chuỗi nặng bao gồm vùng hằng định chuỗi nặng globulin miễn dịch G4 của người.

[19]

Kháng thể theo mục [18], trong đó trong vùng hằng định chuỗi nặng globulin miễn dịch G4 của người, serin (Ser) ở vị trí 228 như được chỉ ra bằng chỉ số EU được thay thế bằng prolin (Pro).

[20]

Kháng thể theo mục [18], trong đó trong vùng hằng định chuỗi nặng globulin miễn dịch G4 của người, phenylalanin (Phe) ở vị trí 234 như được chỉ ra bằng chỉ số EU được thay thế bằng alanin (Ala), và leuxin (Leu) ở vị trí 235 như được chỉ ra bằng chỉ số EU được thay thế bằng alanin (Ala).

[21]

Kháng thể theo mục [18], trong đó trong vùng hằng định chuỗi nặng globulin miễn dịch G4 của người, serin (Ser) ở vị trí 228 như được chỉ ra bằng chỉ số EU được thay thế bằng prolin (Pro), phenylalanin (Phe) ở vị trí 234 như được chỉ ra bằng chỉ số EU được thay thế bằng alanin (Ala), và leuxin (Leu) ở vị trí 235 như được chỉ ra bằng chỉ số EU được thay thế bằng alanin (Ala).

[22]

Kháng thể theo mục [17], trong đó chuỗi nặng bao gồm vùng hằng định chuỗi nặng globulin miễn dịch G2 của người.

[23]

Kháng thể kháng CD147 của người hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó, kháng thể này bao gồm vùng (c) và (d) sau đây, và hoạt hóa sự truyền tín hiệu thông qua CD147:

(c) vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ nhóm bao gồm (c1) đến (c4) sau đây:

(c1) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 135;

(c2) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 147;

(c3) trình tự axit amin có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% hoặc cao hơn với trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (c1) hoặc (c2); và

(c4) trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin bị xóa, thay thế, hoặc bổ sung trong trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự theo mục bất kỳ trong số (c1) đến (c3); và

(d) vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn từ nhóm bao gồm (d1) đến (d5) sau đây:

(d1) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 137;

(d2) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 149;

(d3) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 151;

(d4) trình tự axit amin có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% hoặc cao hơn với trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự theo mục bất kỳ trong số (d1) đến (d3); và

(d5) trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin bị xóa, thay thế, hoặc bổ sung trong trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự theo mục bất kỳ trong số (d1) đến (d4).

[24]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục [23], kháng thể này bao gồm:

vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 135; và

vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 137.

[25]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục [23], kháng thể này bao gồm:

chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 463 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 135; và

chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 137.

[26]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục [23], kháng thể này bao gồm:

vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 147; và

vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 149.

[27]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục [23], kháng thể này bao gồm:

chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 463 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 147; và

chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 149.

[28]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục [23], kháng thể này bao gồm:

vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 147; và

vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 151.

[29]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục [23], kháng thể này bao gồm:

chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 463 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 147; và

chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 151.

[30]

Kháng thể kháng CD147 của người hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó, kháng thể này bao gồm vùng (a) và (b) sau đây, và hoạt hóa sự truyền tín hiệu thông qua CD147:

(a) vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ nhóm bao gồm (a1) đến (a4) sau đây:

(a1) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 140 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 123;

(a2) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 140 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 125;

(a3) trình tự axit amin có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% hoặc cao hơn với trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (a1) hoặc (a2); và

(a4) trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin bị xóa, thay thế, hoặc bổ sung trong trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự theo mục bất kỳ trong số (a1) đến (a3); và

(b) vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn từ nhóm bao gồm (b1) đến (b3) sau đây:

(b1) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 127;

(b2) trình tự axit amin có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% hoặc cao hơn với trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (b1); và

(b3) trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin bị xóa, thay thế, hoặc bổ sung trong trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (b1) hoặc (b2).

[31]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục [30], kháng thể này bao gồm:

vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 140 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 123 hoặc vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 140 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 125; và

vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 127.

[32]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục [30], kháng thể này bao gồm:

chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 123 hoặc chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 467 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 125; và

chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 127.

[33]

Kháng thể kháng CD147 của người hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó, kháng thể này bao gồm vùng (e) và (f) sau đây, và hoạt hóa sự truyền tín hiệu thông qua CD147:

(e) vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ nhóm bao gồm (e1) đến (e4) sau đây:

(e1) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 137 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 129;

(e2) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 137 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 131;

(e3) trình tự axit amin có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% hoặc cao hơn với trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (e1) hoặc (e2); và

(e4) trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin bị xóa, thay thế, hoặc bổ sung trong trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự theo mục bất kỳ trong số (e1) đến (e3); và

(f) vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn từ nhóm bao gồm (f1) đến (f3) sau đây:

(f1) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 133;

(f2) trình tự axit amin có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% hoặc cao hơn với trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (f1); và

(f3) trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin bị xóa, thay thế, hoặc bổ sung trong trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (f1) hoặc (f2).

[34]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục [33], kháng thể này bao gồm:

vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 137 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 129 hoặc vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 137 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 131; và

vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 133.

[35]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục [33], kháng thể này bao gồm:

chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 463 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 129 hoặc chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 464 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 131; và

chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 133.

[36]

Kháng thể kháng CD147 của người hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó, kháng thể này bao gồm vùng (g) và (h) sau đây, và hoạt hóa sự truyền tín hiệu thông qua CD147:

(g) vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ nhóm bao gồm (g1) đến (g3) sau đây:

(g1) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 138 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 139;

(g2) trình tự axit amin có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% hoặc cao hơn với trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (g1); và

(g3) trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin bị xóa, thay thế, hoặc bổ sung trong trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (g1) hoặc (g2); và

(h) vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn từ nhóm bao gồm (h1) đến (h3) sau đây:

(h1) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 141;

(h2) trình tự axit amin có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% hoặc cao hơn với trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (h1); và

(h3) trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin bị xóa, thay thế, hoặc bổ sung trong trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (h1) hoặc (h2).

[37]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục [36], kháng thể này bao gồm:

vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 138 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 139; và

vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 141.

[38]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục [36], kháng thể này bao gồm:

chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 464 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 139; và

chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 141.

[39]

Kháng thể kháng CD147 của người hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục [23] đến [38], kháng thể này có hoạt tính ADCC giảm hoặc không có hoạt tính ADCC.

[40]

Kháng thể kháng CD147 của người hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục [23] đến [39], kháng thể này có hoạt tính CDC giảm hoặc không có hoạt tính CDC.

[41]

Kháng thể kháng CD147 của người hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục [23] đến [40], kháng thể này có hoạt tính ADCP giảm hoặc không có hoạt tính ADCP.

[42]

Dược phẩm chứa ít nhất một trong số các kháng thể hoặc các đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [41].

[43]

Dược phẩm theo mục [42], dược phẩm này là chất kháng u.

[44]

Dược phẩm theo mục [43], trong đó khối u là khối u biểu hiện CD147.

[45]

Dược phẩm theo mục [43] hoặc [44], trong đó khối u là bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư kết tràng, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tử cung, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư phổi, u lympho, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư da, bệnh ung thư đầu và cổ, bệnh sacôm, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư bàng quang, khối u não, khối u mô đệm dạ dày-ruột (gastrointestinal stromal tumor, GIST), bệnh bạch cầu, bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (acute myeloid leukemia, AML), bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính (chronic myeloid leukemia, CML), bệnh bạch cầu dạng lympho mạn tính (chronic lymphocytic leukemia, CLL), bệnh bạch cầu dạng lympho cấp tính (acute lymphocytic leukemia, ALL), u lympho ác tính, u lympho tế bào B, u lympho không Hodgkin hoặc u lympho tế bào B lớn lan tỏa (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL).

[46]

Dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [43] đến [45], trong đó khối u là bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư kết tràng, bệnh ung thư thận, bệnh bạch cầu, bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính (CML), bệnh bạch cầu dạng lympho mạn tính (CLL), bệnh bạch cầu dạng lympho cấp tính (ALL), u lympho ác tính, u lympho tế bào B, u lympho không Hodgkin hoặc u lympho tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL).

[47]

Dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [43] đến [46], trong đó khối u là khối u dương tính SMAD4 hoặc khối u có mức biểu hiện giảm của KLF5 hoặc không biểu hiện KLF5.

[48]

Dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [42] đến [47], dược phẩm này còn bao gồm chất kháng u khác.

[49]

Phương pháp điều trị khối u, bao gồm việc sử dụng kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [41] hoặc dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [42] đến [48] cho bệnh nhân.

[50]

Phương pháp theo mục [49], trong đó khối u là khối u biểu hiện CD147.

[51]

Phương pháp theo mục bất kỳ trong số [49] hoặc [50], trong đó khối u là bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư kết tràng, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tử cung, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư phổi, u lympho, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư da, bệnh ung thư đầu và cổ, bệnh sacôm, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư bàng quang, khối u não, khối u mô đệm dạ dày-ruột (GIST), bệnh bạch cầu, bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính (CML), bệnh bạch cầu dạng lympho mạn tính (CLL), bệnh bạch cầu dạng lympho cấp tính (ALL), u lympho ác tính, u lympho tế bào B, u lympho không Hodgkin hoặc u lympho tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL).

[52]

Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ [49] đến [51], trong đó khối u là bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư kết tràng, bệnh ung thư thận, bệnh bạch cầu, bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính(AML), bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính (CML), bệnh bạch cầu dạng lympho mạn tính (CLL), bệnh bạch cầu dạng lympho cấp tính (ALL), u lympho ác tính, u lympho tế bào B, u lympho không Hodgkin hoặc u lympho tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL).

[53]

Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ [49] đến [52], trong đó khối u là khối u dương tính với SMAD4 hoặc khối u có mức biểu hiện giảm của KLF5 hoặc không biểu hiện KLF5.

[54]

Phương pháp theo mục bất kỳ trong số các mục từ [49] đến [53], trong đó kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó, hoặc dược phẩm được sử dụng kết hợp với chất kháng u khác.

[55]

Polynucleotit mã hóa kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [41].

[56]

Polynucleotit theo mục [55], bao gồm polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm polynucleotit (j1) đến (j3) sau đây:

(j1) polynucleotit mã hóa CDRH1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 75, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 76 và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 77, và polynucleotit mã hóa CDRL1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 72, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 73 và CDRL3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 74;

(j2) polynucleotit có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% với trình tự nucleotit theo (j1); và

(j3) polynucleotit trong đó một đến một số nucleotit được thay thế, xóa hoặc bổ sung trong polynucleotit theo (j1) hoặc (j2).

[57]

Polynucleotit theo mục [55], bao gồm polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm (i1) đến (i3) sau đây:

(i1) polynucleotit mã hóa CDRH1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 55, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 56 và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 57, và polynucleotit mã hóa CDRL1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 52, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 53 và CDRL3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 54;

(i2) polynucleotit có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% với trình tự nucleotit theo (i1); và

(i3) polynucleotit trong đó một đến một số nucleotit được thay thế, xóa hoặc bổ sung trong polynucleotit theo (i1) hoặc (i2).

[58]

Polynucleotit theo mục [55], bao gồm polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm (k1) đến (k3) sau đây:

(k1) polynucleotit mã hóa CDRH1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 65, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 66 và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 67, và polynucleotit mã hóa CDRL1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 62, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 63 và CDRL3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 64;

(k2) polynucleotit có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% với trình tự nucleotit theo (k1); và

(k3) polynucleotit trong đó một đến một số nucleotit được thay thế, xóa hoặc bổ sung trong polynucleotit theo (k1) hoặc (k2).

[59]

Polynucleotit theo mục [55], bao gồm polynucleotit được chọn từ nhóm bao gồm (m1) đến (m3) sau đây:

(m1) polynucleotit mã hóa CDRH1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 85, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 86 và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 87, và polynucleotit mã hóa CDRL1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 82, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 83 và CDRL3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 84;

(m2) polynucleotit có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% với trình tự nucleotit theo (m1); và

(m3) polynucleotit trong đó một đến một số nucleotit được thay thế, xóa hoặc bổ sung trong polynucleotit theo (m1) hoặc (m2).

[60]

Vectơ biểu hiện chứa polynucleotit theo mục bất kỳ trong số các mục [55] đến [59].

[61]

Tế bào chủ được biến nạp bằng vectơ biểu hiện theo mục [60].

[62]

Phương pháp tạo ra kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [41], bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ theo mục [61] và

thu hồi kháng thể mục tiêu hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó từ dịch nổi bề mặt nuôi cấy.

[63]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [41], trong đó sự hoạt hóa đối với sự truyền tín hiệu thông qua CD147 là sự hoạt hóa p38 và/hoặc sự hoạt hóa SMAD4,

[64]

Kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục [63], trong đó sự hoạt hóa p38MAPK và/hoặc sự hoạt hóa SMAD4 là sự tăng mức biểu hiện p38MAPK, sự phosphoryl hóa p38MAPK, sự phosphoryl hóa HSP27, sự tăng mức biểu hiện CXCL8, sự tăng mức biểu hiện rhoB, sự giảm mARN KLF5 hoặc sự giảm mức biểu hiện protein KLF5.

[65]

Phương pháp điều trị khối u bao gồm việc sử dụng kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục [63] hoặc [64].

[66]

Phương pháp dự đoán tính đáp ứng với việc điều trị bệnh ung thư bao gồm các bước:

phát hiện sự biểu hiện của SMAD4 hoặc sự biểu hiện của KLF5 trong mẫu sinh học được lấy từ bệnh nhân ung thư; và

xác định sự đáp ứng của bệnh nhân với việc điều trị bệnh ung thư bằng kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [41] hoặc dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [42] đến [48] là tích cực, khi sự biểu hiện SMAD4 được phát hiện ở bệnh nhân, hoặc sự giảm mức biểu hiện KLF5 hoặc không biểu hiện KLF5 được phát hiện ở bệnh nhân.

[67]

Phương pháp chọn các đối tượng để điều trị bệnh ung thư bao gồmn các bước:

phát hiện sự biểu hiện của SMAD4 hoặc sự biểu hiện của KLF5 trong mẫu sinh học được lấy từ bệnh nhân ung thư; và

chọn bệnh nhân làm đối tượng của việc điều trị bệnh ung thư bằng kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [41] hoặc dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [42] đến [48], khi sự biểu hiện SMAD4

được phát hiện ở bệnh nhân hoặc sự giảm mức biểu hiện KLF5 hoặc không biểu hiện KLF5 được phát hiện ở bệnh nhân.

[68]

Phương pháp điều trị bệnh ung thư bao gồm các bước:

sử dụng mẫu sinh học được lấy từ bệnh nhân ung thư để phát hiện sự có mặt hoặc không có mặt của sự biểu hiện của SMAD4 hoặc để phát hiện sự biểu hiện của KLF5 trong mẫu sinh học này; và

sử dụng kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [41] hoặc dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [42] đến [48] cho bệnh nhân mà ở người đó sự biểu hiện SMAD4 được phát hiện hoặc cho bệnh nhân mà ở người đó sự giảm mức biểu hiện KLF5 hoặc không biểu hiện KLF5 được phát hiện.

[69]

Kit để xác định sự đáp ứng với việc điều trị bệnh ung thư bằng kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [41] hoặc dược phẩm theo mục bất kỳ trong số các mục từ [42] đến [48], kit này bao gồm ít nhất một phương tiện để phát hiện sự biểu hiện của SMAD4 hoặc sự biểu hiện của KLF5 trong mẫu sinh học được lấy từ bệnh nhân ung thư.

[70]

Phức chất kháng thể-dược chất bao gồm kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [41] được liên hợp với dược chất khác.

[71]

Kháng thể hai giá bao gồm: đoạn liên kết kháng nguyên của kháng thể theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [41]; và đoạn liên kết kháng nguyên mà liên kết với kháng nguyên không phải CD147.

Hiệu quả của sáng chế

Kháng thể theo sáng chế là kháng thể nhận biết đặc hiệu CD147, và được đặc trưng bởi việc hoạt hóa các phân tử liên quan đến tín hiệu thông qua CD147, và có hiệu quả kháng u cao. CD147 được biểu hiện không chỉ trong các tế bào u, mà còn trong các tế bào máu. Tuy nhiên, kháng thể theo sáng chế không tác động lên các tế bào T hoặc PBMC và

độc lập với các chức năng của tế bào thực hiện, và do đó có ưu điểm là đặt ra các lo ngại về độ an toàn ít hơn khi phát triển chúng làm chất kháng u. Kháng thể theo sáng chế có hiệu quả kháng u rất cao. Kháng thể theo sáng chế có hiệu quả trong các tế bào ung thư gan mạnh hơn đáng kể so với hiệu quả của sorafenib được sử dụng làm một trong số các thuốc chăm sóc chuẩn cho bệnh ung thư gan. Kháng thể theo sáng chế có hiệu quả trong các tế bào ung thư tụy, hiệu quả này mạnh hơn đáng kể so với hiệu quả của gemcitabine được sử dụng làm một trong số các thuốc chăm sóc chuẩn cho bệnh ung thư tụy. Kháng thể theo sáng chế có hiệu quả trong các tế bào bạch cầu dạng tủy mạn tính, hiệu quả này mạnh hơn đáng kể so với hiệu quả của imatinib được sử dụng làm một trong số các thuốc chăm sóc chuẩn cho bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính.

**Mô tả vắn tắt các hình vẽ**

Fig.1(a) đến Fig.1(c) thể hiện sự thay đổi thể tích khối u trong mô hình PANC-1 ghép khác loài.

Fig.2-1 thể hiện hoạt tính liên kết với CD147 của người hoặc CD147 của khỉ.

Fig.2-2 thể hiện hoạt tính liên kết với CD147 của người hoặc CD147 của khỉ.

Fig.2-3 thể hiện hoạt tính liên kết với CD147 của người hoặc CD147 của khỉ.

Fig.3 thể hiện sự so sánh của các trình tự axit amin giữa CD147 của người và CD147 của khỉ cynomolgus và các vị trí của mu1 đến mu9 trong CD147 của người và CD147 của khỉ cynomolgus.

Fig.4-1 thể hiện trình tự nucleotit và trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của LN22R8 và các trình tự axit amin của CDRL1, CDRL2, và CDRL3 của chuỗi nhẹ của LN22R8.

Fig.4-2 thể hiện trình tự nucleotit và trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của LN22R8 và các trình tự axit amin của CDRH1, CDRH2, và CDRH3 của chuỗi nặng của LN22R8.

Fig.5-1 thể hiện trình tự nucleotit và trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của 2P10F2 và các trình tự axit amin của CDRL1, CDRL2, và CDRL3 của chuỗi nhẹ của 2P10F2.

Fig.5-2 thể hiện trình tự nucleotit và trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của 2P10F2 và các trình tự axit amin của CDRH1, CDRH2, và CDRH3 của chuỗi nặng của 2P10F2.

Fig.6 thể hiện các hoạt tính ADCC của các kháng thể thể khảm của người.

Fig.7 thể hiện các hoạt tính CDC của các kháng thể thể khảm của người.

Fig.8 thể hiện các hoạt tính ADCP của các kháng thể thể khảm của người.

Fig.9-1(a) đến Fig.9-1(d) thể hiện hiệu quả kháng u của các kháng thể trong mô hình cấy MIA PaCa-2 dưới da bằng cách sử dụng chuột NOD-scid.

Fig.9-2(e) đến Fig.9-2(g) thể hiện hiệu quả kháng u của các kháng thể trong mô hình cấy MIA PaCa-2 dưới da bằng cách sử dụng chuột NOD-scid.

Fig.10 thể hiện hiệu quả kháng u của LN22R8chIgG4P trong mô hình cấy MIA PaCa-2 dưới da bằng cách sử dụng chuột NOG.

Fig.11(a) đến Fig.11(d) thể hiện hiệu quả kháng u của r#84, r#101, r#110, và r#131 trong mô hình cấy MIA PaCa-2 dưới da bằng cách sử dụng chuột NOD-scid.

Fig.12 thể hiện thử nghiệm cạnh tranh của 2P10F2 với r#84, r#101, r#110, và r#131.

Fig.13-1(a) đến Fig.13-1 (d) thể hiện hiệu quả kháng u của các kháng thể thể khảm trong mô hình cấy MIA PaCa-2 dưới da.

Fig.13-2(e) đến Fig.13-2(h) thể hiện hiệu quả kháng u của các kháng thể thể khảm trong mô hình cấy MIA PaCa-2 dưới da.

Fig.13-3 (i) đến Fig.13-3 (l) thể hiện hiệu quả kháng u của các kháng thể thể khảm trong mô hình cấy MIA PaCa-2 dưới da.

Fig.13-4 (m) và Fig.13-4 (n) thể hiện hiệu quả kháng u của các kháng thể thể khảm trong mô hình cấy MIA PaCa-2 dưới da.

Fig.14(a) thể hiện thiết kế của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể nhân hóa #84H1h, và Fig.14(b) thể hiện thiết kế của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể nhân hóa #84L2h.

Fig.15(a) thể hiện thiết kế của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể nhân hóa #101H1h, và Fig.15(b) thể hiện thiết kế của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể nhân hóa #101L2h.

Fig.16(a) thể hiện thiết kế của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể nhân hóa #110H1h, Fig.16(b) thể hiện thiết kế của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể nhân hóa #110H13h, Fig.16(c) thể hiện thiết kế của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể nhân hóa #110L4h, Fig.16(d) thể hiện thiết kế của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể nhân hóa #110L2h, và Fig.16(e) thể hiện thiết kế của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể nhân hóa #110L12h.

Fig.17(a) thể hiện thiết kế của vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể nhân hóa #131H2h, và Fig.17(b) thể hiện thiết kế của vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể nhân hóa #131L2h.

Fig.18(a) đến Fig.18(d) thể hiện hiệu quả kháng u của các kháng thể nhân hóa trong mô hình cấy MIA PaCa-2 dưới da.

Fig.19 thể hiện sự phosphoryl hóa p38MAPK bởi kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người.

Fig.20 (a) và Fig.20 (b) thể hiện sự phosphoryl hóa HSP27 bởi kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người.

Fig.21(a) đến Fig.21(c) thể hiện sự phosphoryl hóa p38MAPK bởi kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người trong các khối u.

Fig.22(a) đến Fig.22(c) thể hiện sự biểu hiện của ipo8, cxcl8 và rhoB bởi các kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người.

Fig.23 (a) đến Fig.23 (c) thể hiện sự biểu hiện của ipo8, cxcl8 và rhoB bởi kháng thể của chuột kháng CD147 của người và kháng thể thể khảm của người của nó.

Fig.24 thể hiện các kết quả của việc đánh giá hiệu quả kháng u của các kháng thể kháng CD147 và gemcitabine bằng cách sử dụng các tế bào ung thư tụy BxPC-3 âm tính với SMAD4.

Fig.25(a) đến Fig.2 (c) thể hiện các kết quả của việc đánh giá hiệu quả kháng u của các kháng thể thể khảm của người kháng CD147 bằng cách sử dụng BxPC-3 biểu hiện ổn định SMAD4.

Fig.26(a) và Fig.26 (b) thể hiện sự phosphoryl hóa p38MAPK bởi kháng thể thể khảm của người kháng CD147 trong mô hình cấy dưới da bằng các tế bào ung thư tụy BxPC-3 biểu hiện SMAD4.

Fig.27 thể hiện hiệu quả kháng u của kháng thể thể khảm của người kháng CD147 trong mô hình khối u ung thư tụy kháng gemxitabin.

Fig.28(a) thể hiện kết quả khẳng định sự biểu hiện CD147 trong các tế bào Hep G2 bằng cách sử dụng máy đếm tế bào theo dòng. Fig.28(b) thể hiện sự hoạt hóa p38MAPK bởi các kháng thể CD147 nhân hóa trong các tế bào ung thư gan.

Fig.29(a) đến Fig.29 (d) thể hiện sự so sánh hiệu quả kháng u của các kháng thể CD147 với sorafenib trong bệnh ung thư gan.

Fig.30 thể hiện sự liên kết CD147-APC trong các tế bào dương tính với CD3 và CD4 và các tế bào dương tính với CD3 và CD8.

Fig.31 thể hiện việc đánh giá sự ảnh hưởng của các kháng thể kháng CD147 của người đến sự phát triển của các tế bào đơn nhân máu ngoại vi người.

Fig.32 thể hiện việc đánh giá sự ảnh hưởng của các kháng thể kháng CD147 của người đến sự sản sinh xytokin bởi các tế bào lympho máu ngoại vi của người.

Fig.33-1 thể hiện trình tự nucleotit và trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột, và các trình tự axit amin của CDRL1, CDRL2, và CDRL3 của chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột.

Fig.33-2 thể hiện trình tự nucleotit và trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#84 của chuột và các trình tự axit amin của CDRH1, CDRH2, và CDRH3 của chuỗi nặng của CD147_#84 của chuột.

Fig.34-1 thể hiện trình tự nucleotit và trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột, và các trình tự axit amin của CDRL1, CDRL2, và CDRL3 của chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột.

Fig.34-2 thể hiện trình tự nucleotit và trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#101 của chuột và các trình tự axit amin của CDRH1, CDRH2, và CDRH3 của chuỗi nặng của CD147_#101 của chuột.

Fig.35-1 thể hiện trình tự nucleotit và trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột, và các trình tự axit amin của CDRL1, CDRL2, và CDRL3 của chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột.

Fig.35-2 thể hiện trình tự nucleotit và trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#110 của chuột và các trình tự axit amin của CDRH1, CDRH2, và CDRH3 của chuỗi nặng của CD147_#110 của chuột.

Fig.36-1 thể hiện trình tự nucleotit và trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột, và các trình tự axit amin của CDRL1, CDRL2, và CDRL3 của chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột.

Fig.36-2 thể hiện trình tự nucleotit và trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#131 của chuột và các trình tự axit amin của CDRH1, CDRH2, và CDRH3 của chuỗi nặng của CD147_#131 của chuột.

Fig.37-1 thể hiện trình tự axit amin và trình tự nucleotit của #84H1hIgG2.

Fig.37-2 thể hiện trình tự axit amin và trình tự nucleotit của #84H1hIgG4P.

Fig.37-3 thể hiện trình tự axit amin và trình tự nucleotit của #84L2h.

Fig.38-1 thể hiện trình tự axit amin và trình tự nucleotit của #101H1hIgG2.

Fig.38-2 thể hiện trình tự axit amin và trình tự nucleotit của #101H1hIgG4P.

Fig.38-3 thể hiện trình tự axit amin và trình tự nucleotit của #101L2h.

Fig.39-1 thể hiện trình tự axit amin và trình tự nucleotit của #110H1hIgG4P.

Fig.39-2 thể hiện trình tự axit amin và trình tự nucleotit của #110H13hIgG4P.

Fig.39-3 thể hiện trình tự axit amin và trình tự nucleotit của #110L4h.

Fig.39-4 thể hiện trình tự axit amin và trình tự nucleotit của #110L2h.

Fig.39-5 thể hiện trình tự axit amin và trình tự nucleotit của #110L12h.

Fig.40-1 thể hiện trình tự axit amin và trình tự nucleotit của #131H2hIgG2.

Fig.40-2 thể hiện trình tự axit amin và trình tự nucleotit của #131L2h.

Fig.41 là sơ đồ dạng dải thể hiện hai phức chất chứa trong đơn vị không đối xứng. CD147 được thể hiện bằng màu đen, và chuỗi nặng (chuỗi H) và chuỗi nhẹ (chuỗi L) của kháng thể được thể hiện bằng màu xám.

Fig.42 thể hiện bề mặt tương tác giữa CD147 và kháng thể. Các axit amin của CD147 trong vùng lân cận của kháng thể này được thể hiện bằng các mô hình dạng que và được đánh dấu bằng các ký tự. Các phần còn lại của CD147 được thể hiện bằng các mô hình dạng dải màu đen. Trong khi đó, axit amin của kháng thể ở vùng lân cận của CD147 được

thể hiện bằng các mô hình dạng đường mảnh, và các phần khác của kháng thể được thể hiện bằng các mô hình dạng dải màu xám.

Fig.43 thể hiện hiệu quả kháng u của các kháng thể CD147 nhân hóa và thể khảm trong mô hình bệnh ung thư dạ dày.

Fig.44 thể hiện hiệu quả kháng u của kháng thể CD147 nhân hóa trong mô hình bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính (CML).

Fig.45 thể hiện hiệu quả kháng u của các kháng thể CD147 nhân hóa trong mô hình bệnh ung thư kết tràng.

Fig.46 thể hiện hiệu quả kháng u của các kháng thể CD147 nhân hóa trong mô hình bệnh ung thư thận.

Fig.47 thể hiện hiệu quả kháng u của kháng thể CD147 nhân hóa trong mô hình bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML).

Fig.48 thể hiện hiệu quả kháng u của các kháng thể CD147 nhân hóa trong mô hình bệnh ung thư tụy.

Fig.49 thể hiện kết quả của ELISA cạnh tranh.

Fig.50 (a) thể hiện hiệu quả kháng u của kháng thể CD147 nhân hóa bằng cách sử dụng tế bào MIA PaCa-2, và Fig.50 (b) thể hiện hiệu quả kháng u của kháng thể CD147 nhân hóa bằng cách sử dụng các tế bào MIA PaCa-2 biểu hiện KLF5 để so sánh.

**Mô tả chi tiết sáng chế**

Các phương án được ưu tiên theo sáng chế là như được mô tả dưới đây dựa vào các hình vẽ. Các phương án được mô tả sau đây minh họa các phương án đại diện làm ví dụ của sáng chế, và phạm vi của sáng chế không được hiểu theo cách hẹp bởi các phương án này.

(Định nghĩa) Các thuật ngữ "(các) bệnh ung thư" và "(các) khối u" như được sử dụng ở đây được sử dụng như các từ đồng nghĩa, và mỗi thuật ngữ được sử dụng để chỉ, nếu không được giới hạn cụ thể theo cách khác, bệnh ung thư thể rắn, bệnh ung thư không ở thể rắn, hoặc cả hai loại bệnh này.

Ví dụ về thuật ngữ "(các) gen" như được sử dụng ở đây bao gồm không chỉ ADN, mà còn mARN của nó, và cADN và cARN của nó.

Thuật ngữ "(các) polynucleotit" hoặc "(các) nucleotit" như được sử dụng ở đây được sử dụng theo cách đồng nghĩa với "axit nucleic" và ví dụ về chúng bao gồm ADN, ARN, các đoạn dò, các oligonucleotit, và các đoạn mồi.

Các thuật ngữ "(các) polypeptit" và "(các) protein" được sử dụng ở đây theo cách không phân biệt.

Ví dụ về thuật ngữ "tế bào" như được sử dụng ở đây bao gồm các tế bào trong động vật riêng biệt và các tế bào nuôi cấy.

Thuật ngữ "CD147" như được sử dụng ở đây được sử dụng theo cách đồng nghĩa với " protein CD147 ".

Thuật ngữ "đoạn chức năng của kháng thể" còn được gọi là "đoạn liên kết kháng nguyên của kháng thể" như được sử dụng ở đây để chỉ một đoạn của kháng thể có hoạt tính liên kết với kháng nguyên. Ví dụ về chúng bao gồm Fab, F(ab')2, Fv, scFv, kháng thể đime, kháng thể tuyến tính và kháng thể đa giá được tạo thành từ các đoạn kháng thể. Ví dụ về đoạn liên kết kháng nguyên của kháng thể còn bao gồm Fab', là đoạn đơn hóa trị của vùng biến đổi của kháng thể, và được điều chế bằng cách xử lý F(ab')2 trong điều kiện khử. Tuy nhiên, ví dụ về chúng không bị giới hạn ở các phân tử này miễn là chúng có khả năng liên kết với các kháng nguyên. Ví dụ về các đoạn liên kết kháng nguyên này bao gồm không chỉ các đoạn được điều chế bằng cách xử lý các phân tử protein kháng thể có chiều dài đầy đủ bằng các enzym thích hợp, mà còn các protein được tạo ra bởi các tế bào chủ thích hợp bằng cách sử dụng các gen của kháng thể được biến đổi bằng các kỹ thuật thao tác di truyền.

Thuật ngữ "hoạt tính tế bào thực hiện" như được sử dụng ở đây để chỉ hoặc một hoặc nhiều hoạt tính trong số tính độc tế bào của tế bào phụ thuộc kháng thể (antibody-dependent cellular cytotoxicity, sau đây được gọi là "ADCC"), hoạt tính tính độc tế bào phụ thuộc bổ thể (complement-dependen tcytotoxicity, sau đây được gọi là "CDC"), và hoạt tính thực bào của tế bào phụ thuộc kháng thể (antibody-dependent cellular phagocytosis, sau đây được gọi là "ADCP").

Thuật ngữ "các chức năng của tế bào thực hiện" được sử dụng ở đây để chỉ sự biểu hiện một hoặc nhiều "hoạt tính tế bào thực hiện".

Hoạt tính tính độc tế bào của tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) có thể được xác định bằng phương pháp phân tích mức độ giải phóng $^{51}Cr$, phương pháp này xác định mức

độ chết tế bào gây ra khi các tế bào miễn dịch có hoạt tính tế bào thực hiện, kháng thể và các tế bào đích được đánh dấu bằng $^{51}Cr$ được cho tiếp xúc với nhau. Hoạt tính ADCC của kháng thể kháng CD147 của người theo sáng chế được xác định như sau. Liên quan đến hoạt tính ADCC của kháng thể kháng CD147 của người, các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) của người được sử dụng làm các tế bào thực hiện, và dòng tế bào ung thư của người dương tính với CD147 (ví dụ, dòng tế bào ung thư tụy MIAPaCa-2) được sử dụng làm tế bào đích của ADCC. Các tế bào ung thư được đánh dấu bằng chất đồng vị phóng xạ, $^{51}Cr$, và kháng thể cần đánh giá được xử lý ở nồng độ 0,5 hoặc 5 μg/ml ở nhiệt độ 4°C trong 30 phút, PBMC tách ra từ máu ngoại vi của người được bổ sung ở tỷ lệ 20 lần tỷ lệ của các tế bào ung thư, và sau đó tế bào được nuôi cấy trong 4 giờ ở 37°C với sự có mặt của 5% $CO_2$. Giá trị tổng lượng giải phóng thu được bằng cách xác định lượng $^{51}Cr$ được giải phóng trong dịch nổi bề mặt bằng cách sử dụng TopCountNXTv2.53. Giá trị xác định được của lượng $^{51}Cr$ được giải phóng từ các tế bào ung thư được đánh dấu bằng $^{51}Cr$ được xử lý bằng Triton-100 được chọn làm "giá trị lượng giải phóng tối đa" và giá trị xác định được của lượng $^{51}Cr$ được giải phóng từ các tế bào ung thư được đánh dấu bằng $^{51}Cr$ được xử lý bằng kháng thể khi không có mặt PBMC được chọn làm "giá trị lượng giải phóng tự nhiên". Với các giá trị này, % giải phóng đặc hiệu được tính từ công thức sau đây. Để làm mẫu đối chứng âm, IgG của người (hIgG, ChromPure HumanIgG, Jackson Immuno Research Laboratories, Cat. 009-000-003) được sử dụng. Việc xác định được thực hiện ba lần, và sau đó giá trị trung bình và độ lệch chuẩn được tính.

% giải phóng đặc hiệu=(Tổng lượng giải phóng-Lượng giải phóng tự nhiên)/Lượng giải phóng tối đa

Hoạt tính tính độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC) có thể được đánh giá bằng cách xác định mức độ chết tế bào gây ra khi bổ thể chứa trong máu, kháng thể và các tế bào đích được cho tiếp xúc với nhau. Hoạt tính CDC của kháng thể kháng CD147 của người theo sáng chế được xác định như sau. Hoạt tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (hoạt tính CDC) của kháng thể kháng CD147 của người được đánh giá bằng cách sử dụng dòng tế bào tụy của người MIAPaCa-2 làm tế bào đích. Bổ thể của thỏ có bán trên thị trường (LowTox-M Rabbit Complement, CEDARLANELABORATORIESLIMITED, Cat.CL3051) được sử

dụng làm bổ thể. IgG của người (hIgG, Chrom Pure Human IgG, Jackson Immuno Research Laboratories, Cat.009-000-003) được sử dụng làm kháng thể đối chứng âm CDC. Các tế bào đích được xử lý bằng kháng thể cần đánh giá và kháng thể đối chứng âm ở các nồng độ 0, 0,1, 1 hoặc 10 μg/ml trong 1 giờ ở 4°C, bổ thể của thỏ được bổ sung theo cách sao cho nồng độ cuối là 7,5%, hỗn hợp thu được được gia nhiệt ở 37°C với sự có mặt của 5% $CO_2$ trong 3 giờ, và sau đó ATP nội bào chứa trong các tế bào sống được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm khả năng sống tế bào phát quang CellTiter-Glo (Promega, Cat.G7572). Các tín hiệu phát quang thu được bằng cách sử dụng thử nghiệm khả năng sống tế bào phát quang CellTiter-Glo được xác định định lượng bằng cách sử dụng máy đọc EnVision2104 Multilabel (PerkinElmer). Việc xác định này được thực hiện ba lần và giá trị trung bình và độ lệch chuẩn được tính. Các tín hiệu phát quang thu được từ các tế bào không được xử lý được chọn làm 100%, và các tín hiệu phát quang giảm đi phụ thuộc vào kháng thể và bổ thể được chọn làm hoạt tính CDC.

Hoạt tính thực bào của tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCP) có thể được đánh giá bằng cách xác định mức độ thực bào gây ra khi các tế bào miễn dịch có khả năng thực bào, kháng thể và các tế bào đích được cho tiếp xúc với nhau bằng phương pháp đánh dấu huỳnh quang kép.

Hoạt tính ADCP của kháng thể kháng CD147 của người theo sáng chế được xác định như sau. Đã có thông báo rằng kháng thể IgG của người có hoạt tính gây độc tế bào chống lại các tế bào ung thư thông qua việc cảm ứng quá trình thực bào của tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCP) bởi các bạch cầu đơn nhân và các đại thực bào thông qua sự tương tác với thụ thể Fcγ của chuột nhắt (Overdijketal., Journal of Immunology, 1-9, 2012). Hoạt tính ADCP của kháng thể thể khảm của người theo sáng chế được đánh giá bằng cách sử dụng RAW264.7 (ATCC, TIB-71) làm các tế bào thực hiện và dòng tế bào tụy của người PANC-1 hoặc MIAPaCa-2 làm tế bào đích của ADCP. Sau 1 giờ xử lý các tế bào đích của ADCP được đánh dấu bằng cách sử dụng MiniKit liên kết tế bào huỳnh quang xanh lá cây PKH67 để đánh dấu màng tế bào thông thường (SIGMA, Cat. MINI67-1KIT) bằng kháng thể cần đánh giá có nồng độ 20 μg/ml ở 4°C, các tế bào RAW264.7 được đánh dấu bằng cách sử dụng kit liên kết tế bào huỳnh quang đỏ PKH26 để đánh dấu màng tế bào thông thường (SIGMA, Cat. PKH26GL-1KT) được bổ sung với lượng bằng 5 lần lượng của tế

bào đích của ADCP, sau đó gia nhiệt trong 3 giờ ở 37°C với sự có mặt của 5% $CO_2$. Với việc sử dụng máy đếm tế bào theo dòng (BD (Becton, Dickinson and Company), CantoII), tỷ lệ của các tế bào dương tính với PKH26, được chuyển thành trạng thái dương tính với tín hiệu PKH67 do quá trình thực bào, được xác định. Để làm mẫu đối chứng âm, việc xác định này được thực hiện đối với mẫu được xử lý bằng IgG của người (hIgG, ChromPure Human IgG, Jackson Immuno Research Laboratories, Cat. 009-000-003). Việc xác định được thực hiện ba lần và giá trị trung bình và độ lệch chuẩn được tính.

Thuật ngữ "gần như không có hoạt tính tế bào thực hiện" hoặc "có hoạt tính tế bào thực hiện giảm hoặc không có hoạt tính tế bào thực hiện" như được sử dụng ở đây có nghĩa là kháng thể không thể hiện ít nhất một trong số hoạt tính ADCC, hoạt tính CDC hoặc hoạt tính ADCP, hoặc mức độ của các hoạt tính này thấp đến mức các chức năng này không được thể hiện đủ. Thuật ngữ "gần như không có hoạt tính tế bào thực hiện" hoặc "có hoạt tính tế bào thực hiện giảm hoặc không có hoạt tính tế bào thực hiện" có nghĩa là, ví dụ, hoạt tính của kháng thể cần đánh giá là ở mức giống như của đối chứng âm khi được xác định bằng một trong số các phương pháp nêu trên để đánh giá hoạt tính.

Thuật ngữ "có hoạt tính ADCC giảm hoặc không có hoạt tính ADCC" như được sử dụng ở đây có nghĩa là kháng thể cần đánh giá không thể hiện hoạt tính ADCC, hoặc hoạt tính ADCC ở mức thấp đến nỗi nó không được thể hiện đủ. Thuật ngữ "có hoạt tính ADCC giảm hoặc không có hoạt tính ADCC" có nghĩa là, ví dụ hoạt tính của kháng thể cần đánh giá là ở mức giống như của đối chứng âm khi được xác định bằng phương pháp nêu trên để đánh giá hoạt tính.

Thuật ngữ "có hoạt tính CDC giảm hoặc không có hoạt tính CDC" có nghĩa là kháng thể cần đánh giá không thể hiện hoạt tính CDC, hoặc, hoạt tính CDC ở mức thấp đến nỗi nó không được thể hiện đủ. Thuật ngữ "có hoạt tính CDC giảm hoặc không có hoạt tính CDC" có nghĩa là, ví dụ, hoạt tính của kháng thể cần đánh giá là ở mức giống như của đối chứng âm khi được xác định bằng phương pháp nêu trên để đánh giá hoạt tính.

Thuật ngữ "có hoạt tính ADCP giảm hoặc không có hoạt tính ADCP" có nghĩa là kháng thể cần đánh giá không thể hiện hoạt tính ADCP, hoặc, hoạt tính ADCP ở mức thấp đến nỗi nó không được thể hiện đủ. Thuật ngữ "có hoạt tính ADCP giảm hoặc không có

hoạt tính ADCP" có nghĩa là, ví dụ, hoạt tính của kháng thể cần đánh giá là ở mức giống như của đối chứng âm khi được xác định bằng phương pháp nêu trên để đánh giá hoạt tính.

Thuật ngữ "có hoạt tính ADCC giảm hoặc không có hoạt tính ADCC", "có hoạt tính CDC giảm hoặc không có hoạt tính CDC" hoặc "có hoạt tính ADCP giảm hoặc không có hoạt tính ADCP" có nghĩa là, ví dụ, hoạt tính của mỗi kháng thể cần đánh giá là ở mức giống như của đối chứng âm khi được xác định bằng các phương pháp nêu trên để đánh giá hoạt tính.

Thuật ngữ "hoạt hóa sự truyền tín hiệu thông qua CD147", "sự hoạt hóa các phân tử liên quan đến tín hiệu thông qua CD147", "sự hoạt hóa CD147" hoặc "hoạt hóa CD147" như được sử dụng ở đây để chỉ sự hoạt hóa một hoặc nhiều hệ thống truyền tín hiệu tế bào thông qua CD147 và có nghĩa là ít nhất một trong số các phân tử liên quan đến tín hiệu ở vị trí xuôi dòng của CD147 được hoạt hóa. Việc hoạt hóa sự truyền tín hiệu thông qua CD147 có nghĩa là sự biểu hiện của gen ở vị trí xuôi dòng của tín hiệu CD147 được tăng lên hoặc giảm đi, sự biểu hiện của protein này được tăng lên hoặc giảm đi, hoặc sự phosphoryl hóa protein này được tăng lên hoặc giảm đi. Ví dụ về các phân tử liên quan đến tín hiệu ở vị trí xuôi dòng của CD147 bao gồm, FAK, MEK, Erk, JAK/STAT, AKT hoặc MAP kinaza (MAPK), hoặc sự hoạt hóa các phân tử tín hiệu ở vị trí xuôi dòng hơn nữa của nó. Ví dụ về MAPK bao gồm ERK1/2, JNK hoặc p38MAPK, và tốt hơn nữa là p38MAPK. Ví dụ về các phân tử tín hiệu ở vị trí xuôi dòng hơn nữa của MAPK bao gồm HSP27, cxcl8 hoặc SMAD (ví dụ, SMAD2, SMAD3 và/hoặc SMAD4). Ví dụ về "sự hoạt hóa CD147" bao gồm mức biểu hiện mARN p38MAPK tăng lên, mức biểu hiện protein p38MAPK tăng lên, sự phosphoryl hóa p38MAPK, sự phosphoryl hóa HSP27 (ví dụ, sự phosphoryl hóa Ser82 của HSP27 hoặc sự phosphoryl hóa Ser15 của HSP27), mức biểu hiện mARN cxcl8 tăng lên, mức biểu hiện protein cxcl8 tăng lên, mức biểu hiện mARN rhoB tăng lên hoặc mức biểu hiện protein rhoB tăng lên thông qua sự hoạt hoá tín hiệu SMAD, hoặc, mức biểu hiện mARN KLF5 giảm đi hoặc mức biểu hiện protein KLF5 giảm đi.

Thuật ngữ "epitop" được sử dụng ở đây để chỉ một phần peptit, hoặc một phần cấu trúc ba chiều của CD147, mà kháng thể đặc hiệu kháng CD147 liên kết với. Epitop nêu trên là một phần peptit của CD147 có thể được xác định bằng phương pháp đã biết rõ bởi

người có hiểu biết trong lĩnh vực này, như phương pháp thử nghiệm miễn dịch. Trước hết, các cấu trúc riêng phần khác nhau của các kháng nguyên được tạo ra. Khi tạo ra các cấu trúc riêng phần, các kỹ thuật tổng hợp oligonucleotit đã biết có thể được sử dụng. Ví dụ, dãy các polypeptit được tạo ra bằng các kỹ thuật tái tổ hợp gen đã biết bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực này theo cách sao cho độ dài của các polypeptit từ đầu tận cùng C hoặc đầu tận cùng N của CD147 liên tục được rút ngắn, khả năng phản ứng của kháng thể với các polypeptit này được kiểm tra, các vị trí nhận biết được xác định thô, các peptit thậm chí là ngắn hơn các polypeptit này được tổng hợp, và sau đó khả năng phản ứng với các peptit này được kiểm tra, để cho epitop có thể được xác định. Hơn nữa, khi epitop của kháng thể, mà liên kết với protein màng bao gồm nhiều vùng ngoại bào, là cấu trúc ba chiều bao gồm nhiều vùng, trình tự axit amin của vùng ngoại bào cụ thể có thể được cải biến để làm thay đổi cấu trúc ba chiều, để cho vùng cụ thể mà kháng thể liên kết với có thể được xác định. Epitop là một phần cấu trúc ba chiều của kháng nguyên, mà kháng thể đặc hiệu liên kết với, cũng có thể được xác định bằng cách chỉ rõ các gốc axit amin của kháng nguyên liền kề với kháng thể nêu trên bằng cách phân tích cấu trúc tia X.

Nếu kháng thể thứ hai liên kết với một phần peptit hoặc một phần cấu trúc ba chiều, mà kháng thể thứ nhất liên kết với, có thể xác định được rằng kháng thể thứ nhất và kháng thể thứ hai có epitop chung. Thông qua việc khẳng định kháng thể thứ hai cạnh tranh chéo với kháng thể thứ nhất về sự liên kết của nó với kháng nguyên (cụ thể, kháng thể thứ hai ức chế sự liên kết của kháng thể thứ nhất với kháng nguyên), có thể xác định được rằng kháng thể thứ nhất và kháng thể thứ hai liên kết với cùng một epitop, ngay cả khi trình tự hoặc cấu trúc cụ thể của epitop này không được xác định. Khi kháng thể thứ nhất và kháng thể thứ hai liên kết với cùng một epitop, và kháng thể thứ nhất có tác dụng đặc biệt như hiệu quả kháng u, kháng thể thứ hai có thể được mong đợi có hoạt tính tương tự.

Mỗi chuỗi trong số các chuỗi nặng và các chuỗi nhẹ của phân tử kháng thể được biết là có 3 vùng quyết định tính bổ trợ (complementarity determining region, CDR). Các vùng quyết định tính bổ trợ còn được gọi là các vùng siêu biến (hypervariable domain), nằm trong các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể, là các vị trí mà ở đó khả năng biến đổi của cấu trúc bậc nhất là đặc biệt cao, và nằm riêng rẽ trong cấu trúc bậc nhất của các mạch polypeptit của các chuỗi nặng và các chuỗi nhẹ. Liên quan đến thuật ngữ

"vùng quyết định tính bổ trợ của kháng thể" như được sử dụng ở đây, vùng quyết định tính bổ trợ chuỗi nặng được ký hiệu là CDRH1, CDRH2, và CDRH3 từ phía đầu tận cùng amino của trình tự axit amin chuỗi nặng, và vùng quyết định tính bổ trợ chuỗi nhẹ được ký hiệu là CDRL1, CDRL2, và CDRL3 từ phía đầu tận cùng amino của trình tự axit amin chuỗi nhẹ. Các vị trí này là liền kề với nhau trên cấu trúc ba chiều, và quyết định tính đặc hiệu với kháng nguyên mà kháng thể liên kết với.

Thuật ngữ "một số" như được sử dụng ở đây trong các thuật ngữ "1 đến một số" và "1 hoặc một số" để chỉ 2 đến 10, tốt hơn là 10 hoặc ít hơn, tốt hơn nữa là 5 hoặc 6 hoặc ít hơn, còn tốt hơn nữa là 2 hoặc 3.

CD147

CD147 là protein xuyên màng một lần có 2 đến 3 vùng giống globulin miễn dịch, và được biết là hoạt hóa các phân tử liên quan đến tín hiệu xuôi dòng, như các phân tử thuộc họ FAK, MEK, Erk, JAK/STAT, AKT và MAPK thông qua các tương tác giữa nhiều protein CD147, hoặc thông qua các tương tác với các phân tử bề mặt màng tế bào hoặc ngoại bào có liên quan đến quá trình phát triển, xâm lấn, và viêm, như CD44, các phân tử thuộc họ Integrin, CD98, VEGFR, CypA/B, và MCT1/3/4, bằng cách đó làm tăng quá trình sản sinh các proteaza như MMP, và phát triển bệnh ung thư, di căn, và xâm lấn.

Ba biến thể của CD147 của người là đã biết. Biến thể 1 được biểu hiện theo cách đặc trưng cho võng mạc và là protein xuyên màng một lần có 3 vùng giống globulin miễn dịch (các vùng này có thể được gọi là D0, D1 và D2, tương ứng ở đây.). Biến thể 2 được biểu hiện trong các tế bào T hoặc các tế bào bình thường khác nhau, và, là protein xuyên màng một lần có 2 vùng giống globulin miễn dịch (D1, D2), sự biểu hiện tăng lên của nó trong các mô ung thư khác nhau đã được thông báo. Biến thể 3 là protein xuyên màng một lần có 1 vùng giống globulin miễn dịch.

Trình tự axit amin và trình tự nucleotit của biến thể 1 của CD147 của người là có thể thu được dựa vào các mã số lưu giữ trong GenBank NP_001719.2 và NM_001728.3, và, trình tự axit amin được bộc lộ ở đây là SEQ ID NO: 1, và trình tự nucleotit được bộc lộ ở đây là SEQ ID NO: 2. Ba vùng giống globulin miễn dịch của biến thể 1 nằm trong khoảng từ axit amin số 22 đến 138 (D0), axit amin số 140 đến 218 (D1), và axit amin số 223 đến 323 (D2), tương ứng, trong SEQ ID NO: 1, (Redzic, J., J. Mol. Biol., 2011, 68-

82) (Grassetal., Biosol. Rep, 2016, 1-16). Vùng xuyên màng của biến thể 1 nằm trong khoảng từ axit amin số 324 đến 344 trong SEQ ID NO: 1.

Trình tự axit amin và trình tự nucleotit của biến thể 2 của CD147 của người là có thể thu được dựa vào mã số lưu giữ trong GenBankNP_940991.1 và NM_198589.2, và trình tự axit amin được bộc lộ ở đây là SEQ ID NO: 3, và trình tự nucleotit được bộc lộ ở đây là SEQ ID NO: 4. Hai vùng giống globulin miễn dịch (D1, D2) của biến thể 2 nằm trong khoảng từ axit amin số 24 đến 102 (D1) và axit amin số 107 đến 207 (D2) tương ứng trong SEQ ID NO: 3. Vùng xuyên màng của biến thể 2 nằm trong khoảng từ axit amin số 208 đến 228 trong SEQ ID NO: 3 (Grassetal., Biosol. Rep, 2016, 1-16).

Trình tự axit amin và trình tự nucleotit của biến thể 3 của CD147 của người là có thể thu được dựa vào mã số lưu giữ trong GenBank NP_940992.1 và NM_198590.2. Gen CD147 của người cũng có thể thu được từ nguồn thương mại.

Trình tự axit amin và trình tự nucleotit của CD147 của khỉ cynomolgus (ở đây còn được gọi là CD147 của khỉ) là có thể thu được dựa vào mã số lưu giữ trong GenBank XP_005587354.1 và XM_005587297.1. Gen CD147 của khỉ cũng có thể thu được từ nguồn thương mại. Trình tự axit amin và trình tự nucleotit của CD147 của chuột là có thể thu được dựa vào mã số lưu giữ trong GenBank NP_001070652.1 và NM_001077184.1. Gen CD147 của chuột cũng có thể thu được từ nguồn thương mại.

CD147 để sử dụng theo sáng chế có thể thu được bằng cách tổng hợp CD147 *in vitro*, hoặc bằng cách sử dụng các tế bào chủ được thiết kế di truyền để tạo ra CD147. Cụ thể, cADN CD147 được đưa vào vectơ có khả năng biểu hiện nó, và sau đó CD147 được tổng hợp trong dung dịch chứa enzym, cơ chất và các chất năng lượng cần thiết cho phiên mã và dịch mã, hoặc các tế bào chủ của các sinh vật nhân nguyên thủy hoặc các sinh vật nhân điển hình khác được biến nạp để biểu hiện CD147, để có thể thu được protein.

cADN của CD147 có thể thu được bằng phản ứng chuỗi polymeraza (sau đây được gọi là "PCR"), tức là, phương pháp PCR, bằng cách sử dụng thư viện cADN biểu hiện cADN của CD147 để làm khuôn, và các đoạn mồi để khuếch đại đặc hiệu cADN của CD147 (Saiki, R. K., etal., Science, (1988)239, 487-49), chẳng hạn.

Ví dụ về cADN của CD147 bao gồm polynucleotit lai hóa trong các điều kiện nghiêm ngặt với polynucleotit bao gồm trình tự nucleotit bổ trợ cho trình tự nucleotit mã

hóa CD147 của người, khỉ hoặc chuột, và, mã hóa protein có hoạt tính sinh học tương đương với hoạt tính sinh học của CD147. Hơn nữa, ví dụ về cADN của CD147 bao gồm polynucleotit là biến thể ghép được phiên mã từ locut gen CD147 của người, khỉ hoặc chuột hoặc ngoài ra polynucleotit lai hóa trong các điều kiện nghiêm ngặt, và, mã hóa protein có hoạt tính sinh học tương đương với hoạt tính sinh học của CD147.

Ví dụ về CD147 còn bao gồm protein: bao gồm trình tự axit amin của CD147 của người, khỉ hoặc chuột, hoặc trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin được thay thế, xóa, hoặc bổ sung trong trình tự axit amin của CD147 của người, khỉ hoặc chuột mà từ đó trình tự tín hiệu được loại bỏ; và có hoạt tính sinh học tương đương với hoạt tính sinh học của CD147. Hơn nữa, ví dụ về CD147 bao gồm protein: bao gồm trình tự axit amin được mã hóa bởi biến thể ghép được phiên mã từ locut gen CD147 của người, khỉ hoặc chuột, hoặc trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin được thay thế, xóa, hoặc bổ sung; và có hoạt tính sinh học tương đương với hoạt tính sinh học của CD147.

Tạo ra kháng thể kháng CD147

Kháng thể kháng CD147 theo sáng chế có thể thu được như sau. Cụ thể, động vật không phải người được gây miễn dịch bằng kháng nguyên cần quan tâm, bạch huyết, mô bạch huyết, mẫu hồng cầu hoặc các tế bào có nguồn gốc tủy xương được thu thập từ động vật sau khi thiết lập tính miễn dịch, và sau đó theo phương pháp đã biết (ví dụ, Kohler and Milstein, Nature (1975)256, p,495-497, Kennet, R. ed., Monoclonal Antibodies, p,365-367, Plenum Press, N. Y. (1980)), các tế bào tạo ra kháng thể mà tạo ra kháng thể kháng CD147, và các tế bào u tủy được dung hợp để tạo thành các tế bào lai, và theo cách đó kháng thể đơn dòng có thể thu được. Ví dụ cụ thể về phương pháp này được mô tả trong WO2009/48072 (được bộc lộ vào ngày 16.4.2009) và WO2010/117011 (được bộc lộ vào ngày 14.10.2010). Ví dụ về kháng thể đơn dòng thu được theo cách này có thể bao gồm LN22R8, 2P10F2, CD147_#84 của chuột, CD147_#101 của chuột, CD147_#110 của chuột và CD147_#131 của chuột. Tuy nhiên, các phương pháp điều chế kháng thể đơn dòng nằm trong mục của trường đã được thiết lập, và ví dụ về chúng không bị giới hạn ở các ví dụ cụ thể nêu trên.

Ví dụ về kháng thể theo sáng chế bao gồm, ngoài kháng thể đơn dòng kháng CD147 nêu trên, kháng thể tái tổ hợp gen, được biến đổi nhân tạo để làm giảm tính kháng nguyên

khác loài kháng người, ví dụ, kháng thể thể khảm, kháng thể nhân hóa, và kháng thể của người. Các kháng thể này có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết.

Ví dụ về kháng thể thể khảm có thể bao gồm các kháng thể trong đó các vùng biến đổi và các vùng hằng định của kháng thể là khác loài với nhau, ví dụ, kháng thể thể khảm, trong đó vùng biến đổi kháng thể có nguồn gốc từ chuột nhắt hoặc chuột được nối với vùng hằng định có nguồn gốc từ người (xem Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 81, 6851-6855, (1984)). Ví dụ về kháng thể thể khảm có nguồn gốc từ LN22R8 là kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 471 của SEQ ID NO: 33, chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 467 của SEQ ID NO: 35 hoặc chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 468 của SEQ ID NO: 37, và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 31 trong danh mục trình tự. Ví dụ về kháng thể thể khảm có nguồn gốc từ 2P10F2 là kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 của SEQ ID NO: 43, chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 462 của SEQ ID NO: 45 hoặc chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 463 của SEQ ID NO: 47, và chuỗi nhẹ có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 41 trong danh mục trình tự.

Ví dụ về kháng thể thể khảm có nguồn gốc từ CD147_#84 của chuột là kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 470 của SEQ ID NO: 92, chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 của SEQ ID NO: 94, và chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 467 của SEQ ID NO: 96, chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 470 của SEQ ID NO: 98 hoặc chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 467 của SEQ ID NO: 100, và, chuỗi nhẹ có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 90 trong danh mục trình tự.

Ví dụ về kháng thể thể khảm có nguồn gốc từ CD147_#101 của chuột là kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 463 của SEQ ID NO: 104, chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở

các vị trí 20 đến 464 của SEQ ID NO: 106 hoặc chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 464 của SEQ ID NO: 108, và, chuỗi nhẹ có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 102 trong danh mục trình tự.

Ví dụ về kháng thể thể khảm có nguồn gốc từ CD147_#110 của chuột là kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 462 của SEQ ID NO: 112, chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 463 của SEQ ID NO: 114 hoặc chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 463 của SEQ ID NO: 116, và, chuỗi nhẹ có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 110 trong danh mục trình tự.

Ví dụ về kháng thể thể khảm có nguồn gốc từ CD147_#131 của chuột là kháng thể bao gồm chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 464 của SEQ ID NO: 120 hoặc chuỗi nặng có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 465 của SEQ ID NO: 122, và, chuỗi nhẹ có trình tự axit amin bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 của SEQ ID NO: 118 trong danh mục trình tự.

Ví dụ kháng thể nhân hóa có thể bao gồm, kháng thể trong đó chỉ các CDR được đưa vào kháng thể có nguồn gốc từ người (xem Nature (1986) 321, trang 522-525), kháng thể trong đó các gốc axit amin của một phần vùng khung ngoài trình tự CDR cũng được đưa vào kháng thể của người bằng phương pháp ghép CDR (Công bố đơn quốc tế số WO90/07861).

Ví dụ kháng thể theo sáng chế bao gồm kháng thể nhân hóa bất kỳ có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#84 của chuột, miễn là nó giữ được toàn bộ 6 loại trình tự CDR của CD147_#84 của chuột, có hoạt tính liên kết với CD147, và, là kháng thể hoạt hóa CD147. Lưu ý rằng vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể CD147_#84 của chuột bao gồm CDRH1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 55, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 56, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 57. Vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể CD147_#84 của chuột bao gồm CDRL1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 52, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 53,

và CDRL3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 54. Trình tự axit amin và trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoặc vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể CD147_#84 của chuột, và các trình tự axit amin của các CDR cũng được mô tả trên Fig. 33-1 và Fig. 33-2.

Ví dụ về kháng thể theo sáng chế bao gồm kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#101 của chuột, miễn là nó giữ được toàn bộ 6 loại trình tự CDR của CD147_#101 của chuột, có hoạt tính liên kết với CD147, và, là kháng thể hoạt hóa CD147. Lưu ý rằng vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể CD147_#101 của chuột bao gồm CDRH1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 65, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 66, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 67. Vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể CD147_#101 của chuột bao gồm CDRL1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 62, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 63, và CDRL3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 64. Trình tự axit amin và trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoặc vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể CD147_#101 của chuột, và các trình tự axit amin của các CDR cũng được mô tả trên Fig. 34-1 và Fig. 34-2.

Ví dụ về kháng thể theo sáng chế bao gồm kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#110 của chuột, miễn là nó giữ được toàn bộ 6 loại trình tự CDR của CD147_#110 của chuột, có hoạt tính liên kết với CD147, và, là kháng thể hoạt hóa CD147. Lưu ý rằng vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể CD147_#110 của chuột bao gồm CDRH1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 75, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 76, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 77. Vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể CD147_#110 của chuột bao gồm CDRL1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 72, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 73, và CDRL3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 74. Trình tự axit amin và trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoặc vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể CD147_#110 của chuột và các trình tự axit amin của các CDR cũng được mô tả trên Fig. 35-1 và Fig. 35-2.

Ví dụ về kháng thể theo sáng chế bao gồm kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#131 của chuột, miễn là nó giữ được toàn bộ 6 loại trình tự CDR của CD147_#131 của chuột, có hoạt tính liên kết với CD147, và, là kháng thể hoạt hóa CD147. Lưu ý rằng vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể CD147_#131 của chuột bao gồm CDRH1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 85, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 86, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 87. Vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể CD147_#131 của chuột bao gồm CDRL1 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 82, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 83, và CDRL3 bao gồm trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 84. Trình tự axit amin và trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nhẹ hoặc vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể CD147_#131 của chuột và các trình tự axit amin của các CDR cũng được mô tả trên Fig. 36-1 và Fig. 36-2.

Ví dụ về kháng thể theo sáng chế còn bao gồm kháng thể nhân hóa được cải biến CDR trong đó 1 đến 3 gốc axit amin trong mỗi CDR được thay thế bằng các gốc axit amin khác, miễn là nó có hoạt tính liên kết với CD147, và, là kháng thể hoạt hóa CD147.

Ví dụ về kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#84 của chuột bao gồm kháng thể nhân hóa kháng CD147 hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của kháng thể này, có vùng (a) và (b) sau đây:

(a) vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ nhóm bao gồm (a1) đến (a4) sau đây:

(a1) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 140 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 123;

(a2) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 140 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 125;

(a3) trình tự axit amin có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% hoặc cao hơn với trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (a1) hoặc (a2); và

(a4) trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin bị xóa, thay thế, hoặc bổ sung trong trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự theo mục bất kỳ trong số (a1) đến (a3); và

(b) vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn từ nhóm bao gồm (b1) đến (b3) sau đây:

(b1) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 127;

(b2) trình tự axit amin có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% hoặc cao hơn với trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (b1); và

(b3) trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin bị xóa, thay thế, hoặc bổ sung trong trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (b1) hoặc (b2).

Ví dụ được ưu tiên về kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#84 của chuột bao gồm kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 140 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 125 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 127, hoặc, kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 140 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 123 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 127.

Ví dụ được ưu tiên về kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#84 của chuột bao gồm kháng thể chứa chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 467 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 125 và chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 127, hoặc, kháng thể chứa chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 466 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 123 và chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 127.

Ví dụ về kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#101 của chuột bao gồm kháng thể nhân hóa kháng CD147 hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của kháng thể này, có vùng (e) và (f) sau đây:

(e) vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ nhóm bao gồm (e1) đến (e4) sau đây:

(e1) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 137 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 129;

(e2) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 137 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 131;

(e3) trình tự axit amin có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% hoặc cao hơn với trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (e1) hoặc (e2); và

(e4) trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin bị xóa, thay thế, hoặc bổ sung trong trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự theo mục bất kỳ trong số (e1) đến (e3); và

(f) vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn từ nhóm bao gồm (f1) đến (f3) sau đây:

(f1) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 133;

(f2) trình tự axit amin có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% hoặc cao hơn với trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (f1); và

(f3) trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin bị xóa, thay thế, hoặc bổ sung trong trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (f1) hoặc (f2).

Ví dụ được ưu tiên về kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#101 của chuột bao gồm kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 137 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 129 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 133, hoặc, kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 137 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 131 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 133.

Ví dụ được ưu tiên về kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#101 của chuột bao gồm kháng thể chứa chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 463 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 129 và chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 133, hoặc, kháng thể chứa chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 464 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 131 và chuỗi nhẹ bao

gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 133.

Ví dụ về kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#110 của chuột bao gồm kháng thể nhân hóa kháng CD147 hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của kháng thể này, có vùng (c) và (d) sau đây:

(c) vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ nhóm bao gồm (c1) đến (c4) sau đây:

(c1) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 135;

(c2) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 147;

(c3) trình tự axit amin có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% hoặc cao hơn với trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (c1) hoặc (c2); và

(c4) trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin bị xóa, thay thế, hoặc bổ sung trong trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự theo trình tự bất kỳ trong số vùng (c1) đến (c3),

(d) vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn từ nhóm bao gồm (d1) đến (d5) sau đây:

(d1) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 137;

(d2) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 149;

(d3) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 151;

(d4) trình tự axit amin có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% hoặc cao hơn với trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự theo trình tự bất kỳ trong số (d1) đến (d3); và

(d5) trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin bị xóa, thay thế, hoặc bổ sung trong trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự theo trình tự bất kỳ trong số (d1) đến (d4).

Ví dụ ưu tiên về kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#110 của chuột bao gồm: kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các

vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 135 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 137; kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 147 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 149; hoặc, kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 136 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 147 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 151.

Ví dụ được ưu tiên về kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#110 của chuột bao gồm: kháng thể chứa chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 463 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 135 và chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 137; kháng thể chứa chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 463 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 147, và, chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 149; hoặc, kháng thể chứa chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 463 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 147, và, chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 151.

Ví dụ về kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#131 của chuột bao gồm kháng thể nhân hóa kháng CD147 hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của kháng thể này, có vùng (g) và (h) sau đây:

(g) vùng biến đổi chuỗi nặng được chọn từ nhóm bao gồm (g1) đến (g3) sau đây:

(g1) vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 138 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 139;

(g2) trình tự axit amin có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% hoặc cao hơn với trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (g1); và

(g3) trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin bị xóa, thay thế, hoặc bổ sung trong trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (g1) hoặc (g2), và,

(h) vùng biến đổi chuỗi nhẹ được chọn từ nhóm bao gồm (h1) đến (h3) sau đây:

(h1) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 141;

(h2) trình tự axit amin có mức độ đồng nhất trình tự ít nhất 95% hoặc cao hơn với trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (h1); và

(h3) trình tự axit amin trong đó một hoặc một số axit amin bị xóa, thay thế, hoặc bổ sung trong trình tự của vùng khung bên ngoài mỗi trình tự CDR trong trình tự của (h1) hoặc (h2).

Ví dụ ưu tiên về kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#131 của chuột bao gồm: kháng thể chứa vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 138 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 139 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 128 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 141.

Ví dụ ưu tiên về kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#131 của chuột bao gồm kháng thể chứa chuỗi nặng bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 20 đến 464 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 139 và chuỗi nhẹ bao gồm các gốc axit amin ở các vị trí 21 đến 234 trong trình tự axit amin được thể hiện bằng SEQ ID NO: 141.

Kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#84 của chuột, kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#101 của chuột, kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#110 của chuột hoặc kháng thể nhân hóa có nguồn gốc từ kháng thể CD147_#131 của chuột nêu trên tốt hơn là hoạt hóa sự truyền tín hiệu p38MAPK và/hoặc sự truyền tín hiệu SMAD4 thông qua CD147.

Ví dụ về kháng thể theo sáng chế có thể còn bao gồm các kháng thể của người. Thuật ngữ "kháng thể của người kháng CD147" để chỉ kháng thể của người chỉ có trình tự gen của kháng thể có nguồn gốc từ nhiễm sắc thể của người. Kháng thể của người kháng CD147 này có thể thu được bằng, ví dụ, phương pháp sử dụng chuột nhắt tạo ra kháng thể của

người có đoạn nhiễm sắc thể của người bao gồm các gen của các chuỗi nặng và các chuỗi nhẹ của kháng thể của người (xem tài liệu Tomizuka, K. et al., Nature Genetics (1997) 16, trang 133-143; Kuroiwa, Y. et al., Nucl. Acids Res. (1998) 26, trang 3447-3448; Yoshida, H. et al., Animal Cell Technology: Basic and Applied Aspects vol. 10, trang 69-73 (Kitagawa, Y., Matsuda, T. and Iijima, S. eds.), Kluwer Academic Publishers, 1999; Tomizuka, K. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2000) 97, trang 722-727 v.v..).

Cụ thể, chuột nhắt tạo ra kháng thể của người này có thể thu được bằng cách: tạo ra các động vật tái tổ hợp gen thông qua sự phá vỡ locut gen của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ globulin miễn dịch nội sinh, và sau đó đưa locut gen của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ globulin miễn dịch của người thông qua vectơ như vectơ nhiễm sắc thể nhân tạo của người (human artificial chromosome, HAC) hoặc vectơ nhiễm sắc thể nhân tạo của chuột nhắt (mouse artificial chromosome, MAC) vào chỗ locut bị phá vỡ; và sau đó các động vật tái tổ hợp được tạo ra bằng cách lai các động vật này.

Các tế bào có nhân điển hình được biến nạp bằng các kỹ thuật tái tổ hợp gen bằng cADN mã hóa mỗi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ của kháng thể của người này, tốt hơn là vectơ chứa cADN, và sau đó các tế bào được biến nạp tạo ra kháng thể đơn dòng tái tổ hợp gen của người được nuôi cấy, để cho kháng thể có thể thu được từ dịch nổi bề mặt nuôi cấy. Ở đây, để làm tế bào chủ, các tế bào có nhân điển hình, tốt hơn là tế bào CHO, tế bào động vật có vú như các tế bào lympho và các tế bào u tủy có thể được sử dụng.

Các phương pháp tạo ra kháng thể của người thu được từ sự biểu hiện trên thể thực khuẩn được chọn từ thư viện kháng thể của người (xem tài liệu: Wormstone, I. M. et al., Investigative Ophthalmology & Visual Science. (2002) 43 (7), trang 2301-2308; Carmen, S. et al., Briefings in Functional Genomics and Proteomics (2002), 1(2), trang 189-203; Siriwardena, D. et al., Ophthalmology (2002)109(3), p,427-431, v.v..) cũng được biết đến.

Ví dụ, phương pháp biểu hiện trên thể thực khuẩn có thể được sử dụng nhờ đó vùng biến đổi kháng thể của người được biểu hiện trên bề mặt thể thực khuẩn dưới dạng kháng thể chuỗi đơn (scFv), và sau đó thể thực khuẩn liên kết với kháng nguyên được chọn (Nature Biotechnology (2005), 23, (9), trang 1105-1116). Gen của thể thực khuẩn được chọn dựa vào sự liên kết của nó với kháng nguyên được phân tích, để cho trình tự ADN mã hóa vùng biến đổi của kháng thể của người liên kết với kháng nguyên có thể được xác

định. Khi trình tự ADN của scFv liên kết với kháng nguyên được bộc lộ, vectơ biểu hiện có trình tự này được tạo ra, và sau đó được đưa vào vật chủ thích hợp để biểu hiện, và nhờ đó kháng thể của người có thể thu được (WO92/01047, WO92/20791, WO93/06213, WO93/11236, WO93/19172, WO95/01438, WO95/15388, Annu. Rev. Immunol. (1994)12, trang 433-455, Nature Biotechnology (2005) 23(9), trang 1105-1116).

Ví dụ về kháng thể theo sáng chế còn bao gồm kháng thể có epitop giống như của kháng thể được đề xuất bởi sáng chế. Ví dụ về chúng bao gồm kháng thể có epitop giống như của ít nhất một trong số LN22R8, 2P10F2, CD147_#84 của chuột, CD147_#101 của chuột, CD147_#110 của chuột và CD147_#131 của chuột.

LN22R8 và 2P10F2 theo sáng chế nhận biết epitop được ký hiệu là asmu3 trên Fig.3 (CD147 v1 của người: DALPGQKTEFKVDSDDQ (SEQ ID NO: 143), CD147 của khỉ: DTLPGQKTDFEVDSDDL (SEQ ID NO: 144)). Ví dụ về kháng thể theo sáng chế còn bao gồm kháng thể nhận biết hoặc liên kết với trình tự bao gồm trình tự axit amin trong đó 1 hoặc một số, tốt hơn là 1 đến 3, tốt hơn nữa là 1 hoặc 2 axit amin bị xóa, thay thế, hoặc bổ sung trong trình tự của SEQ ID NO: 143 hoặc SEQ ID NO: 144, hoặc SEQ ID NO: 143 hoặc SEQ ID NO: 144. Tốt hơn là kháng thể này hoạt hóa sự truyền tín hiệu thông qua CD147.

Ví dụ về kháng thể theo sáng chế bao gồm kháng thể nhận biết epitop giống như của CD147_#110 của chuột, tốt hơn là #110H1L4 nhân hóa. Tốt hơn là kháng thể này hoạt hóa sự truyền tín hiệu thông qua CD147. Các kết quả của việc phân tích epitop của #110H1L4 nhân hóa được mô tả trong ví dụ 17.

Kháng thể thích hợp có thể được chọn thông qua việc đánh giá hoạt tính liên kết với kháng nguyên như đã biết bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực này. Hằng số phân ly của kháng thể và kháng nguyên (CD147) có thể được xác định bằng cách sử dụng Biacore T200 (GE Healthcare Bioscience) có cộng hưởng plasmon bề mặt (surface plasmon resonance, SPR) làm nguyên lý phát hiện. Ví dụ, kháng thể ở nồng độ thích hợp và chất phân tích được cho phản ứng với kháng nguyên được cố định để làm phối tử, sự liên kết và sự phân ly của nó được xác định, và do đó hằng số tốc độ liên kết ka1, hằng số tốc độ phân ly kd1 và hằng số phân ly (KD; KD=kd1/ka1) có thể thu được.

Thiết bị sử dụng để đánh giá hoạt tính liên kết với CD147 không bị giới hạn ở Biacore T200. Hoạt tính liên kết với CD147 cũng có thể được đánh giá bằng cách sử dụng thiết bị có cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) làm nguyên lý phát hiện, KinExA (Sapidyne Instruments) có xét nghiệm loại trừ động học làm nguyên lý phát hiện, hệ thống BLItz (Pall) có phép đo giao thoa lớp sinh học làm nguyên lý phát hiện, hoặc thử nghiệm chất hấp thụ miễn dịch liên kết enzym (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay, ELISA) chẳng hạn.

Ví dụ về chỉ thị khác để so sánh các đặc tính của các kháng thể có thể là độ ổn định của kháng thể. Phương pháp đo nhiệt lượng quét vi phân (Differential scanning calorimetry, DSC) là phương pháp có thể xác định nhanh và chính xác trung điểm tháo cuộn xoắn bằng nhiệt (Tm), dùng làm chỉ thị tốt của độ ổn định cấu trúc tương đối của các protein. Các giá trị Tm xác định bằng cách sử dụng DSC, các giá trị Tm này được so sánh, và sau đó sự khác nhau về độ ổn định nhiệt có thể được so sánh. Độ ổn định bảo quản của kháng thể được biết là có liên quan đến độ ổn định nhiệt của kháng thể ở mức độ nào đó (LoriBurton, et al., Pharmaceutical Development and Technology (2007)12, trang 265-273). Do đó, kháng thể thích hợp có thể được chọn với độ ổn định nhiệt làm chỉ thị. Ví dụ về các chỉ thị khác để chọn kháng thể có thể bao gồm hiệu suất cao trong các tế bào chủ thích hợp, và khả năng kết tập thấp trong dung dịch nước. Ví dụ, do kháng thể có hiệu suất cao nhất không luôn luôn có độ ổn định nhiệt cao nhất, kháng thể tối ưu để sử dụng cho người cần được chọn thông qua việc xác định toàn diện dựa trên các chỉ báo nêu trên.

Phương pháp tạo ra globulin miễn dịch chuỗi đơn, liên quan đến sự liên kết các trình tự có chiều dài đầy đủ của kháng thể chuỗi nặng và chuỗi nhẹ với chất liên kết thích hợp, là cũng đã biết (Lee, H-S, et al., Molecular Immunology (1999)36, trang 61-71; Shirrmann, T. et al., mAbs (2010), 2, (1) p,1-4). Globulin miễn dịch chuỗi đơn này có thể giữ được cấu trúc và hoạt tính tương tự với cấu trúc và hoạt tính của kháng thể mà lúc đầu là tetrame thông qua sự đime hóa. Kháng thể theo sáng chế cũng có thể là kháng thể có một vùng biến đổi chuỗi nặng, nhưng không có trình tự chuỗi nhẹ. Kháng thể này được gọi là kháng thể một vùng (single domain antibody, sdAb) hoặc kháng thể nano, và trong thực tế đã được quan sát ở lạc đà hoặc lạc đà không bướu và được thông báo là giữ được khả năng liên kết kháng nguyên (Muyldemans S. et al., Protein Eng. (1994) 7 (9), 1129-35, Hamers-

Casterman C. et al., Nature (1993) 363 (6428) 446-8). Kháng thể nêu trên cũng có thể được hiểu là một loại đoạn liên kết kháng nguyên của kháng thể theo sáng chế.

Hoạt tính gây độc tế bào của tế bào phụ thuộc kháng thể có thể được tăng lên bằng cách điều hòa quá trình glycosyl hóa của mạch đường liên kết với kháng thể theo sáng chế. Ví dụ về các kỹ thuật đã biết để điều hòa quá trình glycosyl hóa các kháng thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, WO99/54342, WO2000/61739, và WO2002/31140,

Khi kháng thể được tạo ra bằng cách phân lập gen kháng thể và sau đó đưa gen được phân lập này vào vật chủ thích hợp, vật chủ thích hợp này và vectơ biểu hiện có thể được sử dụng kết hợp.

Ví dụ cụ thể về gen kháng thể có thể bao gồm tổ hợp của các gen mã hóa các trình tự chuỗi nặng của kháng thể và các gen mã hóa các trình tự chuỗi nhẹ được mô tả ở đây. Khi biến nạp các tế bào chủ, gen trình tự chuỗi nặng và gen trình tự chuỗi nhẹ có thể được chèn vào cùng một vectơ biểu hiện, hoặc có thể được chèn vào các vectơ biểu hiện khác nhau. Khi các tế bào có nhân điển hình được sử dụng để làm tế bào chủ, các tế bào động vật, các tế bào thực vật, và các vi sinh vật có nhân điển hình có thể được sử dụng. Ví dụ về các tế bào động vật có thể bao gồm tế bào của động vật có vú, ví dụ, tế bào của khỉ; tức là, tế bào COS (Gluzman, Y. Cell (1981) 23, trang 175-182, ATCC CRL-1650), các dòng tế bào thiếu dihydrofolat reductaza của nguyên bào sợi của chuột nhắt NIH3T3 (ATCC, CRL-1658) hoặc các tế bào buồng trứng chuột đồng Trung Quốc (Chinese hamster ovary cell, tế bào CHO, ATCC CCL-61) (Urlaub, G. and Chasin, L. A. Proc. Natl. Acad. Sci. Mỹ. (1980)77, trang 4126-4220). Khi các tế bào không nhân được sử dụng, ví dụ về chúng có thể bao gồm *Escherichia coli* và *Bacillus subtilis*. Gen kháng thể cần quan tâm được đưa vào các tế bào này bằng cách biến nạp, và sau đó tế bào biến nạp thu được được nuôi cấy *in vitro*, nhờ đó thu được kháng thể. Các phương pháp nuôi cấy nêu trên có thể khác nhau về hiệu suất phụ thuộc vào trình tự của kháng thể. Do đó, kháng thể mà sẽ dễ dàng tạo ra dưới dạng thuốc có thể được chọn bằng cách sử dụng hiệu suất làm chỉ thị bằng cách đó lựa chọn giữa các kháng thể có hoạt tính liên kết tương đương.

Isotyp của kháng thể theo sáng chế là không bị giới hạn và ví dụ về chúng có thể bao gồm IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgM, IgA (IgA1, IgA2), IgD hoặc IgE. Tốt hơn nếu isotyp này là IgG hoặc IgM, và ví dụ khác của nó tốt hơn là IgG.

IgG1 của người có các chức năng của tế bào thực hiện rất mạnh bao gồm hoạt tính CDC thông qua trung gian của sự cố định bổ thể và hoạt tính gây độc tế bào của tế bào phụ thuộc kháng thể trong số 4 loại phân nhóm IgG của người hiện có (Bruggemann et al., J. Exp. Med., 1351-1361,1987). Khi một phân tử được biểu hiện ở mức cao trong bệnh ung thư được hướng đích bởi kháng thể điều trị, IgG1 của người được sử dụng do đây là isotyp IgG có các tác dụng điều trị bằng cách thúc đẩy quá trình cảm ứng sự chết của tế bào ung thư do tính độc tế bào trung gian bởi các chức năng của tế bào thực hiện (ví dụ, trastuzumab và rituximab). Tuy nhiên, đã có thông báo rằng kháng thể IgG1 của người hướng đích HLA-DR có hoạt tính CDC ban đầu của nó, dẫn đến khỉ cynomolgus bị chết sau khi sử dụng nó. Việc sử dụng kháng thể này làm thuốc kháng thể để hướng đích phân tử mà cũng được biểu hiện trong các cơ quan bình thường gây mối lo ngại rằng các chức năng của tế bào thực hiện sẽ cảm ứng phản ứng có hại nghiêm trọng (Tawara, T., J. Immunology, 2008, 2294-2298). Khi IgG1 được sử dụng làm isotyp của kháng thể theo sáng chế, kháng thể IgG1 có thể có đột biến, và cụ thể, các chức năng của tế bào thực hiện có thể được điều chỉnh bằng cách thay thế một số gốc axit amin của các vùng hằng định (xem WO88/007089, WO94/28027, WO94/29351). Ví dụ về biến thể của IgG1 có các chức năng của tế bào thực hiện giảm đi bao gồm IgG1 LALA (IgG1-L234A, L235A), và IgG1 LAGA (IgG1-L235A, G237A).

IgG2 của người có các chức năng của tế bào thực hiện rất yếu bao gồm hoạt tính CDC thông qua sự cố định bổ thể và hoạt tính gây độc tế bào của tế bào phụ thuộc kháng thể trong số 4 loại phân nhóm IgG của người hiện có (Bruggemann et al., J. Exp. Med., 1351-1361, 1987). Khi một phân tử được biểu hiện trong các cơ quan bình thường được hướng đích bởi kháng thể điều trị, IgG2 được sử dụng làm một trong số các dạng IgG để tránh độc tính do tính độc tế bào trung gian bởi các chức năng của tế bào thực hiện (Denosumab, Evolocumab, Brodalumab).

IgG4 của người có các chức năng của tế bào thực hiện rất yếu bao gồm hoạt tính CDC thông qua sự cố định bổ thể và hoạt tính gây độc tế bào của tế bào phụ thuộc kháng thể trong số 4 loại phân nhóm IgG của người hiện có (Bruggemann et al., J. Exp. Med., 1351-1361,1987). Khi một phân tử được biểu hiện trong các cơ quan bình thường được hướng đích bởi kháng thể điều trị, IgG4 được sử dụng làm một trong số các dạng IgG để

tránh độc tính do tính độc tế bào trung gian bởi các chức năng của tế bào thực hiện (Opdivo). Khi IgG4 được sử dụng làm isotyp của kháng thể theo sáng chế, sự phân cắt, đặc điểm khác biệt của IgG4, được ngăn chặn và thời gian bán hủy có thể được kéo dài bằng cách thay thế một số gốc axit amin của các vùng hằng định (xem Molecular Immunology, 30, 1105-108 (1993)).

Khi IgG4 được sử dụng làm isotyp của kháng thể theo sáng chế, kháng thể IgG4 có thể có đột biến. Ví dụ về đột biến của biến thể IgG4 bao gồm (Proc Natl Acad Sci USA. 1969, 63(1), 78-85; Kabatet al., Sequences of proteins of immunological interest, 1991 Fifth edition) sự thay thế (F234A) của phenylalanin ở vị trí 234 theo chỉ số EU bằng alanin và sự thay thế (L235A) của leuxin ở vị trí 235 theo chỉ số EU bằng alanin (Parekh et al., mAbs, 310-318, 2012). Đột biến này của kháng thể được gọi là đột biến FALA. IgG4P FALA còn làm giảm các chức năng của tế bào thực hiện thông qua sự thay thế hai gốc axit amin cần thiết cho sự tương tác với FcγRs (ví dụ, FcγRI, FcγRII hoặc FcγRIII) tồn tại trong miền CH2 bằng alanin. Do sự tạo ra liên kết S-S giữa các chuỗi nặng của kháng thể là không ổn định trong IgG4, đột biến để làm tăng sự tạo liên kết S-S giữa các chuỗi nặng của kháng thể được đưa vào IgG4 để làm tăng tính ổn định. Ví dụ về đột biến này bao gồm sự thay thế serin ở vị trí 228 (S228P) theo chỉ số EU bằng prolin (ANGAL et al., Molecular Immunology, 105-108, 1993). Đột biến này của kháng thể được gọi là đột biến Pro. Cả đột biến FALA và đột biến Pro được mô tả ở trên có thể được đưa đồng thời vào vùng hằng định của kháng thể theo sáng chế (Vafa et al., Methods, 65, 114-126, 2014). Chuỗi nặng IgG4 có đột biến FALA được gọi là chuỗi nặng loại "IgG4FALA", chuỗi nặng IgG4 có đột biến Pro được gọi là chuỗi nặng loại "IgG4P", và chuỗi nặng IgG4 có cả đột biến FALA và đột biến Pro được gọi là chuỗi nặng loại "IgG4PFALA".

Vùng hằng định chuỗi nặng của kháng thể bao gồm các vùng CH1, vùng bản lề, CH2 và CH3, trong đó CH1 được xác định là nằm trong khoảng chỉ số EU số 118 đến 215, vùng bản lề được xác định là nằm trong khoảng chỉ số EU số 216 đến 230, CH2 được xác định là nằm trong khoảng chỉ số EU số 231 đến 340, và CH3 được xác định là nằm trong khoảng chỉ số EU số 341 đến 446. Theo chỉ số EU, prolin do sự thế serin ở vị trí 228, alanin do sự thế phenylalanin ở vị trí 234, và alanin do sự thế leuxin ở vị trí 235 tương ứng với: prolin ở vị trí 248, alanin ở vị trí 254 và alanin ở vị trí 255, tương ứng, trong SEQ ID NO:

100 thể hiện trình tự axit amin của chuỗi nặng IgG4PFALA của CD147_#84 của chuột thể khảm của người; prolin ở vị trí 245, alanin ở vị trí 251, và alanin ở vị trí 252, tương ứng, trong SEQ ID NO: 108 thể hiện trình tự axit amin của chuỗi nặng IgG4PFALA của CD147_#101 của chuột thể khảm của người; và prolin ở vị trí 244, alanin ở vị trí 250, và alanin ở vị trí 251, tương ứng, trong SEQ ID NO: 108 thể hiện trình tự axit amin của chuỗi nặng IgG4PFALA của CD147_#110 của chuột thể khảm của người.

Ví dụ ưu tiên về isotyp của kháng thể theo sáng chế bao gồm IgG1, IgG2, IgG4, IgG4P hoặc IgG4PFALA, ví dụ được ưu tiên cụ thể về chúng bao gồm IgG2, IgG4P hoặc IgG4PFALA, và ví dụ được ưu tiên hơn nữa về chúng bao gồm IgG2 hoặc IgG4P.

Kháng thể theo sáng chế cũng có thể là đoạn liên kết kháng nguyên của kháng thể, nó có vị trí liên kết kháng nguyên của kháng thể hoặc sản phẩm cải biến của nó. Kháng thể được xử lý bằng proteaza như papain hoặc pepsin, hoặc, gen kháng thể được cải biến bằng các kỹ thuật thao tác di truyền và sau đó gen thu được được biểu hiện trong các tế bào nuôi cấy thích hợp, để cho đoạn kháng thể có thể thu được. Trong số các đoạn kháng thể này, các đoạn giữ được toàn bộ hoặc một phần các chức năng của phân tử kháng thể có chiều dài đầy đủ có thể được gọi là đoạn liên kết kháng nguyên của kháng thể này. Ví dụ về các chức năng của kháng thể là hoạt hóa sự truyền tín hiệu liên quan đến kháng nguyên.

CD147 cũng được biểu hiện trong các tế bào máu bao gồm hồng cầu và các cơ quan bình thường cần thiết đối với sự sống (Spring, et al., Eur. J. Immunol., 1997, 891-897), và do đó hiệu quả kháng u được tạo ra bằng cách sử dụng các chức năng của tế bào thực hiện đi kèm với kháng thể có nguy cơ cao về phản ứng có hại. Trên thực tế đã có thông báo rằng hồng cầu mẫn cảm với các chức năng của tế bào thực hiện (ADCC, CDC, ADCP) do sự liên kết của kháng thể (Flegel, W., Transfusion, 2015, S47-S58), và lượng kháng thể gia tăng *in vivo* chống lại hồng cầu như vậy được biết là gây ra bệnh thiếu máu tan máu tự miễn (Gibson, J., Aust. N. Z. J. Med., 1988. 625-637). Kháng thể theo sáng chế để làm kháng thể điều trị hướng đích CD147 mà cũng được biểu hiện trong các tế bào bình thường khác biệt ở chỗ hoạt tính bất kỳ trong số hoặc tất cả các hoạt tính ADCC, hoạt tính ADCP và hoạt tính CDC, mà gây ra phản ứng có hại nghiêm trọng, được phát hiện ở mức thấp hoặc không hoạt tính nào trong số các hoạt tính này được phát hiện.

Các tác giả sáng chế lần đầu tiên đã phát hiện được rằng kháng thể kháng CD147 của người có hiệu quả kháng u độc lập với các chức năng của tế bào thực hiện của kháng thể này bằng cách hoạt hóa sự truyền tín hiệu tế bào thông qua CD147. Theo sáng chế, kháng thể giữ được các chức năng của hoạt tính liên kết với CD147 và/hoặc hoạt hóa CD147. Tốt hơn nếu kháng thể theo sáng chế hoạt hóa các phân tử liên quan đến tín hiệu xuôi dòng trung gian cho CD147, ví dụ, FAK, MEK, Erk, JAK/STAT, AKT hoặc MAP kinaza (MAPK) hoặc hoạt hóa phân tử liên quan đến tín hiệu ở vị trí xuôi dòng hơn nữa của nó. Tốt hơn nữa là kháng thể theo sáng chế hoạt hóa các phân tử ở vị trí xuôi dòng của MAPK hoặc MAPK. Tốt hơn nếu ví dụ về MAPK là p38MAPK. Ví dụ về các phân tử tín hiệu ở vị trí xuôi dòng hơn nữa của MAPK bao gồm HSP27, cxcl8 và SMAD (ví dụ, SMAD2, SMAD3 hoặc SMAD4, tốt hơn là SMAD4). Ví dụ về "sự hoạt hóa CD147" bao gồm mức biểu hiện mARN p38MAPK tăng lên, mức biểu hiện protein p38MAPK tăng lên, sự phosphoryl hóa p38MAPK, sự phosphoryl hóa HSP27 (ví dụ, phosphoryl hóa Ser82 của HSP27 hoặc phosphoryl hóa Ser15 của HSP27), mức biểu hiện mARN cxcl8 tăng lên, mức biểu hiện protein cxcl8 tăng lên, mức biểu hiện rhoB mARN tăng lên hoặc mức biểu hiện protein rhoB tăng lên thông qua sự hoạt hoá tín hiệu SMAD. Tốt hơn là ví dụ về "sự hoạt hóa CD147" bao gồm mức biểu hiện protein p38MAPK tăng lên, phosphoryl hóa p38MAPK, phosphoryl hóa HSP27 (ví dụ, phosphoryl hóa Ser82 của HSP27 hoặc phosphoryl hóa Ser15 của HSP27), mức biểu hiện mARN cxcl8 tăng lên, và mức biểu hiện mARN rhoB tăng lên thông qua sự hoạt hoá tín hiệu SMAD.

SMAD2 hoặc SMAD3 được biết là được phosphoryl hóa bởi thụ thể TGFβ khi TGFβ liên kết với thụ thể TGFβ (TGFBR1/2), để tạo thành trime khác loại với SMAD4. Sau khi đi vào nhân của nó, heterotrime khác loại này được biết là liên kết với vùng điều hòa phiên mã có trình tự liên kết ADN SMAD trên nhiễm sắc thể (Smad binding element: SBE), và sau đó điều khiển theo cách tích cực hoặc tiêu cực sự biểu hiện mARN của các gen xuôi dòng (Miyazono, The Official Journal of the Japan Geriatrics Society, 1999, 162-166). Do đó, sự hoạt hóa SMAD4 được cho là cần đến sự có mặt của SMAD2 hoặc SMAD3. SMAD2, SMAD3 và SMAD4 điều khiển theo cách tiêu cực mức biểu hiện KLF5 theo cách phụ thuộc TGFβ (David et al., Cell, 2016, 164(5), 1015-1030). Trong các tế bào ung thư tụy thiếu SMAD4, các tín hiệu để ngăn chặn sự biểu hiện của gen KLF5 thông qua SMAD2,

SMAD3 và SMAD4 bị xóa bỏ, và do đó protein KLF5 được biểu hiện. Đã biết rằng khi SMAD4 bị mất và KLF5 được biểu hiện, sự truyền tín hiệu chết tế bào phụ thuộc TGFβ (phụ thuộc SOX4) được ngăn chặn (David et al, Cell nêu trên).

Các tác giả sáng chế đã phát hiện được rằng kháng thể kháng CD147 của người theo sáng chế phosphoryl hóa p38MAPK (Fig.21), phosphoryl hóa HSP27 (Fig.20), và làm tăng sự biểu hiện của cxcl8 (Fig.22(b) và Fig. 23(b)). Do đó, sự hoạt hóa CD147 bởi kháng thể theo sáng chế có thể được khẳng định bởi việc khẳng định sự thay đổi trong biểu hiện gen, sự biểu hiện protein hoặc phosphoryl hóa ít nhất một trong số các phân tử này trước và sau khi sử dụng kháng thể.

Các tác giả sáng chế đã phát hiện được rằng: kháng thể kháng CD147 của người theo sáng chế có hiệu quả đối với mô hình bệnh ung thư tụy biểu hiện protein SMAD4 (Fig.25); kháng thể kháng CD147 của người theo sáng chế có hiệu quả kháng u một phần (tối đa khoảng 30%) trong mô hình bệnh ung thư tụy như BxPC-3 có đột biến gen trong SMAD4 và không biểu hiện SMAD4 (Fig.24); và các phân tử xuôi dòng của SMAD2, SMAD3 và SMAD4 (rhoB, Fig. 22(c) và Fig. 23(c)) được cảm ứng trong các khối u sau khi sử dụng kháng thể kháng CD147 của người theo sáng chế. Do đó, trước và sau khi sử dụng kháng thể theo sáng chế, sự có mặt hoặc không có mặt của sự thay đổi về sự biểu hiện gen rhoB hoặc sự biểu hiện protein rhoB được khẳng định, để cho nếu kháng thể theo sáng chế trung gian cho sự hoạt hóa CD147, điều này có thể được khẳng định. Trình tự hệ gen, sự biểu hiện gen hoặc sự biểu hiện protein của SMAD4 trong các mẫu của bệnh nhân được xác định bằng cách sử dụng phương pháp đã biết bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực này, các bệnh nhân trong đó SMAD4 được biểu hiện được chọn làm các bệnh nhân mà kháng thể theo sáng chế cần được sử dụng, và do đó kháng thể theo sáng chế có thể được sử dụng cho họ.

Mức biểu hiện KLF5 được biết là cao trong mô hình âm tính với SMAD4 như BxPC-3 (David et al., Cell, 2016, 164(5), 1015-1030). Tính mẫn cảm với kháng thể kháng CD147 của người theo sáng chế được giảm từ 91% tới 20% trong mô hình MIA PaCa-2 biểu hiện KLF5 (ví dụ 26). Do đó, các tác giả sáng chế cho rằng sự biểu hiện KLF5 ngăn chặn sự truyền tín hiệu chết tế bào phụ thuộc SMAD2, SMAD3 và SMAD4 được cảm ứng bởi kháng thể CD147. Do mức biểu hiện KLF5 là thấp trong bệnh ung thư gan, ALL, u lympho,

khối u mô đệm dạ dày-ruột (GIST), bệnh ung thư da, bệnh sacôm, AML hoặc bệnh ung thư thận, kháng thể kháng CD147 của người theo sáng chế được cho là hữu hiệu đối với nhiều bệnh nhân bị các bệnh ung thư này. Sự biểu hiện gen hoặc sự biểu hiện protein của KLF5 trong các mẫu của bệnh nhân được xác định bằng cách sử dụng phương pháp đã biết bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực này, các bệnh nhân có mức biểu hiện KLF5 giảm đi hoặc không có sự biểu hiện KLF5 được chọn làm các bệnh nhân đối tượng mà kháng thể theo sáng chế cần được sử dụng, và do đó kháng thể theo sáng chế có thể được sử dụng cho họ. Mức độ giảm sự biểu hiện KLF5 trong trường hợp này có thể được xác định bằng phương pháp đã biết bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực này và thực hiện các thử nghiệm lâm sàng thích hợp. Ví dụ, các bệnh nhân mà hiệu quả có thể thu được và các bệnh nhân mà không hiệu quả nào có thể thu được được so sánh về mức biểu hiện KLF5, nhờ đó xác định ngưỡng thích hợp.

Ví dụ các đoạn kháng thể có thể bao gồm Fab, $F(ab')_2$, Fv, hoặc Fv chuỗi đơn (scFv) trong đó Fv chuỗi nặng và Fv chuỗi nhẹ được nối với chất liên kết thích hợp, kháng thể đime (diabody), kháng thể tuyến tính, và kháng thể đa giá được tạo bởi các đoạn kháng thể. Ví dụ các đoạn kháng thể bao gồm Fab', là đoạn đơn hóa trị của vùng biến đổi của kháng thể, và được điều chế bằng cách xử lý $F(ab')_2$ trong điều kiện khử.

Ngoài ra, kháng thể theo sáng chế cũng có thể là kháng thể đa giá có tính đặc hiệu với ít nhất hai loại khác nguyên khác nhau. Phân tử này thường liên kết với hai loại kháng nguyên (tức là, kháng thể hai giá), và ví dụ về "kháng thể đa giá" theo sáng chế bao gồm kháng thể có tính đặc hiệu với ba hoặc nhiều (ví dụ, 3 loại) kháng nguyên.

Kháng thể đa giá theo sáng chế có thể là kháng thể có chiều dài đầy đủ, hoặc các đoạn của kháng thể này (ví dụ, kháng thể hai giá $F(ab')_2$). Kháng thể hai giá có thể được tạo ra bằng cách liên kết chuỗi nặng và chuỗi nhẹ (cặp HL) của hai loại kháng thể, hoặc, dung hợp các tế bào lai sản sinh ra các kháng thể đơn dòng khác nhau với nhau, để tạo ra các tế bào dung hợp sản sinh ra kháng thể hai giá (Millstein et al., Nature (1983) 305, P. 537-539).

Kháng thể theo sáng chế có thể là kháng thể chuỗi đơn (còn được gọi là scFv). Kháng thể chuỗi đơn thu được bằng cách nối vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bằng chất liên kết polypeptit (Pluckthun, the Pharmacology of

Monoclonal Antibodies, 113 (Ed., Rosenberg and Moore, Springer Verlag, New York, trang 269-315 (1994), Nature Biotechnology (2005), 23, trang 1126-1136). Đoạn BiscFv được tạo ra bằng cách nối hai scFv bằng chất liên kết polypeptit cũng có thể được sử dụng làm kháng thể hai giá.

Phương pháp tạo ra kháng thể chuỗi đơn là đã biết trong lĩnh vực này (ví dụ, xem patent Mỹ số 4,946,778, patent Mỹ số 5,260,203, patent Mỹ số 5,091,513, và patent Mỹ số 5,455,030). Trong scFv, vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ được nối thông qua chất liên kết không tạo thành thể liên hợp, tốt hơn là chất liên kết polypeptit (Huston, J. S. etal., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. (1988), 85, trang 5879-5883). Vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ trong scFv có thể có nguồn gốc từ cùng một kháng thể hoặc các kháng thể khác nhau. Để làm chất liên kết polypeptit để nối các vùng biến đổi, ví dụ, peptit chuỗi đơn tùy ý bao gồm 12 đến 19 gốc được sử dụng.

ADN mã hóa scFv có thể thu được bằng cách khuếch đại bằng phương pháp PCR bằng cách sử dụng để làm khuôn, một trong số: ADN mã hóa chuỗi nặng kháng thể nêu trên hoặc vùng biến đổi chuỗi nặng, và ADN mã hóa chuỗi nhẹ hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ, ADN mã hóa trình tự có chiều dài đầy đủ của mỗi vùng hoặc đoạn ADN mã hóa trình tự axit amin mong muốn của nó, và cặp mồi chỉ rõ mỗi đầu của nó, và sau đó khuếch đại bằng cách sử dụng ADN mã hóa đoạn liên kết polypeptit, và cặp mồi chỉ rõ đầu để cho các đầu này được nối với chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, tương ứng, theo cách kết hợp.

Khi ADN mã hóa scFv được tạo ra, vectơ biểu hiện chứa ADN này và vật chủ được biến nạp bằng vectơ biểu hiện này có thể thu được theo phương pháp chuẩn, và, scFv có thể thu được theo phương pháp chuẩn bằng cách sử dụng vật chủ. Các đoạn kháng thể này có thể được sản sinh bởi vật chủ sau khi thu được gen của nó và biểu hiện gen này theo cách giống như được mô tả ở trên.

Kháng thể theo sáng chế có thể được polyme hóa để làm tăng ái lực đối với kháng nguyên. Kháng thể được polyme hóa có thể là một loại kháng thể hoặc nhiều kháng thể nhận biết nhiều epitop của cùng một kháng nguyên. Ví dụ về phương pháp polyme hóa kháng thể có thể bao gồm, liên kết vùng IgGCH3 với hai scFv, liên kết với streptavidin, và đưa motif xoắn-vòng-xoắn vào.

Kháng thể theo sáng chế cũng có thể là kháng thể đa dòng, đó là hỗn hợp của nhiều loại kháng thể kháng CD147 khác nhau về trình tự axit amin. Ví dụ về kháng thể đa dòng có thể là hỗn hợp của nhiều loại kháng thể khác nhau về CDR. Để làm kháng thể đa dòng này, hỗn hợp của các tế bào sản sinh ra các kháng thể khác nhau được nuôi cấy và kháng thể được tinh chế từ dịch nuôi cấy này có thể được sử dụng (xem WO2004/061104).

Kháng thể theo sáng chế có thể là kháng thể có mức độ đồng nhất (hoặc tương đồng) 80% đến 99% với chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ của kháng thể nêu trên. Thông qua việc kết hợp các trình tự có mức độ tương đồng cao với trình tự axit amin chuỗi nặng và trình tự axit amin chuỗi nhẹ nêu trên, kháng thể có khả năng liên kết kháng nguyên, hoạt hóa CD147, tốt hơn là hoạt hóa MAPK, và hoạt hóa các phân tử tín hiệu xuôi dòng của MAPK tương đương với mỗi kháng thể nêu trên có thể được chọn. Mức độ tương đồng này thường là 80% hoặc cao hơn, tốt hơn là 90% hoặc cao hơn, tốt hơn nữa là 95% hoặc cao hơn, và tốt nhất là 99% hoặc cao hơn. Thông qua sự kết hợp của trình tự axit amin chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng với trình tự axit amin trong đó 1 đến một số gốc axit amin được thay thế, xóa và/hoặc bổ sung, kháng thể có các hiệu quả khác nhau tương đương với các hiệu quả của mỗi kháng thể nêu trên có thể được chọn. Số lượng gốc axit amin cần được thay thế, xóa và/hoặc bổ sung thường là 10 gốc axit amin hoặc ít hơn, tốt hơn là 5 đến 6 gốc axit amin hoặc ít hơn, tốt hơn nữa là 2 đến 3 gốc axit amin hoặc ít hơn, và tốt nhất là 1 gốc axit amin. Ngoài ra, đã biết rằng gốc lysin ở đầu carboxyl của chuỗi nặng của kháng thể được tạo ra bởi tế bào động vật có vú nuôi cấy bị xóa (Tsubakiet al., Int. J. Biol. Macromol, 139-147, 2013). Tuy nhiên, việc xóa và cải biến các trình tự chuỗi nặng này không ảnh hưởng đến khả năng liên kết của kháng thể với kháng nguyên và các chức năng của tế bào thực hiện (ví dụ, sự hoạt hóa bổ thể và tính độc tế bào của tế bào phụ thuộc kháng thể). Do đó, sáng chế bao gồm kháng thể được cải biến, và ví dụ về chúng có thể bao gồm kháng thể trong đó 1 hoặc 2 axit amin được xóa ở đầu carboxyl của chuỗi nặng, và kháng thể được amit hóa (ví dụ, chuỗi nặng trong đó gốc prolin ở vị trí đầu tận cùng carboxyl được amit hóa). Lưu ý rằng, miễn là khả năng liên kết với kháng nguyên và chức năng hoạt hóa các phân tử liên quan đến tín hiệu ở vị trí xuôi dòng của CD147 được duy trì, kháng thể thiếu đầu tận cùng carboxyl của chuỗi nặng theo sáng chế không bị giới hạn ở các loại nêu trên. Hai chuỗi nặng tạo thành kháng thể theo sáng chế có thể là một loại bất kỳ của chuỗi

nặng được chọn từ nhóm bao gồm chuỗi nặng có chiều dài đầy đủ và chuỗi nặng không đầy đủ nêu trên, hoặc kết hợp hai loại của nó. Tỷ lệ của các chuỗi nặng thiếu đầu tận cùng carboxyl có thể bị ảnh hưởng bởi loại và điều kiện nuôi cấy của tế bào động vật có vú được nuôi cấy sản sinh ra kháng thể theo sáng chế, và ví dụ của nó có thể là trường hợp trong đó mỗi chuỗi trong hai chuỗi nặng này, để làm các thành phần chính của kháng thể theo sáng chế, có sự xóa một gốc axit amin ở đầu tận cùng carboxyl.

Mức độ tương đồng giữa hai loại trình tự axit amin có thể được xác định bằng cách sử dụng các tham số mặc định của thuật toán Blast phiên bản 2.2.2 (Altschul, Stephen F., Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997), "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", Nucleic Acides Res. 25: 3389-3402). Thuật toán Blast cũng có thể được sử dụng bằng cách truy nhập mạng Internet, www.ncbi.nlm.nih.gov/blast. Lưu ý rằng hai loại tỷ lệ phần trăm của độ đồng nhất (hoặc các độ đồng nhất) và độ chắc chắn (hoặc các độ chắn chắn) được tính bằng thuật toán Blast. Tỷ lệ phần trăm độ đồng nhất là giá trị thu được khi các gốc axit amin so khớp khi so sánh hai loại trình tự axit amin trong đó sự đồng nhất được cho là được tìm thấy, và tỷ lệ phần trăm độ chắc chắn là giá trị bằng số tìm được khi các gốc axit amin tưng tự với nhau về cấu trúc hóa học cũng được xem xét. Giá trị của độ đồng nhất khi các gốc axit amin so khớp được chọn làm giá trị của độ tương đồng trong sáng chế.

Để làm các sản phẩm được cải biến của kháng thể, các kháng thể liên kết với các phân tử khác nhau như polyetylen glycol (PEG) cũng có thể được sử dụng.

Kháng thể theo sáng chế cũng có thể là thể liên hợp miễn dịch được tạo ra giữa kháng thể này và dược chất khác. Ví dụ về kháng thể này có thể bao gồm kháng thể liên kết với chất phóng xạ hoặc hợp chất có các tác dụng dược lý (Nature Biotechnology (2005)23, trang 1137-1146).

Kháng thể thu được như vậy có thể được tinh chế tới trạng thái đồng nhất. Để tách và tinh chế kháng thể, các phương pháp tách và tinh chế dùng cho các protein thông thường có thể được sử dụng. Ví dụ, kháng thể có thể được tách và tinh chế bằng cách chọn hoặc kết hợp thích hợp phương pháp sắc ký cột, lọc bằng bộ lọc, siêu lọc, tách bằng muối, thẩm tách, điện di trên gel polyacrylamit để điều chế, hội tụ đẳng điện (Strategies for Protein

Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual, Daniel R. Marshak et al. eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press (1996); Antibodies: A Laboratory Manual. Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)), nhưng các phương pháp tách và tinh chế nó không bị giới hạn ở các ví dụ này.

Ví dụ về phương pháp sắc ký có thể bao gồm sắc ký ái lực, sắc ký trao đổi ion, sắc ký kỵ nước, sắc ký lọc gel, sắc ký đảo pha, và sắc ký hấp phụ.

Các phương pháp sắc ký này có thể được thực hiện bằng cách sử dụng sắc ký lỏng như HPLC và FPLC.

Ví dụ về cột để sử dụng cho sắc ký ái lực có thể bao gồm cột protein A và cột protein G.

Ví dụ về cột sử dụng cột protein A có thể bao gồm Hyper D, POROS, Sepharose F. F. (GE Healthcare).

Kháng thể có thể còn được tinh chế bằng cách sử dụng chất mang mà kháng nguyên được cố định vào và hoạt tính liên kết với kháng nguyên này.

Thuốc chứa kháng thể kháng CD147

Kháng thể kháng CD147 theo sáng chế có thể thu được từ trong số các kháng thể kháng CD147 thu được bằng phương pháp được mô tả trong phần "Tạo ra kháng thể kháng CD147" nêu trên. Kháng thể thu được như vậy có thể được sử dụng làm chất để điều trị và/hoặc phòng ngừa khối u và/hoặc bệnh ung thư. Kháng thể kháng CD147 theo sáng chế có hiệu quả kháng u rất tốt, và có thể dùng làm phương thuốc để điều trị khối u hoặc bệnh ung thư. Kháng thể kháng CD147 theo sáng chế có hiệu quả kháng u rất tốt đối với các tế bào ung thư kháng gemxitabin và các tế bào ung thư có tính mẫn cảm thấp với sorafenib. Kháng thể kháng CD147 theo sáng chế có hiệu quả mạnh hơn đáng kể đối với các tế bào bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính, so với hiệu quả của imatinib.

Ví dụ các khối u có thể được điều trị bằng cách sử dụng kháng thể kháng CD147 theo sáng chế hoặc thuốc chứa kháng thể này là không bị giới hạn cụ thể, miễn là các khối u này biểu hiện CD147, và tốt hơn là bao gồm bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư kết tràng, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tử cung, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư da, bệnh ung thư đầu và cổ, bệnh sacôm, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư

bàng quang, khối u não, khối u mô đệm dạ dày-ruột (GIST), bệnh bạch cầu (ví dụ, bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính (CML), hoặc bệnh bạch cầu dạng lympho mạn tính (CLL) hoặc bệnh bạch cầu dạng lympho cấp tính (ALL)), u lympho hoặc u lympho ác tính (ví dụ, u lympho tế bào B, u lympho không Hodgkin hoặc u lympho tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL)), và tốt hơn nữa là bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư kết tràng, bệnh ung thư thận, bệnh bạch cầu, bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML), bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính (CML), bệnh bạch cầu dạng lympho mạn tính (CLL), bệnh bạch cầu dạng lympho cấp tính (ALL), u lympho ác tính, u lympho tế bào B, u lympho không Hodgkin hoặc u lympho tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL).

Ví dụ về các khối u có thể được điều trị bằng cách sử dụng kháng thể theo sáng chế hoặc thuốc chứa kháng thể này bao gồm các khối u biểu hiện CD147 dương tính với SMAD. Ví dụ về các khối u biểu hiện CD147 dương tính với SMAD bao gồm bệnh ung thư gan và bệnh ung thư tụy biểu hiện CD147 dương tính với SMAD. Kháng thể kháng CD147 theo sáng chế hoặc thuốc chứa kháng thể này được sử dụng cho, tốt hơn là các bệnh nhân được khẳng định về sự biểu hiện của CD147 và/hoặc SMAD. Ví dụ về SMAD bao gồm, tốt hơn là SMAD2, SMAD3 và/hoặc SMAD4, và tốt hơn nữa là SMAD4. Tốt hơn là cùng với việc khẳng định sự biểu hiện của SMAD4, sự biểu hiện của ít nhất một trong số SMAD2 và SMAD3 được khẳng định.

Theo cách khác, ví dụ về khối u mà có thể được điều trị bằng kháng thể theo sáng chế hoặc thuốc chứa kháng thể này bao gồm khối u có sự biểu hiện của KLF5 giảm đi hoặc không biểu hiện KLF5. Ví dụ về khối u có sự biểu hiện của KLF5 giảm đi hoặc không biểu hiện KLF5 bao gồm bệnh ung thư gan, ALL, u lympho, khối u mô đệm dạ dày-ruột (GIST), bệnh ung thư da, bệnh sacôm, AML và bệnh ung thư thận. Kháng thể kháng CD147 theo sáng chế hoặc thuốc chứa kháng thể này tốt hơn là được sử dụng cho bệnh nhân được khẳng định là có sự biểu hiện của KLF5 giảm đi hoặc không biểu hiện KLF5.

Kháng thể kháng CD147 theo sáng chế có thể còn được sử dụng cùng với 2, 3 hoặc nhiều chất điều trị khác phụ thuộc vào mục đích điều trị. Các chất điều trị khác này có thể được bao nang trong cùng một chế phẩm và được sử dụng đồng thời. Các chất điều trị khác và kháng thể kháng CD147 cũng có thể được bao nang trong cùng một chế phẩm và nhờ

đó có thể được sử dụng đồng thời. Kháng thể kháng CD147 và các chất điều trị khác có thể được bao nang riêng rẽ trong các chế phẩm và sau đó có thể được sử dụng đồng thời. Hơn nữa, các thuốc khác và kháng thể kháng CD147 có thể còn được sử dụng riêng rẽ, cụ thể là các thuốc này có thể được sử dụng trước hoặc sau khi sử dụng kháng thể kháng CD147. Cụ thể, sau khi sử dụng các chất điều trị khác, chất điều trị chứa kháng thể kháng CD147 hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của kháng thể này làm thành phần hoạt tính được sử dụng, hoặc, sau khi sử dụng chất điều trị chứa kháng thể kháng CD147 hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của kháng thể này làm thành phần hoạt tính, chất điều trị khác có thể được sử dụng.

Sáng chế còn đề xuất dược phẩm chứa lượng hữu hiệu điều trị và/hoặc phòng bệnh của kháng thể kháng CD147, và chất pha loãng, chất mang, chất hòa tan, chất nhũ hóa, chất bảo quản và/hoặc chất phụ trợ dược dụng.

Sáng chế còn đề xuất dược phẩm chứa lượng hữu hiệu điều trị và/hoặc phòng bệnh của kháng thể kháng CD147, lượng hữu hiệu điều trị và/hoặc phòng bệnh của ít nhất một chất điều trị kháng u, và chất pha loãng, chất mang, chất hòa tan, chất nhũ hóa, chất bảo quản và/hoặc chất phụ trợ dược dụng.

Các chất để sử dụng cho việc bào chế mà chấp nhận được trong dược phẩm theo sáng chế tốt hơn là không độc cho đối tượng mà dược phẩm được sử dụng tốt hơn là về liều lượng và nồng độ sử dụng.

Dược phẩm theo sáng chế có thể chứa các chất để bào chế để làm thay đổi hoặc duy trì độ pH, áp suất thẩm thấu, độ nhớt, độ trong suốt, màu sắc, độ đẳng trương, độ vô trùng, độ ổn định, độ tan, tốc độ giải phóng kéo dài, khả năng hấp thu, khả năng thấm, và tương tự. Ví dụ các chất để bào chế có thể bao gồm các chất sau, nhưng không bị giới hạn ở: axit amin như glyxin, alanin, glutamin, asparagin, arginin hoặc lysin, chất kháng vi sinh vật, chất chống oxy hóa như axit ascorbic, natri sulfat hoặc natri hydro sulfit, chất đệm như phosphat, xitrat, hoặc chất đệm borat, natri hydro carbonat, và dung dịch tris-axit clohydric (Tris-HCl), chất độn như manitol và glyxin, chất tạo chelat như axit etylendiamintetraaxetic (EDTA), chất tạo phức như cafein, polyvinyl pyrolysin, β-xyclodextrin, và hydroxypropyl-β-xyclodextrin, chất kéo dài như glucoza, manoza hoặc dextrin, hydrat cacbon như monosacarit và disacarit, chất tạo màu, chất điều vị, chất pha

loãng, chất nhũ hóa, polyme ưa nước như polyvinyl pyrolysin, polypeptit có trọng lượng phân tử thấp, ion đối tạo muối, benzalkoni clorua, axit benzoic, axit salixylic, thimerosal, rượu phenetylic, metylparaben, propylparaben, clohexidin, chất khử trùng như axit sorbic hoặc hydro peroxit, glyxerin, dung môi như propylen và glycol hoặc polyetylen glycol, rượu đường như manitol hoặc sorbitol, hỗn dịch, sorbitan este, polysorbat như polysorbat 20 và polysorbat 80, triton, trometamin, chất hoạt động bề mặt như lexitin hoặc cholesterol, chất làm tăng khả năng hòa tan như sucroza và sorbitol, natri clorua, kali clorua, chất làm tăng khả năng đàn hồi như manitol và sorbitol, chất vận chuyển, tá dược, và/hoặc chất phụ trợ dùng trong dược phẩm. Lượng chất để bào chế này tốt hơn là được bổ sung với lượng 0,01 đến 100 lần, và cụ thể là 0,1 đến 10 lần trọng lượng của kháng thể kháng CD147. Thành phần của dược phẩm thích hợp trong quá trình bào chế có thể được xác định thích hợp bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực này theo bệnh có thể áp dụng, đường sử dụng có thể áp dụng của nó, và yếu tố tương tự.

Tá dược và chất mang trong dược phẩm có thể là chất lỏng hoặc chất rắn. Tá dược thích hợp và chất mang thích hợp có thể là nước hoặc nước muối để tiêm, dịch não tủy nhân tạo, hoặc các chất khác thường dùng để sử dụng ngoài đường tiêu hóa. Nước muối trung tính hoặc nước muối chứa albumin huyết thanh cũng có thể được sử dụng làm chất mang. Dược phẩm có thể chứa chất đệm Tris có độ pH 7,0-8,5, chất đệm axetat có độ pH 4,0-5,5, hoặc chất đệm xitrat có độ pH 3,0-6,2. Các chất đệm này có thể chứa sorbitol và các hợp chất khác. Ví dụ về dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm dược phẩm chứa kháng thể kháng CD147 và dược phẩm chứa kháng thể kháng CD147 và ít nhất một chất điều trị kháng u. Dược phẩm theo sáng chế được bào chế dưới dạng thuốc có thành phần đã chọn và độ tinh khiết theo yêu cầu, sản phẩm sấy khô nhiệt độ thấp hoặc chất lỏng. Dược phẩm chứa kháng thể kháng CD147 và dược phẩm chứa kháng thể kháng CD147 và ít nhất một chất điều trị kháng ung thư cũng có thể được bào chế dưới dạng sản phẩm sấy khô nhiệt độ thấp trong đó tá dược thích hợp như sucroza được sử dụng.

Dược phẩm theo sáng chế cũng có thể được bào chế để sử dụng ngoài đường tiêu hóa, hoặc để sử dụng qua đường miệng để hấp thu qua đường dạ dày-ruột. Thành phần và nồng độ của chế phẩm có thể được xác định phụ thuộc vào phương pháp sử dụng. Khi kháng thể theo sáng chế được sử dụng cho người, khoảng 0,1 đến 100 mg/kg kháng thể có

thể được sử dụng một lần hoặc một số lần trong thời gian 1 đến 180 ngày. Tuy nhiên, nói chung, liều lượng và tần suất sử dụng cần được xác định khi xem xét giới tính, thể trọng, và tuổi của bệnh nhân, triệu chứng, mức độ nặng, phản ứng có hại, và tương tự, và liều và phương pháp sử dụng nó không bị giới hạn ở các ví dụ nêu trên.

Ví dụ về dạng của dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm chế phẩm tiêm bao gồm chế phẩm để truyền, thuốc đạn, thuốc dùng qua đường mũi, thuốc dùng dưới lưỡi, và thuốc hấp thụ qua da. Ví dụ về đường sử dụng bao gồm sử dụng qua đường miệng hoặc sử dụng ngoài đường tiêu hóa. Ví dụ về sử dụng ngoài đường tiêu hóa bao gồm sử dụng trong tĩnh mạch, trong động mạch, trong cơ, qua trực tràng, qua niêm mạc hoặc trong niêm mạc, và trong chân bì.

Kháng thể theo sáng chế hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của kháng thể này, phức chất dược chất chứa chúng, kháng thể hai giá chứa chúng hoặc dược phẩm chứa chúng có thể được cung cấp kết hợp với chỉ thị sinh học để chọn các bệnh nhân mà chúng được sử dụng. Kháng thể hoặc dược phẩm này cũng có thể được cung cấp dưới dạng kit kết hợp với phương tiện để phát hiện chỉ thị sinh học, hoặc, kháng thể hoặc dược phẩm này có thể được cung cấp riêng rẽ với chỉ thị sinh học. Thông qua việc sử dụng chỉ thị sinh học, kháng thể hoặc dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng cho nhóm bệnh nhân mà kháng thể theo sáng chế được mong đợi là có hiệu quả cao.

Sáng chế đề cập đến: phương pháp dự đoán sự đáp ứng với việc điều trị bệnh ung thư, bao gồm sử dụng các mẫu sinh học được lấy từ bệnh nhân ung thư, xác định sự biểu hiện của SMAD4 hoặc sự biểu hiện của KLF5 chứa trong các mẫu sinh học này, và xác định các bệnh nhân mà SMAD4 được phát hiện hoặc các bệnh nhân mà sự biểu hiện của KLF5 giảm đi hoặc không có sự biểu hiện của KLF5 được phát hiện là có đáp ứng với việc điều trị bệnh ung thư bằng kháng thể theo sáng chế hoặc đoạn chức năng của kháng thể này, hoặc, dược phẩm theo sáng chế; phương pháp chọn các đối tượng điều trị bệnh ung thư, bao gồm sử dụng các mẫu sinh học được lấy từ bệnh nhân ung thư, phát hiện sự biểu hiện của SMAD4 hoặc sự biểu hiện của KLF5 trong các mẫu sinh học này, và chọn các bệnh nhân mà SMAD4 được phát hiện hoặc các bệnh nhân mà sự biểu hiện của KLF5 giảm đi hoặc không có sự biểu hiện của KLF5 được phát hiện làm đối tượng điều trị bệnh ung thư bằng kháng thể theo sáng chế hoặc đoạn chức năng của kháng thể này, hoặc, dược

phẩm theo sáng chế; phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm sử dụng các mẫu sinh học được lấy từ bệnh nhân ung thư, phát hiện sự biểu hiện của SMAD4 hoặc sự biểu hiện của KLF5 trong các mẫu sinh học này, và sử dụng kháng thể theo sáng chế hoặc đoạn chức năng của kháng thể này, hoặc, dược phẩm theo sáng chế cho các bệnh nhân mà SMAD4 được phát hiện hoặc các bệnh nhân mà sự biểu hiện của KLF5 giảm đi hoặc không có sự biểu hiện của KLF5 được phát hiện; hoặc, kit để xác định sự đáp ứng với việc điều trị bệnh ung thư bằng kháng thể theo sáng chế hoặc đoạn chức năng của kháng thể này, hoặc, dược phẩm theo sáng chế, chứa ít nhất là phương tiện để phát hiện sự biểu hiện của SMAD4 hoặc sự biểu hiện của KLF5 trong các mẫu sinh học được lấy từ bệnh nhân ung thư.

Thuật ngữ "(các) mẫu sinh học" như được sử dụng ở đây để chỉ mô, chất lỏng, và các tế bào được phân lập từ cá thể và hỗn hợp của chúng, và ví dụ về chúng có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, mẫu sinh thiết khối u, dịch tủy, dịch màng phổi, dịch trong phúc mạc, bạch huyết, mẩu da, máu, nước tiểu, phân, đờm, cơ quan hô hấp, đường ruột, cơ quan sinh dục tiết niệu, nước bọt, sữa mẹ, cơ quan tiêu hóa, và các tế bào được thu thập từ đó. Ví dụ về "(các) mẫu sinh học" bao gồm tốt hơn là mẫu chứa các tế bào ung thư, tốt hơn nữa là mô hoặc các tế bào thu được bằng cách cắt hoặc sinh thiết, hoặc tế bào thu được từ dịch màng phổi hoặc dịch trong phúc mạc. Các mẫu sinh học được ưu tiên hơn là các mẫu chứa các tế bào ung thư hoặc mô ung thư.

"Sự biểu hiện của SMAD4" có thể được phát hiện hoặc xác định bằng cách sử dụng trình tự hệ gen, sự biểu hiện gen hoặc sự biểu hiện protein của SMAD4 theo phương pháp đã biết bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực này. Ví dụ về phương pháp này bao gồm giải trình tự ARN, vi mảng, giải trình tự hệ gen, và xét nghiệm miễn dịch.

“Sự biểu hiện của KLF5" có thể được phát hiện hoặc xác định bằng cách sử dụng trình tự hệ gen, sự biểu hiện gen hoặc sự biểu hiện protein của KLF5 theo phương pháp đã biết bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực này. Ví dụ về phương pháp này bao gồm IHC, giải trình tự ARN, vi mảng, giải trình tự hệ gen, và xét nghiệm miễn dịch. Thuật ngữ "sự biểu hiện của KLF5 giảm đi" có nghĩa là khi so sánh với đối chứng (ví dụ, mức biểu hiện ở đối tượng khỏe mạnh hoặc mức biểu hiện trong mô không ung thư của chính bệnh nhân này), mức biểu hiện được phát hiện là thấp hơn so với của đối chứng. Theo cách khác, mức biểu hiện của KLF5 giảm đi mà ở đó sự đáp ứng với việc điều trị bệnh ung thư do sử dụng

kháng thể hoặc dược phẩm theo sáng chế có thể được khẳng định, có thể được xác định bằng cách thực hiện phương pháp đã biết bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực này và các thử nghiệm lâm sàng thích hợp. Ví dụ, các bệnh nhân mà hiệu quả có thể thu được và các bệnh nhân mà không hiệu quả nào có thể thu được được so sánh về mức biểu hiện KLF5, nhờ đó thiết lập ngưỡng thích hợp. Do đó, thuật ngữ "sự biểu hiện của KLF5 giảm đi" để chỉ mức biểu hiện thấp hơn so với ngưỡng được xác định theo cách này chẳng hạn.

**Ví dụ thực hiện sáng chế**

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả cụ thể bằng cách ví dụ, nhưng sáng chế không bị giới hạn ở các ví dụ sau đây. Ngoài ra, các ví dụ này không được hiểu theo cách giới hạn theo nghĩa bất kỳ. Trong các ví dụ sau đây, các quy trình liên quan đến việc thao tác di truyền được thực hiện theo các phương pháp được mô tả trong "Molecular Cloning" (Authors: Sambrook, J., Fritsch, E. F., and Maniatis, T., Cold Spring Harbor Laboratory Press in 1989), các phương pháp khác được mô tả trong các sách hướng dẫn thử nghiệm và được sử dụng bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực này, hoặc các hướng dẫn của các sản phẩm có bán trên thị trường trong trường hợp sử dụng các chất phản ứng hoặc kit có bán trên thị trường, nếu không được nói rõ theo cách khác. Hơn nữa, các chất phản ứng, dung môi, và các chất ban đầu không được nêu cụ thể trong bản mô tả này có thể dễ dàng thu được từ các nguồn cung cấp trên thị trường. Trong các ví dụ này, ATCC, Cat. CRL-1420 được sử dụng làm dòng tế bào tụy của người MIA PaCa-2, và ATCC, Cat. CRL-1469 được sử dụng làm dòng tế bào ung thư tụy của người PANC-1.

Ví dụ 1. Tạo ra các kháng thể của chuột và chuột nhắt bằng cách gây miễn dịch tế bào

1)-1 Tạo ra vectơ biểu hiện CD147

Dòng IOH3378 (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific K.K.) của gen CD147 của người có bán trên thị trường (BSG biến thể 2/CD147v2) được tạo dòng vào vectơ biểu hiện của tế bào động vật có vú pcADN-DEST40 (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific K.K.) bằng cách sử dụng Gateway LR Clonase để tạo ra vectơ biểu hiện CD147v2 của người (pcADN-DEST40-CD147v2).

Vectơ biểu hiện của các tế bào động vật có vú pCMV6-XL5-hBSGv1 (OriGene Technologies, Inc., Cat. SC303059) của Gen CD147 của người có bán trên thị trường (BSG biến thể 1/CD147v1) được mua và sử dụng làm vectơ biểu hiện CD147v1 của người.

Để làm vectơ biểu hiện CD147 của khỉ cynomolgus, pCMV3-cynoBSG (Sino Biological Inc., Cat. CG90636-UT) được mua.

Để làm vectơ biểu hiện CD147v2 của chuột nhắt, pCMV3-mBSGv2 (Sino Biological Inc., Cat. MG50332-UT) được mua.

1)-2 Tạo ra các tế bào lai của chuột nhắt

Chuột nhắt BALB/cAnNCrlCrlj 4 đến 6 tuần tuổi (CHARLES RIVER LABORATORIES Nhật bản, INC.) được sử dụng. $5 \times 10^6$ tế bào LNCaP (ATCC, CRL-1740) được tách bằng cách sử dụng Versene (sản phẩm của Thermo Fisher SCIENTIFIC K.K.) vào ngày 0, 7, 15, và 24 được tạo hỗn dịch trong PBS, và hỗn dịch này được sử dụng qua đường dưới da vào lưng. $5 \times 10^6$ tế bào này được sử dụng qua đường tĩnh mạch vào ngày 31, và lách được thu hồi vào cùng ngày và được sử dụng để tạo ra các tế bào lai. Các tế bào lách được dung hợp với tế bào u tủy P3X63Ag8U.1 của chuột nhắt (ATCC, CRL-1597) bằng cách sử dụng PEG4000 (Immuno-Biological Laboratories Co., Ltd.) để tạo ra các tế bào lai. Để phân lập và nuôi cấy các tế bào lai, môi trường ClonaCell-HY D (STEMCELL Technologies Inc.) và môi trường ClonaCell-HY E (STEMCELL Technologies Inc.) được sử dụng.

1)-3 Tạo ra các tế bào lai của chuột

Chuột WKY/Izm 7 tuần tuổi (Japan SLC, Inc.) được sử dụng. 13 ngày sau khi gây miễn dịch bằng $1 \times 10^7$ tế bào của dòng tế bào ung thư tụy của người PANC-1 vào mông, các tế bào hạch bạch huyết vùng chậu được thu hồi và sử dụng để tạo ra các tế bào lai. Các tế bào lách của chuột được dung hợp với tế bào u tủy của chuột nhắt SP2/0-Ag14 (ATCC, CRL-1581) bằng cách sử dụng thiết bị dung hợp tế bào LF301 (BEX CO., LTD.) để tạo ra các tế bào lai. Để phân lập và nuôi cấy các tế bào lai, môi trường ClonaCell-HY D (STEMCELL Technologies Inc.) và môi trường ClonaCell-HY E (STEMCELL Technologies Inc.) được sử dụng.

1)-4 Xác định kháng nguyên bằng ELISA

Protein dung hợp CD147-Fc của người (Sino Biological Inc., Cat. 10186-H02H) và protein dung hợp CD147-Fc của chuột nhắt (Sino Biological Inc., Cat,50332-M03H) được sử dụng. Protein dung hợp CD147-Fc của người và protein dung hợp CD147-Fc của chuột nhắt được điều chế bằng cách bổ sung dung dịch đệm PBS và hòa tan trên nước đá tới 1

μg/ml. 100μl dung dịch protein này được bổ sung vào đĩa có 96 lỗ (Nunc, Thermo Fisher Scientific K.K., Cat.442404), sau đó bảo quản qua đêm ở 4°C, và các lỗ được phủ protein dung hợp CD147-Fc. Dung dịch protein được loại bỏ, và các lỗ được ngăn chặn bằng dung dịch đệm PBS chứa 1% BSA (Research Organics, Inc., Cat. 1334A) ở 4°C trong hai giờ. Các lỗ được rửa ba lần bằng dung dịch đệm PBS chứa 0,05% Tween20 (ATTO CORPORATION, Cat.WSE-7235). Sau đó, dịch nổi bề mặt nuôi cấy tế bào lai được điều chế trong các ví dụ 1)-2 và 1)-3 được pha loãng 20 lần bằng dung dịch đệm PBS và mỗi dịch nổi được bổ sung vào các lỗ, sau đó ủ ở nhiệt độ trong phòng trong một giờ. Các lỗ được rửa bằng dung dịch đệm PBS chứa 0,05% Tween 20 (ATTO CORPORATION, Cat.WSE-7235) ba lần. Sau đó, 100μl Fab2-IgG-HRP kháng chuột (Jackson ImmunoResearch Inc., Cat. 112-036-072) được pha loãng 50000 lần bằng dung dịch đệm PBS chứa 1% BSA được bổ sung vào đó, sau đó lắc ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Các lỗ được rửa 5 lần bằng dung dịch đệm PBS chứa 0,05% Tween 20 (ATTO CORPORATION, Cat.WSE-7235). Sau đó, 100μl chất phản ứng tạo màu enzym HRP (eBioscience, Thermo Fisher SCIENTIFIC K.K., cơ chất ELISA Super AquaBlue, Cat.00-4203) được bổ sung vào đó, sau đó gia nhiệt ở nhiệt độ trong phòng trong 10 đến 20 phút, và năng suất hấp thụ ở 405nm được xác định bằng máy đọc đĩa (Envision, PerkinElmer, Inc). Giá trị trung bình của các giá trị xác định được của năng suất hấp thụ của hai đến ba lỗ được tính, và các kháng thể có năng suất hấp thụ bằng hai lần hoặc cao hơn so với giá trị xác định được của lỗ đối chứng mà không có các kháng thể sơ cấp được xác định là có hoạt tính liên kết (+), và các kháng thể có năng suất hấp thụ nhỏ hơn hai lần được xác định là không có hoạt tính liên kết (-). Bảng 1 nêu tóm tắt các kết quả. Sự hiện màu đặc trưng cho các lỗ được phủ protein dung hợp CD147-Fc của người được quan sát trong các dịch nổi bề mặt nuôi cấy của LN22R8, 2P1A6, 2P3A9, 2P8C12, 2P10F2, 2P2D7, 2P2D10, và 2P1B7. Sự hiện màu đặc trưng cho các lỗ được phủ protein dung hợp CD147-Fc của người và chuột nhắt được quan sát trong LN24R7, 2P5F5, 2P6A2, và 2P3G8.

Bảng 1

| | BSA | hCD147 | mCD147 |
|---|---|---|---|
| LN22R8 | − | + | − |
| LN24R7 | − | + | + |
| 2P1A6 | − | + | − |
| 2P3A7 | − | − | − |
| 2P3A9 | − | + | − |
| 2P3E12 | − | − | − |
| 2P3G5 | − | − | − |
| 2P5E2 | − | − | − |
| 2P5F5 | − | + | + |
| 2P6A2 | − | + | + |
| 2P6C9 | − | − | − |
| 2P6H2 | − | − | − |
| 2P7B8 | + | + | − |
| 2P7D6 | − | − | − |
| 2P8B12 | − | − | − |
| 2P8C12 | − | + | − |
| 2P9A12 | + | + | + |
| 2P9B10 | − | − | − |
| 2P10E6 | − | − | − |
| 2P10F2 | − | + | − |
| 2P10H2 | + | + | + |
| 2P2D7 | − | + | − |
| 2P2D10 | − | + | − |
| 2P2E6 | − | − | − |
| 2P2H8 | − | − | − |
| 2P1B7 | − | + | − |
| 2P3A9 | − | − | − |
| 2P3G8 | − | + | + |

1)-5 Tạo ra các kháng thể đơn dòng và xác định isotyp của kháng thể

Đối với các tế bào lai trong đó sự tạo ra các kháng thể kháng CD147 của người được quan sát trong ví dụ 1)-4 và chúng có thể được nuôi cấy ổn định, các isotyp của các kháng thể chứa trong dịch nổi bề mặt nuôi cấy được xác định bằng cách sử dụng kit xác định isotyp có bán trên thị trường, và bảng 2 thể hiện các kết quả này. Bằng cách sử dụng bình CL-1000 (Becton, Dickinson and Company), các tế bào lai này được nuôi cấy để tạo ra dịch nổi bề mặt nuôi cấy tế bào lai chứa các kháng thể đơn dòng.

Bảng 2

Các kháng thể CD147 thu được từ việc gây miễn dịch tế bào

| Kháng thể | Isotyp |
|---|---|
| LN22R8 | IgG3 của chuột nhắt |

| | |
|---|---|
| 2P1A6 | IgG2a/κ của chuột |
| 2P1B7 | IgG2a/κ của chuột |
| 2P2D6 | IgG2a/κ của chuột |
| 2P3G8 | IgG2b/κ của chuột |
| 2P2D7 | IgG2a/κ của chuột |
| 2P2D10 | IgG2b/κ của chuột |
| 2P8C12 | IgG2a/κ của chuột |
| 2P10F2 | IgG2b/κ của chuột |

1)-6 Tinh chế các kháng thể đơn dòng

Mỗi kháng thể được tinh chế từ dịch nổi bề mặt nuôi cấy được tạo ra trong ví dụ 1)-5. Kháng thể đơn dòng của chuột nhắt kháng CD147 của người được tinh chế bằng quy trình một bước sắc ký ái lực rProtein A (ở nhiệt độ 4 đến 6°C). Bước thay thế chất đệm được thực hiện ở 4 đến 6°C sau khi tinh chế sắc ký ái lực rProtein A. Trước hết, dịch nổi bề mặt nuôi cấy được đưa vào cột được làm cân bằng bằng PBS và được nạp MabSelect SuRe (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience). Sau khi dung dịch nuôi cấy được đưa hoàn toàn vào cột, cột này được rửa bằng PBS với lượng bằng hai lần thể tích cột hoặc cao hơn. Tiếp theo, việc rửa giải bằng dung dịch arginin hydroclorua 2M (pH 4,0) được thực hiện để thu hồi phân đoạn chứa kháng thể. Phân đoạn này được thay thế chất lỏng bằng HBS hoặc (25mM Histidin/5% Sorbitol/pH=6,0) bằng cách thẩm tách (Thermo Scientific, hộp thẩm tách Slide-A-Lyzer). Sau khi cô bằng cách sử dụng thiết bị lọc ly tâm UF VIVASPIN20 (phân đoạn trọng lượng phân tử UF10K, Sartorius AG, ở 4°C), nồng độ IgG được điều chỉnh tới 4,9 mg/ml. Cuối cùng, quá trình lọc được thực hiện bằng cách sử dụng bộ lọc Minisart-Plus (Sartorius AG) để thu được mẫu tinh chế.

Kháng thể đơn dòng của chuột kháng CD147 của người được tinh chế bằng quy trình một bước sắc ký ái lực protein G (ở 4 đến 6°C). Bước thay thế chất đệm được thực hiện ở 4 đến 6°C sau khi tinh chế sắc ký ái lực protein G. Trước hết, dịch nổi bề mặt nuôi cấy tế bào lai được đưa vào cột được làm cân bằng bằng PBS và được nạp protein G (GE Healthcare Bioscience). Sau khi dung dịch dịch nổi bề mặt nuôi cấy được cho hết vào cột, cột này được rửa bằng PBS với lượng bằng hai lần thể tích cột này hoặc nhiều hơn. Tiếp theo, quá trình rửa giải bằng dung dịch 0,1M glyxin/ axit clohydric trong nước (pH= 2,7) được thực hiện để thu hồi phân đoạn chứa kháng thể. Sau khi 1M Tris-HCl (pH 9,0) được

bổ sung vào phân đoạn thu được để điều chỉnh độ pH tới 7,0 đến 7,5, việc thay thế chất đệm bằng HBS hoặc (25mM Histidin/5% Sorbitol/pH 6,0) được thực hiện cùng với cô bằng cách sử dụng thiết bị lọc ly tâm UF VIVASPIN20 (phân đoạn trọng lượng phân tử UF30K, Sartorius AG, ở 4 đến 6°C) để điều chỉnh nồng độ kháng thể đến 1 mg/ml hoặc cao hơn. Cuối cùng, quá trình lọc được thực hiện bằng cách sử dụng bộ lọc Minisart-Plus (Sartorius AG) để thu được mẫu tinh chế.

1)-7 Sàng lọc kháng thể bằng cách xác định hiệu quả kháng u in-vivo

$1 \times 10^7$ tế bào dòng tụy của người PANC-1 được tạo hỗn dịch trong PBS, và hỗn dịch này được cấy dưới da vào nách của chuột NOD-scid (CHARLES RIVER LABORATORIES Nhật bản, INC., NOD. CB17-Prkdc<scid>/J). Việc chia nhóm được thực hiện dựa trên thể tích khối u, và kháng thể của chuột nhắt kháng CD147 (LN22R8) hoặc kháng thể của chuột kháng CD147 (2P1A6, 2P1B7, 2P3G8, 2P2D10, 2P8C12, hoặc 2P10F2) được sử dụng trong phúc mạc cho chuột bị ung thư ở liều 10 mg/kg vào ngày 27, 34, và 41 sau khi cấy (n = 6). Kháng thể của chuột kháng CD147 (2P2D6) được sử dụng trong phúc mạc cho chuột bị ung thư ở liều 10 mg/kg vào ngày 27 và 34 sau khi cấy (n = 6). Trục lớn và trục nhỏ của khối u được cấy được đo hai lần một tuần bằng cách sử dụng thước cặp số điện tử (sản phẩm của MITUTOYO CORPORATION) để tính thể tích khối u bằng công thức sau đây.

Thể tích khối u ($mm^3$) = 1/2 × trục nhỏ (mm) × trục nhỏ (mm) × trục lớn (mm)

Fig.1(a) đến Fig.1(c) thể hiện các kết quả này. Các đồ thị này cũng thể hiện giá trị trung bình và sai số chuẩn của sự thay đổi thể tích khối u. Fig.1(a) thể hiện các kết quả của kháng thể 2P2D6, kháng thể 2P3G8, và kháng thể 2P2D10, Tỷ lệ ức chế sự phát triển của khối u vào ngày 48 sau khi cấy, đây là ngày đo cuối cùng, là 10%, 45%, và 40%, tương ứng, trong nhóm sử dụng 10 mg/kg. Fig.1(b) thể hiện các kết quả của kháng thể LN22R8, kháng thể 2P1A6, và kháng thể 2P1B7. Tỷ lệ ức chế sự phát triển của khối u vào ngày 48 sau khi cấy, đây là ngày đo cuối cùng, là 50%, 26%, và 24%, tương ứng, trong nhóm sử dụng 10 mg/kg. Fig.1(c) thể hiện các kết quả của kháng thể 2P8C12 và kháng thể 2P10F2. Tỷ lệ ức chế sự phát triển của khối u vào ngày 48 sau khi cấy, đây là ngày đo cuối cùng, là -2% và 62%, tương ứng, trong nhóm sử dụng 10 mg/kg.

[0170]

1)-8 Phân tích khả năng phản ứng chéo loài của kháng thể CD147

Bằng cách sử dụng Lipofectamine 2000 (Thermo Fisher SCIENTIFIC K.K., Cat. 11668-019), pcADN-DEST40-CD147v2 hoặc pCMV3-cynoBSG được tạo ra trong ví dụ 1)-1 được chuyển nhiễm vào các tế bào CHO-K1 (ATCC, CCL-61), và các tế bào này được xử lý bằng kháng thể của chuột nhắt kháng CD147 của người (LN22R8) hoặc kháng thể của chuột kháng CD147 của người (2P1A6, 2P1B7, 2P3G8, 2P2D10, 2P8C12, 2P10F2, hoặc 2P2D6) ở liều 10 μg/ml một ngày sau đó, bằng cách đó cho phép phát hiện huỳnh quang sự liên kết của mỗi kháng thể với các tế bào CHO-K1 biểu hiện CD147 bằng cách sử dụng IgG-FITC kháng chuột nhắt (MP Biomedicals, Inc., Cat.554936) hoặc IgG-PE kháng chuột (BD Biosciences, Cat.550767). Việc phát hiện huỳnh quang sự biểu hiện CD147 của khỉ cynomolgus và của người trong các tế bào CHO-K1 được cho phép bởi sự liên kết của kháng thể kháng CD147 có bán trên thị trường (MEM-M6/1, AbD Serotec, Cat. MCA28822). Các tế bào nêu trên được xác định bằng cách sử dụng máy đếm tế bào theo dòng (CantoII, BD Biosciences), và Fig.2-1 đến Fig.2-3 nêu tóm tắt các kết quả này. Trên các đồ thị, trục thẳng đứng thể hiện số lượng tế bào, và trục nằm ngang thể hiện cường độ tín hiệu huỳnh quang.

Kháng thể kháng CD147 có bán trên thị trường (MEM-M6/1), kháng thể của chuột nhắt kháng CD147 của người (LN22R8), và các kháng thể của chuột kháng CD147 (2P1A6, 2P1B7, 2P3G8, 2P2D10, 2P8C12, 2P10F2, và 2P2D6) đều có hoạt tính liên kết với các tế bào CHO-K1 biểu hiện CD147 của người (Fig.2-1 đến Fig.2-3).

Kháng thể kháng CD147 có bán trên thị trường (MEM-M6/1) có hoạt tính liên kết với các tế bào CHO-K1 biểu hiện CD147 của khỉ cynomolgus, nhưng không kháng thể nào trong số kháng thể của chuột nhắt kháng CD147 của người (LN22R8) và các kháng thể của chuột kháng CD147 của người (2P1A6, 2P1B7, 2P3G8, 2P2D10, 2P8C12, 2P10F2, và 2P2D6) có hoạt tính liên kết với các tế bào CHO-K1 biểu hiện CD147 của khỉ cynomolgus (Fig. 2-1 đến Fig. 2-3).

Không kháng thể nào trong số các kháng thể kháng CD147 có hoạt tính liên kết với các tế bào CHO-K1 biểu hiện CD147 của chuột nhắt (dữ liệu không được thể hiện).

1)-9 Phân tích epitop

Tạo ra các vectơ đột biến biểu hiện CD147 của người để phân tích epitop

Theo kết quả của việc tìm kiếm BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi), các trình tự axit amin của CD147 của người và của khỉ cynomolgus được tính toán là giống nhau 81%. Do đó, việc đánh giá các epitop kháng u bằng cách sử dụng các thể đột biến trong đó các trình tự amino khác nhau được ghép một phần giữa các loài được thực hiện, khi giả định rằng sự khác nhau có giới hạn về các trình tự axit amin sẽ ảnh hưởng trực tiếp đến sự nhận biết các epitop liên kết kháng thể CD147. Các trình tự axit amin chứa trong hCD147v1 và v2 mà thường được so sánh trình tự giữa CD147 của khỉ cynomolgus và của người và được phân loại thành 9 vùng axit amin khác nhau giữa các loài để tạo thành mu1 đến mu9 (Fig.3). Để tạo ra các vectơ biểu hiện thể đột biến CD147 và để khẳng định sự biểu hiện trên bề mặt tế bào, trình tự cADN của biến thể 2 của CD147 của người cùng với trình tự FLAG được đưa vào đầu tận cùng N được tổng hợp nhân tạo để tạo ra plasmit, sau đó plasmit này được đưa vào vectơ pcADN3.1, Signal-N-Flag-hCD147v2_pcADN3.1 (GenScript Biotech Corporation). Hơn nữa, 9 loại vectơ biểu hiện CD147 thể khảm người-khỉ cynomolgus, hCD147-mu1_pcADN3.1, hCD147-mu2_pcADN3.1, hCD147-mu3_pcADN3.1, hCD147-mu4_pcADN3.1, hCD147-mu5_pcADN3.1, hCD147-mu6_pcADN3.1, hCD147-mu7_pcADN3.1, hCD147-mu8_pcADN3.1, và hCD147-mu9_pcADN3.1, được tạo ra bằng cách đưa ADN mã hóa các trình tự axit amin CD147 của khỉ cynomolgus mu1 đến mu9 làm các đột biến thay thế axit amin bằng cách thay thế ADN vào gen CD147 của người của cùng một plasmit, được tạo ra (GenScript Biotech Corporation).

1)-10 Xác định các vùng epitop kháng u bằng cách sử dụng các thể đột biến

9 loại vectơ biểu hiện CD147 của người, CD147 của khỉ cynomolgus, hoặc các vectơ biểu hiện CD147 thể khảm người-khỉ cynomolgus được đưa vào các tế bào CHO-K1 (ATCC, CCL-61) bằng cách sử dụng Lipofectamine 2000 (Thermo Scientific, Cat. 11668-019), sau đó xử lý bằng kháng thể của chuột nhắt kháng CD147 của người (LN22R8) hoặc kháng thể của chuột kháng CD147 của người (2P1A6, 2P1B7, 2P3G8, 2P2D10, 2P8C12, 2P10F2, hoặc 2P2D6) ở liều 10 μg/ml một ngày sau đó, và sự liên kết của kháng thể kháng CD147 với các tế bào CHO-K1 biểu hiện CD147 được nghiên cứu bằng cách sử dụng IgG-PE kháng chuột nhắt (DAKO, Cat. R480) hoặc IgG-PE kháng chuột (Becton, Dickinson and Company, #550767). Sự biểu hiện của protein CD147 được khẳng định bằng cách sử

dụng kháng thể kháng FLAG có bán trên thị trường (kháng Flag M2, SIGMA, Cat. F4049-.2MG). Việc xác định bằng cách sử dụng máy đếm tế bào theo dòng (CantoII, BD Biosciences) được thực hiện, và bảng 3 nêu tóm tắt các kết quả này. Các mẫu có sự tăng tín hiệu huỳnh quang bằng 10 lần hoặc cao hơn so với tín hiệu huỳnh quang trong các tế bào đối chứng không được xử lý bằng các kháng thể sơ cấp được xác định là liên kết dương tính (+). Các mẫu có sự tăng một phần tín hiệu huỳnh quang nhỏ hơn 10 lần được xác định là liên kết dương tính nhẹ (±). Các mẫu không có sự tăng tín hiệu huỳnh quang so với tín hiệu trong các tế bào đối chứng không được xử lý bằng các kháng thể sơ cấp được xác định là liên kết âm tính (-).

Tất cả các kháng thể 2P3G8, 2P10F2, 2P2D10, và LN22R8 có hiệu quả kháng u bằng 40% hoặc cao hơn được quan sát trong ví dụ 1)-7 bị mất hoạt tính liên kết với CD147 có đột biến mu3. Điều này gợi ý rằng epitop quan trọng của hiệu quả kháng u là vùng m3.

Bảng 3

| | Tác dụng kháng u in vivo | mock | pCMV3-cynoBSG | Signal-N-Flag-hCD147v2_pcDNA3.1 | hCD147-mu1_pcDNA3.1 | hCD147-mu2_pcDNA3.1 | hCD147-mu3_pcDNA3.1 | hCD147-mu4_pcDNA3.1 | hCD147-mu5_pcDNA3.1 | hCD147-mu6_pcDNA3.1 | hCD147-mu7_pcDNA3.1 | hCD147-mu8_pcDNA3.1 | hCD147-mu9_pcDNA3.1 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kháng-Flag M2 | ND | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 2P1A6 | 26% | - | ± | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 2P1B7 | 24% | - | - | + | - | + | ± | + | + | + | + | + | + |
| 2P3G8 | 45% | - | - | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + |
| 2P10F2 | 58% | - | - | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + |
| 2P8C12 | 8% | - | - | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 2P2D10 | 40% | - | - | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + |
| LN22R8 | 50% | - | - | + | ± | + | - | - | + | + | + | + | ± |
| MEM-M6/1 | ND | - | + | + | + | + | ± | + | + | + | + | + | + |

1)-11 Xác định trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi của các kháng thể LN22R8 và 2P10F2

1)-11-1 Xác định trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi của kháng thể LN22R8

1)-11-1-1 Điều chế ARN tổng số của tế bào lai tạo kháng thể LN22R8

Để khuếch đại cADN mã hóa vùng biến đổi của kháng thể LN22R8, ARN tổng số được điều chế bằng cách sử dụng chất phản ứng TRIzol (Ambion) từ các tế bào lai tạo kháng thể LN22R8.

1)-11-1-2 Khuếch đại cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể LN22R8 bằng 5'-RACE PCR và xác định trình tự của nó

cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ được khuếch đại bằng cách sử dụng khoảng 1μg ARN tổng số được điều chế trong ví dụ 1)-11-1-1 và Kit SMARTer RACE 5'/3' (Clontech Laboratories, Inc). Để làm các đoạn mồi để khuếch đại cADN mã hóa vùng biến đổi của gen chuỗi nhẹ của kháng thể LN22R8 bằng PCR, UPM (hỗn hợp mồi vạn năng A: được gắn với kit SMARTer RACE 5'/3') và đoạn mồi được thiết kế từ trình tự của vùng hằng định của chuỗi nhẹ đã biết của chuột nhắt được sử dụng.

cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ được khuếch đại bằng 5'-RACE PCR được tạo dòng vào plasmit, và sau đó trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ được phân tích.

SEQ ID NO: 7 thể hiện trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể LN22R8 được xác định theo cách đó, và SEQ ID NO: 8 thể hiện trình tự axit amin của nó. SEQ ID NO: 11, 12, và 13 tương ứng thể hiện CDRL1, CDRL2, và CDRL3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể LN22R8.

1)-11-1-3 Khuếch đại cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể LN22R8 bằng 5'-RACE PCR và xác định trình tự của nó

cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng được khuếch đại bằng cách sử dụng khoảng 1μg ARN tổng số được điều chế trong ví dụ 1)-11-1-1 và Kit SMARTer RACE 5'/3' (Clontech Laboratories, Inc.). Để làm các đoạn mồi để khuếch đại cADN mã hóa vùng biến đổi của gen chuỗi nặng của kháng thể LN22R8 bằng PCR, UPM (hỗn hợp mồi vạn năng A: được gắn với kit SMARTer RACE 5'/3') và đoạn mồi được thiết kế từ trình tự của vùng hằng định của chuỗi nặng đã biết của chuột nhắt được sử dụng.

cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng được khuếch đại bằng 5'-RACE PCR được tạo dòng vào plasmit, và sau đó trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng được phân tích.

SEQ ID NO: 9 thể hiện trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể LN22R8 được xác định theo cách đó, và SEQ ID NO: 10 thể hiện trình tự axit amin của nó. SEQ ID NO: 14, 15, và 16 tương ứng thể hiện CDRH1, CDRH2, và CDRH3 của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể LN22R8.

1)-11-2 Xác định trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi của kháng thể 2P10F2

Các phương pháp giống như trong ví dụ 1)-11-1 được sử dụng. Tuy nhiên, UPM (hỗn hợp mồi vạn năng A: được gắn với kit SMARTer RACE 5'/3') và đoạn mồi được thiết kế từ trình tự của vùng hằng định của chuỗi nhẹ đã biết của chuột được sử dụng để làm các đoạn mồi để khuếch đại cADN mã hóa vùng biến đổi của gen chuỗi nhẹ bằng PCR, và UPM (hỗn hợp mồi vạn năng A: được gắn với kit SMARTer RACE 5'/3') và đoạn mồi được thiết kế từ trình tự của vùng hằng định của chuỗi nặng đã biết của chuột được sử dụng để làm các đoạn mồi để khuếch đại cADN mã hóa vùng biến đổi của gen chuỗi nặng bằng PCR.

SEQ ID NO: 17 thể hiện trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể 2P10F2 được xác định theo cách đó, và SEQ ID NO: 18 thể hiện trình tự axit amin của nó. SEQ ID NO: 21, 22, và 23 tương ứng thể hiện CDRL1, CDRL2, và CDRL3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể 2P10F2. SEQ ID NO: 19 thể hiện trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng, và SEQ ID NO: 20 thể hiện trình tự axit amin của nó. SEQ ID NO: 24, 25, và 26 tương ứng thể hiện CDRH1, CDRH2, và CDRH3 của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể 2P10F2.

1)-12 Tạo ra vectơ biểu hiện kháng thể thể khảm của người LN22R8

1)-12-1 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ nhân hóa và thể khảm của người pCMA-LK

Khoảng 5,4 kb đoạn thu được bằng cách cắt plasmit pcADN3.3-TOPO/LacZ (Invitrogen Corp.) bằng các enzym giới hạn XbaI và PmeI được liên kết với đoạn ADN chứa trình tự tín hiệu chuỗi nhẹ của người được thể hiện bằng SEQ ID NO: 27 và trình tự ADN mã hóa vùng hằng định chuỗi κ của người bằng cách sử dụng kit tạo dòng In-Fusion HD PCR (Clontech Laboratories, Inc.) để tạo ra pcADN3.3/LK.

Các đơn vị biểu hiện neomycin được loại bỏ khỏi pcADN 3.3/LK, bằng cách đó tạo ra pCMA-LK.

1)-12-2 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG1 nhân hóa và thể khảm của người pCMA-G1

Đoạn ADN mà từ đó trình tự tín hiệu chuỗi nhẹ và vùng hằng định chuỗi κ của người được loại bỏ bằng cách cắt pCMA-LK bằng XbaI và PmeI được liên kết với đoạn ADN chứa trình tự tín hiệu chuỗi nặng của người được thể hiện bằng SEQ ID NO: 28 và trình tự

ADN mã hóa các axit amin trong vùng hằng định IgG1 của người bằng cách sử dụng kit tạo dòng In-Fusion HD PCR (Clontech Laboratories, Inc.) để tạo ra pCMA-G1.

1)-12-3 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 nhân hóa và thể khảm của người pCMA-G2

Bằng cách sử dụng đoạn ADN chứa trình tự tín hiệu chuỗi nặng của người được thể hiện bằng SEQ ID NO: 29 và trình tự ADN mã hóa các axit amin trong vùng hằng định IgG2 của người, pCMA-G2 được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-12-2.

1)-12-4 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của LN22R8 thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của LN22R8 thu được trong ví dụ 1)-11-1-2 để làm khuôn, PCR được thực hiện bằng cách sử dụng đoạn mồi được thiết kế để tạo dòng trong quá trình dung hợp (In-fusion), bằng cách đó khuếch đại đoạn ADN chứa cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ. Đoạn ADN được khuếch đại này được chèn vào vị trí mà ở đó pCMA-LK được cắt bằng enzym giới hạn BsiWI, bằng cách sử dụng kit tạo dòng In-Fusion HD PCR (Clontech Laboratories, Inc.), bằng cách đó tạo ra vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của LN22R8 thể khảm của người. SEQ ID NO: 30 và SEQ ID NO: 31 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nhẹ của LN22R8 thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ này.

1)-12-5 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG1 của LN22R8 thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của LN22R8 thu được trong 1)-11-1-3 để làm khuôn, PCR được thực hiện bằng cách sử dụng đoạn mồi được thiết kế để tạo dòng In-fusion, bằng cách đó khuếch đại đoạn ADN chứa cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng. Bằng cách sử dụng kit tạo dòng In-Fusion HD PCR (Clontech Laboratories, Inc.), đoạn ADN được khuếch đại này được chèn vào vị trí mà ở đó pCMA-G1 được cắt bằng enzym giới hạn BlpI, bằng cách đó tạo ra vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG1 của LN22R8 thể khảm của người. SEQ ID NO: 32 và SEQ ID NO: 33 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG1 của LN22R8 thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

1)-12-6 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của LN22R8 thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của LN22R8 thu được trong ví dụ 1)-11-1-3 để làm khuôn, PCR được thực hiện bằng cách sử dụng đoạn mồi

được thiết kế để tạo dòng In-fusion, bằng cách đó khuếch đại đoạn ADN chứa cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng. Bằng cách sử dụng kit tạo dòng In-Fusion HD PCR (Clontech Laboratories, Inc.), đoạn ADN được khuếch đại này được chèn vào vị trí mà ở đó pCMA-G2 được cắt bằng enzym giới hạn BlpI, bằng cách đó tạo ra vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của LN22R8 thể khảm của người. SEQ ID NO: 34 và SEQ ID NO: 35 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG2 của LN22R8 thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

1)-12-7 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của LN22R8 thể khảm của người

Đoạn ADN chứa trình tự ADN mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nặng loại IgG4P của LN22R8 thể khảm của người được thể hiện bằng SEQ ID NO: 36 được tổng hợp (Geneart AG). Bằng cách sử dụng đoạn ADN tổng hợp được, vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của LN22R8 thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-12-2. SEQ ID NO: 37 thể hiện trình tự axit amin của chuỗi nặng loại IgG4P của LN22R8 thể khảm của người.

1)-13 Tạo ra các vectơ biểu hiện kháng thể thể khảm của người của 2P10F2

1)-13-1 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG1LALA nhân hóa và thể khảm của người pCMA-G1LALA

Bằng cách sử dụng trình tự tín hiệu chuỗi nặng của người được thể hiện bằng SEQ ID NO: 38 và đoạn ADN chứa trình tự ADN mã hóa axit amin của vùng hằng định IgG1LALA của người, pCMA-G1LALA được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-12-2.

1)-13-2 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P nhân hóa và thể khảm của người pCMA-G4P

Bằng cách sử dụng trình tự tín hiệu chuỗi nặng của người được thể hiện bằng SEQ ID NO: 39 và đoạn ADN chứa trình tự ADN mã hóa axit amin của vùng hằng định IgG4P của người, pCMA-G4P được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-12-2.

1)-13-3 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của 2P10F2 thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của 2P10F2 thu được trong ví dụ 1)-11-2 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của 2P10F2 thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-12-4, SEQ ID NO: 40 và SEQ ID

NO: 41 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nhẹ của 2P10F2 thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ này.

1)-13-4 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG1LALA của 2P10F2 thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của 2P10F2 thu được trong ví dụ 1)-11-2 để làm khuôn, PCR được thực hiện bằng cách sử dụng đoạn mồi được thiết kế để tạo dòng In-fusion, bằng cách đó khuếch đại đoạn ADN chứa cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng. Bằng cách sử dụng kit tạo dòng In-Fusion HD PCR (Clontech Laboratories, Inc.), đoạn ADN được khuếch đại này được chèn vào vị trí mà ở đó pCMA-G1LALA được cắt bằng enzym giới hạn BlpI, bằng cách đó tạo ra vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG1LALA của 2P10F2 thể khảm của người. SEQ ID NO: 42 và SEQ ID NO: 43 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG1LALA của 2P10F2 thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

1)-13-5 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của 2P10F2 thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của 2P10F2 thu được trong ví dụ 1)-11-2 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của 2P10F2 thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-12-6. SEQ ID NO: 44 và SEQ ID NO: 45 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG2 của 2P10F2 thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

1)-13-6 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của 2P10F2 thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của 2P10F2 thu được trong ví dụ 1)-11-2 để làm khuôn, PCR được thực hiện bằng cách sử dụng đoạn mồi được thiết kế để tạo dòng In-fusion, bằng cách đó khuếch đại đoạn ADN chứa cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng. Bằng cách sử dụng kit tạo dòng In-Fusion HD PCR (Clontech Laboratories, Inc.), đoạn ADN được khuếch đại này được chèn vào vị trí mà ở đó pCMA-G4P được cắt bằng enzym giới hạn BlpI, bằng cách đó tạo ra vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của 2P10F2 thể khảm của người. SEQ ID NO: 46 và SEQ ID NO: 47 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG4P của 2P10F2 thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

1)-14 Tạo ra và điều chế các kháng thể thể khảm của người của LN22R8 và 2P10F2

1)-14-1 Tạo ra các kháng thể thể khảm của người của LN22R8 và 2P10F2

Các tế bào FreeStyle 293F (Invitrogen Corp.) được cấy chuyển và nuôi cấy theo sách hướng dẫn. $1,2 \times 10^9$ tế bào FreeStyle 293F (Invitrogen Corp.) trong pha phát triển loga được cấy vào bình Fernbach Erlenmeyer 3l (Corning Incorporated) và được pha loãng bằng môi trường biểu hiện FreeStyle293 (Invitrogen Corp.) tới $2,0 \times 10^6$ tế bào/ml. 0,24mg vectơ biểu hiện chuỗi nặng, 0,36mg vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ, và 1,8mg Polyetylenimin (Polyscience #24765) được bổ sung vào 40ml môi trường Opti-Pro SFM (Invitrogen Corp.), sau đó khuấy nhẹ và để yên thêm trong 5 phút. Sau đó, hỗn hợp này được bổ sung vào tế bào FreeStyle 293F. Sau khi lắc dịch nuôi cấy ở tốc độ 90 vòng/phút trong tủ ấp ở 37°C và 8% $CO_2$ trong 4 giờ, 600ml môi trường EX-CELL VPRO (SAFC Biosciences, Sigma-Aldrich Corporation), 18ml GlutaMAX I (Gibco), và 30ml dịch siêu lọc Yeastolate (Gibco) được bổ sung vào đó, sau đó lắc dịch nuôi cấy ở tốc độ 90 vòng/phút trong tủ ấp ở 37°C và 8% $CO_2$ trong 7 ngày, và dịch nổi bề mặt nuôi cấy thu được được lọc bằng bộ lọc dạng nang dùng một lần (Advantec #CCS-045-E1H).

Kháng thể thể khảm của người của LN22R8 thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG1 của LN22R8 thể khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của LN22R8 thể khảm của người có tên là "LN22R8chIgG1". Kháng thể thể khảm của người của LN22R8 thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của LN22R8 thể khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của LN22R8 thể khảm của người có tên là "LN22R8chIgG2". Kháng thể thể khảm của người của LN22R8 thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của LN22R8 thể khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của LN22R8 thể khảm của người có tên là "LN22R8chIgG4P". Kháng thể thể khảm của người của L2P10F2 thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG1LALA của 2P10F2 thể khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của 2P10F2 thể khảm của người có tên là "2P10F2chIgG1LALA". Kháng thể thể khảm của người của L2P10F2 thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của 2P10F2 thể khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của 2P10F2 thể khảm của người có tên là "2P10F2chIgG2". Kháng thể thể khảm của người của L2P10F2 thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của 2P10F2 thể khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của 2P10F2 thể khảm của người có tên là "2P10F2chIgG4P".

1)-14-2 Tinh chế các kháng thể thể khảm của người của LN22R8 và 2P10F2

Mỗi kháng thể được tinh chế từ dịch nổi bề mặt nuôi cấy thu được trong ví dụ 1)-14-1 bằng quy trình một bước sắc ký ái lực rProtein A. Sau khi dịch nổi bề mặt nuôi cấy được đưa vào cột được làm cân bằng bằng PBS và được nạp MabSelect SuRe (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience), cột này được rửa bằng PBS với lượng bằng hai lần thể tích cột này hoặc nhiều hơn. Tiếp theo, việc rửa giải bằng dung dịch arginin hydroclorua 2M (pH 4,0) được thực hiện để thu hồi phân đoạn chứa kháng thể. Phân đoạn này được thay thế chất đệm bằng HBS hoặc chất đệm (25mM Histidin/5% Sorbitol/pH 6,0) bằng cách thẩm tách (Thermo Scientific, băng thẩm tách Slide-A-Lyzer). Kháng thể được cô bằng cách sử dụng thiết bị lọc ly tâm UF VIVASPIN20 (phân đoạn trọng lượng phân tử UF10K, Sartorius AG) để điều chỉnh nồng độ IgG tới 1 mg/l hoặc cao hơn. Cuối cùng, việc lọc được thực hiện bằng cách sử dụng bộ lọc Minisart-Plus (Sartorius AG) để thu được mẫu tinh chế.

1)-15 Hoạt tính ADCC của các kháng thể thể khảm của người

Hoạt tính ADCC của mỗi kháng thể thể khảm của người được đánh giá bằng cách sử dụng các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) của người làm các tế bào thực hiện và dòng tế bào tụy của người MIA PaCa-2 làm tế bào đích của ADCC. Sau khi các tế bào MIA PaCa-2 được đánh dấu bằng chất đồng vị phóng xạ $^{51}Cr$ được xử lý bằng kháng thể của chuột nhắt (LN22R8), kháng thể của chuột (2P10F2), hoặc các kháng thể thể khảm của người (LN22R8chIgG1, LN22R8chIgG2, LN22R8chIgG4P, 2P10F2chIgG1LALA, hoặc 2P10F2chIgG4P) ở nồng độ 0,5 hoặc 5 μg/ml ở 4°C trong 30 phút, PBMC tách ra từ máu ngoại vi của người được bổ sung vào đó với tỷ lệ bằng 20 lần tỷ lệ của các tế bào MIA PaCa-2, sau đó nuôi cấy trong 4 giờ ở 37°C với sự có mặt của 5% $CO_2$. Bằng cách sử dụng TopCount NXT v2.53, $^{51}Cr$ được giải phóng vào dịch nổi bề mặt được xác định để thu được giá trị tổng lượng giải phóng. Bằng cách sử dụng giá trị xác định được của $^{51}Cr$ được giải phóng khi các tế bào MIA PaCa-2 được đánh dấu bằng $^{51}Cr$ được xử lý bằng Triton-100, làm giá trị giải phóng tối đa, và giá trị xác định được của $^{51}Cr$ được giải phóng khi các tế bào được xử lý bằng kháng thể mà không bổ sung PBMC được xử lý, để làm giá trị giải phóng tự nhiên, % giải phóng đặc hiệu được tính từ công thức sau đây. Fig.6 nêu tóm tắt các kết quả. Để làm mẫu đối chứng âm, mẫu

thu được bằng cách xử lý IgG của người (hIgG, ChromPure Human IgG, Jackson Immuno Research Laboratories, Inc., Cat.009-000-003) được xác định theo cách giống hệt, và các kết quả này được thể hiện cùng nhau. Việc xác định được thực hiện ba lần, và giá trị trung bình và độ lệch chuẩn được tính toán và thể hiện.

% giải phóng đặc hiệu = (Tổng lượng giải phóng - Lượng giải phóng tự nhiên)/Lượng giải phóng tối đa

Mặc dù IgG của người (hIgG) và kháng thể LN22R8 của chuột nhắt không có hoạt tính ADCC, LN22R8chIgG1 có hoạt tính ADCC bằng 17,4% ở liều 0,5 μg/ml và 18,1% ở liều 5 μg/ml. Các hoạt tính ADCC của LN22R8chIgG2 và LN22R8chIgG4P là thấp hơn so với hoạt tính của LN22R8chIgG1 và lần lượt bằng 3,0% và 2,2% ngay cả ở 5 μg/ml.

Kháng thể 2P10F2 của chuột có hoạt tính ADCC bằng 4,8% ở 0,5 μg/ml và 8,4% ở 5 μg/ml. 2P10F2chIgG1LALA có hoạt tính ADCC bằng 4,7% ở 0,5 μg/ml và 2,9% ở 5 μg/ml. 2P10F2chIgG4P có hoạt tính ADCC bằng 3,4% ở 0,5 μg/ml và 1,1% ở 5 μg/ml, các hoạt tính này là thấp hơn so với các hoạt tính của kháng thể 2P10F2 của chuột và 2P10F2chIgG1LALA. Như được thông báo trong tài liệu chuyên ngành (Bruggemann et al., J.Exp. Med., 1351-1361, 1987), các kháng thể thể khảm của người sử dụng phân typ IgG1 có hoạt tính ADCC cao nhất.

1)-16 Hoạt tính CDC của các kháng thể thể khảm của người

Hoạt tính làm chết tế bào phụ thuộc bổ thể (hoạt tính CDC) của mỗi kháng thể kháng CD147 của người được đánh giá bằng cách sử dụng dòng tế bào tụy của người MIA PaCa-2 làm tế bào đích. Bổ thể của thỏ có bán trên thị trường (bổ thể của thỏ Low Tox-M, CEDARLANE LABORATORIES LIMITED, Cat. CL3051) được sử dụng làm bổ thể. Kháng thể của chuột nhắt (LN22R8), kháng thể của chuột (2P10F2), hoặc các kháng thể thể khảm của người (LN22R8chIgG1, LN22R8chIgG2, LN22R8chIgG4P, 2P10F2chIgG1LALA, hoặc 2P10F2chIgG4P) được sử dụng làm kháng thể kháng CD147 của người. Để làm kháng thể đối chứng âm hoạt tính CDC, IgG của người (hIgG, ChromPure Human IgG, Jackson Immuno Research Laboratories, Inc., Cat.009-000-003) được sử dụng. Sau khi kháng thể được xử lý ở 4°C và ở nồng độ 0, 0,1, 1, hoặc 10 μg/ml trong một giờ, bổ thể của thỏ được bổ sung vào đó tới nồng độ cuối 7,5%, sau đó gia nhiệt ở 37°C với sự có mặt của 5% $CO_2$ trong ba giờ. Sau đó, ATP liên tế bào chứa trong các tế

bào sống được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm khả năng sống của tế bào phát sáng CellTiter-Glo (Promega Corp., Cat.G7572). Các tín hiệu phát sáng thu được bằng cách sử dụng thử nghiệm khả năng sống của tế bào phát sáng CellTiter-Glo được định lượng bằng cách sử dụng máy đọc EnVision 2104 Multilabel (PerkinElmer Co., Ltd). Việc xác định được thực hiện ba lần, và giá trị trung bình và độ lệch chuẩn được tính. Các tín hiệu phát sáng thu được từ các tế bào không được xử lý được lấy làm 100%, và các tín hiệu phát sáng giảm đi bất kỳ phụ thuộc kháng thể và bổ thể được lấy làm hoạt tính CDC. Fig.7 nêu tóm tắt các kết quả này.

Chỉ trong kháng thể của chuột nhắt (LN22R8) và kháng thể của chuột (2P10F2), hoạt tính CDC phụ thuộc nồng độ được quan sát so với hIgG đối chứng âm. Trong LN22R8, các tế bào sống ở 10 μg/ml giảm tối đa tới 41,1%. Trong 2P10F2, các tế bào sống ở 10 μg/ml giảm tối đa tới 53,5%.

Trong các kháng thể thể khảm của người (LN22R8chIgG1, LN22R8chIgG2, LN22R8chIgG4P, 2P10F2chIgG1LALA, và 2P10F2chIgG4P), không hoạt tính CDC rõ ràng nào được quan sát so với hIgG đối chứng âm.

1)-17 Hoạt tính ADCP của các kháng thể thể khảm của người

Đã có thông báo rằng các kháng thể IgG của người có hoạt tính tiêu diệt tế bào đối với các tế bào ung thư bằng cách cảm ứng quá trình thực bào (ADCP) bởi các bạch cầu đơn nhân phụ thuộc kháng thể hoặc các đại thực bào thông qua sự tương tác với các thụ thể Fcγ của chuột nhắt (Overdijk et al., Journal of Immunology, 1-9, 2012). Hoạt tính ADCP của mỗi kháng thể thể khảm của người được đánh giá bằng cách sử dụng RAW264.7 (ATCC, TIB-71) làm các tế bào thực hiện và dòng tế bào tụy của người PANC-1 hoặc MIA PaCa-2 làm tế bào đích của ADCP. Sau khi các tế bào đích của ADCP được đánh dấu bằng Mini Kit chất liên kết tế bào huỳnh quang xanh lá cây PKH67 để đánh dấu màng tế bào thông thường (SIGMA, Cat. MINI67-1KIT) và các kháng thể thể khảm của người (LN22R8chIgG1, LN22R8chIgG2, hoặc LN22R8chIgG4P) được xử lý ở nồng độ 20 μg/ml ở 4°C trong một giờ, các tế bào RAW264.7 được đánh dấu bằng kit chất liên kết tế bào huỳnh quang đỏ PKH26 để đánh dấu màng tế bào thông thường (SIGMA, Cat.PKH26GL-1KT) được bổ sung vào đó ở lượng bằng 5 lần lượng tế bào đích của ADCP, sau đó gia nhiệt ở 37°C với sự có mặt của 5% $CO_2$ trong ba giờ. Bằng cách sử dụng máy đếm tế bào

theo dòng (Becton, Dickinson and Company, CantoII), tỷ lệ của các tế bào dương tính với PKH26 được chuyển thành các tế bào dương tính với tín hiệu PKH67 bởi sự thực bào được xác định. Để làm mẫu đối chứng âm, mẫu thu được bằng cách xử lý IgG của người (hIgG, ChromPure Human IgG, Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., Cat.009-000-003) được xác định theo cách giống hệt. Việc xác định được thực hiện ba lần, và giá trị trung bình và độ lệch chuẩn được tính. Fig.8(a) thể hiện các kết quả này của PANC-1, và Fig.8(b) thể hiện các kết quả này của MIA PaCa-2, tương ứng.

Trong trường hợp sử dụng tế bào PANC-1 làm tế bào đích của ADCP, LN22R8chIgG1 có hoạt tính ADCP cao bằng 9,2%, và LN22R8chIgG4P có hoạt tính ADCP cao bằng 9,0%, so với IgG của người (5,5%). LN22R8chIgG2 không có hoạt tính ADCP ở 5,9%.

Cũng trong trường hợp sử dụng các tế bào MIA PaCa-2 làm tế bào đích của ADCP, xu hướng tương tự được thể hiện, trong đó LN22R8chIgG1 có hoạt tính ADCP cao bằng 6,6%, và LN22R8chIgG4P có hoạt tính ADCP cao bằng 6,1%, so với IgG của người (3,6%). LN22R8chIgG2 không có hoạt tính ADCP ở 3,6%.

1)-18 Xác định hiệu quả kháng u in-vivo của các kháng thể thể khảm của người

$5 \times 10^6$ tế bào dòng tụy của người MIA PaCa-2 được tạo hỗn dịch trong PBS chứa 50% GFR-Matrigel (Corning Inc., Cat. 354230), và hỗn dịch này được cấy dưới da vào nách của chuột cái NOD-scid 4 đến 5 tuần tuổi (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, được mua của CHARLES RIVER LABORATORIES Nhật bản, INC). Việc chia nhóm được thực hiện dựa trên thể tích khối u 5 đến 7 ngày sau khi cấy, và kháng thể của chuột nhắt (LN22R8) và ba loại kháng thể thể khảm của người (LN22R8chIgG1, LN22R8chIgG2, và LN22R8chIgG4P) của kháng thể kháng CD147 của người LN22R8 được sử dụng trong phúc mạc cho chuột bị ung thư ở liều 1 mg/kg, 3 mg/kg, hoặc 10 mg/kg (n = 5). Kháng thể của chuột (2P10F2) và hai loại kháng thể thể khảm của người (2P10F2chIgG2 và 2P10F2chIgG4P) của kháng thể kháng CD147 của người 2P10F2 được sử dụng trong phúc mạc cho chuột bị ung thư ở liều 10 mg/kg (n = 5 đến 6). Trục lớn và trục nhỏ của khối u được cấy được đo hai lần một tuần bằng cách sử dụng thước cặp số điện tử (sản phẩm của MITUTOYO CORPORATION) để tính thể tích khối u bằng công thức sau đây.

Thể tích khối u ($mm^3$) = 1/2 × trục nhỏ (mm) × trục nhỏ (mm) × trục lớn (mm)

Fig.9-1(a) đến Fig.9-1 (d) và Fig.9-2(e) đến Fig.9-2 (g) thể hiện các kết quả. Các đồ thị này cũng thể hiện giá trị trung bình và sai số chuẩn của sự thay đổi thể tích khối u.

Trong cả kháng thể của chuột nhắt và ba loại kháng thể thể khảm của người, LN22R8 có hiệu quả kháng u phụ thuộc liều. Trong nhóm sử dụng 10 mg/kg kháng thể thể khảm của người LN22R8chIgG4P, sự thoái triển khối u hoàn toàn được quan sát 18 ngày sau khi cấy ở 5 trong số 5 con chuột, và sự phát triển lại khối u không được phát hiện ngay cả ở 41 ngày sau khi cấy ở thời điểm kết thúc thử nghiệm. Trong các nhóm sử dụng kháng thể LN22R8 khác, sự phát triển lại khối u được quan sát trong một số hoặc tất cả các con chuột.

Trong kháng thể của chuột và hai loại kháng thể thể khảm của người, hiệu quả kháng u của 2P10F2 được quan sát. Trong nhóm sử dụng 10 mg/kg 2P10F2chIgG4P, sự thoái triển khối u hoàn toàn được quan sát 21 ngày sau khi ở 6 con chuột trong số 6 con chuột.

Đã gợi ý rằng hiệu quả kháng u được tạo ra bởi cơ chế tác dụng mới đối với CD147, độc lập với tính miễn dịch của chuột nhắt, do kháng thể của chuột nhắt LN22R8 và kháng thể của chuột 2P10F2 là các kháng thể kháng CD147 của người được thiết kế để nhận biết cùng một vị trí epitop duy trì hiệu quả kháng u bằng 90% hoặc cao hơn không chỉ trong kháng thể thể khảm của người chIgG1 có các chức năng của tế bào thực hiện phụ thuộc vào hệ thống miễn dịch của chuột nhắt, như hoạt tính ADCC, ADCP, và hoạt tính CDC, hoặc kháng thể thể khảm của người chIgG4P có hoạt tính ADCP mà còn trong kháng thể thể khảm của người chIgG2 mà hầu như không thể hiện các chức năng bất kỳ của tế bào thực hiện.

1)-19 Hiệu quả kháng u của kháng thể thể khảm của người CD147 ở chuột nhắt NOG

Chuột nhắt NOG (NOD/Shi-scid, IL-2Rγnull) thu được bằng cách lai chéo chuột được bất hoạt gen chuỗi γ của thụ thể IL-2, đây là vùng thụ thể xytokin bình thường, với chuột nhắt NOD-scid không có các tế bào T của chuột nhắt và các tế bào B không có hoạt tính của tế bào NK và bổ thể ngoài tế bào T và B của chuột nhắt và giảm các chức năng của các đại thực bào và các tế bào đuôi gai, do đó ở tình trạng suy giảm miễn dịch đặc biệt nặng (Ito, Blood, 3175-3182, 2002). Việc hiệu quả kháng u của kháng thể CD147 có bị ảnh hưởng bởi tình trạng suy giảm nặng của hệ thống miễn dịch của chuột nhắt không được kiểm tra bằng cách sử dụng mô hình cấy MIA PaCa-2 dưới da.

$5 \times 10^6$ tế bào dòng tụy của người MIA PaCa-2 được tạo hỗn dịch trong PBS chứa 50% GFR-Matrigel (Corning Inc., Cat. 354230), và hỗn dịch này được cấy dưới da vào nách của chuột cái NOG 7 tuần tuổi (NOD/Shi-scid, IL-2RγKO Jic, được mua của In-Vivo Science Inc.). Việc chia nhóm được thực hiện dựa trên thể tích khối u 6 ngày sau khi cấy, và kháng thể thể khảm của người kháng CD147 (LN22R8chIgG4P) được sử dụng trong phúc mạc cho chuột bị ung thư ở liều 10 mg/kg (n = 5). Trục lớn và trục nhỏ của khối u được cấy được đo hai lần một tuần bằng cách sử dụng thước cặp số điện tử (sản phẩm của MITUTOYO CORPORATION) để tính thể tích khối u bằng công thức sau đây.

Thể tích khối u ($mm^3$) = 1/2 × trục nhỏ (mm) × trục nhỏ (mm) × trục lớn (mm)

Fig.10 thể hiện các kết quả này. Các đồ thị này cũng thể hiện giá trị trung bình và sai số chuẩn của sự thay đổi thể tích khối u.

Theo các kết quả này của kháng thể thể khảm của người LN22R8chIgG4P thể hiện trên Fig.10, tỷ lệ ức chế sự phát triển của khối u 17 ngày sau khi cấy là 99% trong nhóm sử dụng 10 mg/kg, và sự thoái triển khối u hoàn toàn được quan sát trong 3 con chuột trong số 5 con chuột.

Khả năng có hiệu quả kháng u không phụ thuộc vào các tế bào miễn dịch của chuột nhắt được gợi ý, do kháng thể thể khảm của người kháng CD147 (LN22R8chIgG4P) cũng có hiệu quả kháng u mạnh đối với các khối u ung thư tụy được tạo ra ở chuột nhắt NOG, mà không có hoạt tính của tế bào NK và bổ thể ngoài tế bào T và B của chuột nhắt.

Ví dụ 2. Tạo ra kháng thể chuột có khả năng phản ứng chéo với khỉ bằng cách gây miễn dịch bằng protein CD147

Các kháng thể kháng CD147 của người có hiệu quả kháng u mạnh thu được trong ví dụ 1 không có khả năng phản ứng chéo với CD147 của chuột nhắt, chuột, và khỉ cynomolguss. Nỗ lực để thu được kháng thể CD147 có khả năng phản ứng chéo với CD147 của khỉ cynomolgus được thực hiện bằng cách sử dụng mỗi kháng thể thu được trong ví dụ 1.

2)-1 Gây miễn dịch

Chuột cái WKY/Izm (Japan SLC, Inc.) được sử dụng để gây miễn dịch. Hỗn hợp của protein kháng nguyên BSG tái tổ hợp của người, được gắn đuôi His (sản phẩm của Creative BioMart) và chất phụ trợ Freund đầy đủ (sản phẩm của Wako Pure Chemical

Industries, Ltd.) được sử dụng cho mặt dưới của đuôi chuột, và các hạch bạch huyết và lách của chuột được thu hồi và được sử dụng để tạo ra các tế bào lai.

2)-2 Tạo ra các tế bào lai

Các tế bào hạch bạch huyết hoặc các tế bào lách được dung hợp bằng điện với tế bào u tủy của chuột nhắt SP2/0-ag14 (ATCC, No. CRL-1581) bằng cách sử dụng thiết bị dung hợp tế bào LF301 (BEX CO., LTD.), và các tế bào dung hợp được pha loãng bằng môi trường chọn lọc ClonaCell-HY D (StemCell Technologies Inc.) và được nuôi cấy. Các cụm tế bào lai xuất hiện được thu hồi, bằng cách đó tạo ra các tế bào lai đơn dòng. Mỗi cụm tế bào lai thu được được nuôi cấy, và các tế bào lai tạo ra kháng thể kháng CD147 được sàng lọc bằng cách sử dụng dịch nổi bề mặt nuôi cấy tế bào lai thu được.

2)-3 Sàng lọc kháng thể bằng phương pháp đếm tế bào theo dòng

Để chọn các tế bào lai tạo ra kháng thể được thiết kế để liên kết với các tế bào ung thư của người và có hoạt tính liên kết với CD147 của người và CD147 của khỉ cynomolgus, việc sàng lọc hoạt tính liên kết của kháng thể được thực hiện bằng cách sử dụng máy đếm tế bào theo dòng. Dòng tế bào tụy của người dương tính với CD147 MIA PaCa-2 được sử dụng làm các tế bào ung thư của người. Các tế bào CHO-K1 (CHO-K1-hCD147v2 và CHO-K1-cynoCD147) biểu hiện CD147 của người hoặc khỉ cynomolgus được sử dụng theo cách giống như trong ví dụ 1)-8 để khẳng định hoạt tính liên kết với CD147 của người hoặc khỉ cynomolgus. Lượng bằng nhau của dịch nổi bề mặt nuôi cấy tế bào lai được bổ sung vào hỗn dịch của MIA PaCa-2, CHO-K1-hCD147v2, hoặc CHO-K1-cynoCD147, sau đó phản ứng ở 4°C trong một giờ hoặc lâu hơn. Sau đó, các tế bào này được rửa bằng PBS chứa 5% FBS để cho phép phát hiện huỳnh quang sự liên kết của mỗi kháng thể với các tế bào này bằng cách sử dụng IgG-PE kháng chuột (BD Biosciences, Cat,550767). Tín hiệu huỳnh quang của các tế bào được xác định bằng cách sử dụng máy đếm tế bào theo dòng (CantoII, BD Biosciences), và tỷ lệ của tín hiệu huỳnh quang với tín hiệu trong mẫu đối chứng âm (các tế bào không bổ sung dung dịch nuôi cấy tế bào lai) được tính. Bảng 4 nêu tóm tắt một phần của các kết quả này.

Bằng cách sử dụng kit xác định isotyp kháng thể của chuột có bán trên thị trường (Bio-Rad Laboratories, RMT1), isotyp của kháng thể chứa trong dịch nổi bề mặt nuôi cấy được xác định. Bảng 4 thể hiện các kết quả này.

2P10F2 thu được trong ví dụ 1 có hoạt tính liên kết với MIA PaCa-2 và CHO-K1-hCD147v2, và không có hoạt tính liên kết với CHO-K1-cynoCD147. CD147_#84 của chuột (có thể được gọi là r#84 trong bản mô tả này), CD147_#131 của chuột (có thể được gọi là r#131 trong bản mô tả này), CD147_#110 của chuột (có thể được gọi là r#110 trong bản mô tả này), và CD147_#101 của chuột (có thể được gọi là r#101 trong bản mô tả này) có hoạt tính liên kết với MIA PaCa-2, CHO-K1-hCD147v2, và CHO-K1-cynoCD147. Do đó, các kháng thể của chuột kháng CD147 của người có khả năng phản ứng chéo với CD147 của khỉ cynomolgus đã thu được.

Bảng 4

| ID của dòng | Isotyp | MIA PaCa-2 | CHO-K1-hCD147 v2 | CHO-K1-cyno CD147 |
|---|---|---|---|---|
| 2P10F2 | IgG2b/κ của chuột | 17,3 | 33,0 | 0,0 |
| r#84 | IgG2b/κ của chuột | 9,1 | 9,9 | 19,0 |
| r#131 | IgG1/κ của chuột | 4,3 | 7,8 | 7,3 |
| r#110 | IgG1/κ của chuột | 2,7 | 4,9 | 4,6 |
| r#101 | IgG2a/κ của chuột | 10,2 | 23,1 | 8,8 |

2)-4 Điều chế kháng thể đơn dòng của chuột bằng cách sử dụng huyết thanh có IgG thấp

Các kháng thể đơn dòng kháng CD147 của người có khả năng phản ứng chéo với CD147 của khỉ cynomolgus được tinh chế từ dịch nổi bề mặt nuôi cấy tế bào lai. Trước hết, các tế bào lai tạo ra kháng thể CD147_#131 của chuột được phát triển tới lượng đủ bằng môi trường chọn lọc ClonaCell-HY E, và sau đó môi trường này được thay bằng SFM tế bào lai (Life Technologies) mà FBS có IgG cực thấp (Life Technologies) được bổ sung vào ở nồng độ 20%, sau đó nuôi cấy trong 7 ngày. Dịch nổi bề mặt nuôi cấy này được thu hồi và cho đi qua bộ lọc 0,45 μm để tiệt trùng.

2)-5 Điều chế kháng thể đơn dòng của chuột bằng cách nuôi cấy mật độ cao

Các tế bào lai của CD147_#84 của chuột, CD147_#101 của chuột, hoặc CD147_#110 của chuột được nuôi cấy bằng cách sử dụng bình CL-1000 (Becton,

Dickinson and Company) để điều chế dịch nổi bề mặt nuôi cấy tế bào lai chứa từng kháng thể đơn dòng.

2)-6 Tinh chế kháng thể đơn dòng

Theo cách giống như trong ví dụ 1)-6, kháng thể được tinh chế từ dịch nổi bề mặt nuôi cấy được tạo ra trong ví dụ 2)-4 và ví dụ 2)-5.

2)-7 Sàng lọc kháng thể bằng cách xác định hiệu quả kháng u in-vivo

$5 \times 10^6$ tế bào dòng tụy của người MIA PaCa-2 được tạo hỗn dịch trong PBS chứa 50% GFR-Matrigel (Corning Inc., Cat. 354230), và hỗn dịch này được cấy dưới da vào nách của chuột cái NOD-scid 5 tuần tuổi (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, được mua của CHARLES RIVER LABORATORIES Nhật bản, INC.). Việc chia nhóm được thực hiện dựa trên thể tích khối u 6 đến 8 ngày sau khi cấy, và kháng thể của chuột kháng CD147 có khả năng phản ứng chéo với khỉ cynomolgus #84, #101, hoặc #110 được sử dụng trong phúc mạc cho chuột bị ung thư ở liều 10 mg/kg 8 ngày và 15 ngày sau khi cấy (n = 5). Theo cách giống như vậy, PBS được sử dụng trong phúc mạc cho chuột của nhóm đối chứng. Kháng thể của chuột kháng CD147 có khả năng phản ứng chéo với khỉ cynomolgus #131 được sử dụng trong phúc mạc cho chuột bị ung thư ở liều 10 mg/kg 6 ngày sau khi cấy (n = 5). Trục lớn và trục nhỏ của khối u được cấy được đo hai lần một tuần bằng cách sử dụng thước cặp số điện tử (sản phẩm của MITUTOYO CORPORATION) để tính thể tích khối u bằng công thức sau đây.

Thể tích khối u ($mm^3$) = 1/2 × trục nhỏ (mm) × trục nhỏ (mm) × trục lớn (mm)

Fig.11(a) đến Fig.11(d) thể hiện các kết quả. Các đồ thị này cũng thể hiện giá trị trung bình và sai số chuẩn của sự thay đổi thể tích khối u. Tỷ lệ ức chế sự phát triển của khối u 28 ngày sau khi cấy của r#84 là 95% trong nhóm sử dụng 10 mg/kg (Fig.11(a)). Tỷ lệ ức chế sự phát triển của khối u 15 ngày sau khi cấy của r#101 là 37% trong nhóm sử dụng 10 mg/kg, nhưng sự tái phát triển khối u được quan sát 28 ngày sau khi cấy (Fig.11(b)). Tỷ lệ ức chế sự phát triển của khối u 15 ngày sau khi cấy của r#110 là 51% trong nhóm sử dụng 10 mg/kg, nhưng sự tái phát triển khối u được quan sát 28 ngày sau khi cấy (Fig.11(c)). Tỷ lệ ức chế sự phát triển của khối u 16 ngày sau khi cấy của r#131 là 50% trong nhóm sử dụng 10 mg/kg (Fig.11(d)). Do đó, kháng thể của chuột r#84 ức chế mạnh sự phát triển của

khối u trong MIA PaCa-2 và các kháng thể của chuột r#101, r#110, và r#131 ức chế một phần sự phát triển của khối u này đã thu được.

2)-8 Phân tích epitop: 2P10F2chIgG4P-ELISA cạnh tranh

Nhằm mục đích phân tích epitop của các kháng thể CD147 của chuột có khả năng phản ứng chéo với khỉ, việc mỗi kháng thể có ức chế hoạt tính liên kết với protein CD147 tái tổ hợp 2P10F2chIgG4P không được nghiên cứu bằng ELISA cạnh tranh. Protein dung hợp CD147-Fc của người (Sino Biological Inc., 10186-H02H) được hòa tan trong PBS đến 2μg/ml, và 50μl dung dịch này được bổ sung vào đĩa có 96 lỗ (Thermo Fisher SCIENTIFIC K.K., Cat.43454), sau đó bảo quản ở 4°C. Sau khi dung dịch protein được loại bỏ, 300μl PBS chứa 1% BSA được bổ sung vào đó, sau đó gia nhiệt ở nhiệt độ trong phòng trong một giờ. 25μl các kháng thể của chuột CD147 r#84, r#101, r#110, r#131, hoặc 2P10F2 được pha loãng bằng PBS chứa 1% BSA ở nồng độ 20 hoặc 60 μg/ml, hoặc PBS chứa 1% BSA được bổ sung để làm các kháng thể cạnh tranh vào đĩa có 96 lỗ, sau đó gia nhiệt ở nhiệt độ trong phòng trong hai giờ. 25μl 2P10F2chIgG4P được pha loãng bằng PBS chứa 1% BSA ở nồng độ 20 ng/ml được bổ sung vào đĩa có 96 lỗ, sau đó gia nhiệt ở nhiệt độ trong phòng trong hai giờ. Đĩa có 96 lỗ này được rửa bằng PBS chứa 0,05% Tween 20 (BIO RAD, Cat. 170-6531) hai lần. 50μl HP6025 đơn dòng của chuột nhắt kháng IgG4 Fc của người (HRP) (Abcam plc., Cat.ab99823) được pha loãng 2000 lần bằng PBS chứa 1% BSA được bổ sung vào đĩa có 96 lỗ, sau đó gia nhiệt ở nhiệt độ trong phòng trong một giờ. Đĩa có 96 lỗ này được rửa bằng PBS chứa 0,05% Tween 20 (BIO RAD, Cat. 170-6531) ba lần. 50μl cơ chất ELISA Super AquaBlue (eBioscience, Thermo Fisher SCIENTIFIC K.K., 00-4203-58) được bổ sung vào đĩa có 96 lỗ, sau đó gia nhiệt ở nhiệt độ trong phòng trong 20 phút. Năng suất hấp thụ ở 405nm của đĩa có 96 lỗ được xác định bằng cách sử dụng máy đọc EnVision 2104 Multilabel (PerkinElmer Co., Ltd). Giá trị xác định được của lỗ không chứa các kháng thể cạnh tranh được sử dụng làm đối chứng, và năng suất hấp thụ giảm đi do mỗi kháng thể cạnh tranh được tính theo %. Fig.12 thể hiện các kết quả này. Việc xác định được thực hiện đối với ba lỗ, và giá trị trung bình được thể hiện.

Tương tự với kháng thể 2P10F2 của chuột, r#84, r#101, và r#131 ức chế hoạt tính liên kết của 2P10F2chIgG4P bằng 90% hoặc cao hơn, và do đó đã gợi ý rằng các vị trí nhận biết kháng thể của chúng là gần với các vị trí của 2P10F2chIgG4P. Trong khi đó,

r#110 không ức chế sự liên kết của kháng thể 2P10F2chIgG4P. Cần hiểu rằng sự liên kết của kháng thể 2P10F2chIgG4P không thể bị ức chế do vị trí nhận biết kháng thể của nó ở xa vị trí này của r#110, hoặc hoạt tính liên kết của r#110 là yếu.

Ví dụ 3. Tạo dòng kháng thể của chuột có khả năng phản ứng chéo với khỉ và tạo ra kháng thể thể khảm của người

3)-1 Xác định trình tự nucleotit tạo dòng của cADN mã hóa vùng biến đổi của các kháng thể của chuột kháng CD147

3)-1-1 Xác định trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi của kháng thể CD147_#84 của chuột

Việc xác định được thực hiện theo cách giống như trong ví dụ 1)-11-2. SEQ ID NO: 48 thể hiện trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể CD147_#84 của chuột xác định được, và SEQ ID NO: 49 thể hiện trình tự axit amin của nó. SEQ ID NO: 50 thể hiện trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của nó, và SEQ ID NO: 51 thể hiện trình tự axit amin của nó. SEQ ID NO: 52, 53, và 54 tương ứng thể hiện CDRL1, CDRL2 và CDRL3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể CD147_#84 của chuột. SEQ ID NO: 55, 56, và 57 tương ứng thể hiện CDRH1, CDRH2, và CDRH3 của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể CD147_#84 của chuột.

3)-1-2 Xác định trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi của kháng thể CD147_#101 của chuột

Việc xác định được thực hiện theo cách giống như trong ví dụ 1)-11-2. SEQ ID NO: 58 thể hiện trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể CD147_#101 của chuột xác định được, và SEQ ID NO: 59 thể hiện trình tự axit amin của nó. SEQ ID NO: 60 thể hiện trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng, và SEQ ID NO: 61 thể hiện trình tự axit amin của nó. SEQ ID NO: 62, 63, và 64 tương ứng thể hiện CDRL1, CDRL2 và CDRL3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể CD147_#101 của chuột. SEQ ID NO: 65, 66, và 67 tương ứng thể hiện CDRH1, CDRH2, và CDRH3 của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể CD147_#101 của chuột.

3)-1-3 Xác định trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi của kháng thể CD147_#110 của chuột

Việc xác định được thực hiện theo cách giống như trong ví dụ 1)-11-2. SEQ ID NO: 68 thể hiện trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể CD147_#110 của chuột xác định được, và SEQ ID NO: 69 thể hiện trình tự axit amin của nó. SEQ ID NO: 70 thể hiện trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng, và SEQ ID NO: 71 thể hiện trình tự axit amin của nó. SEQ ID NO: 72, 73, và 74 tương ứng thể hiện CDRL1, CDRL2 và CDRL3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể CD147_#110 của chuột. SEQ ID NO: 75, 76, và 77 tương ứng thể hiện CDRH1, CDRH2, và CDRH3 của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể CD147_#110 của chuột.

3)-1-4 Xác định trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi của kháng thể CD147_#131 của chuột

Việc xác định được thực hiện theo cách giống như trong ví dụ 1)-11-2. SEQ ID NO: 78 thể hiện trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể CD147_#131 của chuột xác định được, và SEQ ID NO: 79 thể hiện trình tự axit amin của nó. SEQ ID NO: 80 thể hiện trình tự nucleotit của cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng, và SEQ ID NO: 81 thể hiện trình tự axit amin của nó. SEQ ID NO: 82, 83, và 84 tương ứng thể hiện CDRL1, CDRL2 và CDRL3 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể CD147_#131 của chuột. SEQ ID NO: 85, 86, và 87 tương ứng thể hiện CDRH1, CDRH2, và CDRH3 của vùng biến đổi chuỗi nặng của kháng thể CD147_#131 của chuột.

3)-2 Tạo ra các vectơ biểu hiện kháng thể thể khảm của người

3)-2-1 Tạo ra vectơ biểu hiện kháng thể thể khảm của người của CD147_#84 của chuột

3)-2-1-1 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4PFALA nhân hóa và thể khảm của người pCMA-G4PFALA

Bằng cách sử dụng trình tự tín hiệu chuỗi nặng của người được thể hiện bằng SEQ ID NO: 88 và đoạn ADN chứa trình tự ADN mã hóa các axit amin trong vùng hằng định IgG4PFALA của người, pCMA-G4PFALA được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-12-2.

3)-2-1-2 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột thu được trong ví dụ 3)-1-1 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-12-4. SEQ

ID NO: 89 và SEQ ID NO: 90 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ này.

3)-2-1-3 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG1 của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#84 của chuột thu được trong ví dụ 3)-1-1 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG1 của CD147_#84 của chuột thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-12-5. SEQ ID NO: 91 và SEQ ID NO: 92 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG1 của CD147_#84 của chuột thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

3)-2-1-4 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#84 của chuột thu được trong ví dụ 3)-1-1 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#84 của chuột thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-12-6. SEQ ID NO: 93 và SEQ ID NO: 94 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#84 của chuột thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

3)-2-1-5 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#84 của chuột thu được trong ví dụ 3)-1-1 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#84 của chuột thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-13-6. SEQ ID NO: 95 và SEQ ID NO: 96 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#84 của chuột thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

3)-2-1-6 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG1LALA của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#84 của chuột thu được trong ví dụ 3)-1-1 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại

IgG1LALA của CD147_#84 của chuột thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-13-4. SEQ ID NO: 97 và SEQ ID NO: 98 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG1LALA của CD147_#84 của chuột thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

3)-2-1-7 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4PFALA của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#84 của chuột thu được trong ví dụ 3)-1-1 để làm khuôn, PCR được thực hiện bằng cách sử dụng đoạn mồi được thiết kế để tạo dòng In-fusion, bằng cách đó khuếch đại đoạn ADN chứa cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng. Bằng cách sử dụng kit tạo dòng In-Fusion HD PCR (Clontech Laboratories, Inc.), đoạn ADN được khuếch đại này được chèn vào vị trí mà ở đó pCMA-G4PFALA được cắt bằng enzym giới hạn BlpI, bằng cách đó tạo ra vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4PFALA của CD147_#84 của chuột thể khảm của người. SEQ ID NO: 99 và SEQ ID NO: 100 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG4PFALA của CD147_#84 của chuột thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

3)-2-2 Tạo ra vectơ biểu hiện kháng thể thể khảm của người của CD147_#101 của chuột

3)-2-2-1 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột thu được trong ví dụ 3)-1-2 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-12-4. SEQ ID NO: 101 và SEQ ID NO: 102 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ này.

3)-2-2-2 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#101 của chuột thu được trong ví dụ 3)-1-2 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#101 của chuột thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ

1)-12-6. SEQ ID NO: 103 và SEQ ID NO: 104 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#101 của chuột thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

3)-2-2-3 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#101 của chuột thu được trong ví dụ 3)-1-2 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#101 của chuột thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-13-6. SEQ ID NO: 105 và SEQ ID NO: 106 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#101 của chuột thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

3)-2-2-4 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4PFALA của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#101 của chuột thu được trong ví dụ 3)-1-2 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4PFALA của CD147_#101 của chuột thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 3)-2-1-7. SEQ ID NO: 107 và SEQ ID NO: 108 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG4PFALA của CD147_#101 của chuột thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

3)-2-3 Tạo ra vectơ biểu hiện kháng thể thể khảm của người của CD147_#110 của chuột

3)-2-3-1 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột thu được trong ví dụ 3)-1-3 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-12-4. SEQ ID NO: 109 và SEQ ID NO: 110 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ này.

3)-2-3-2 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#110 của chuột thu được trong ví dụ 3)-1-3 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#110 của chuột thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-12-6. SEQ ID NO: 111 và SEQ ID NO: 112 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#110 của chuột thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

3)-2-3-3 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#110 của chuột thu được trong ví dụ 3)-1-3 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#110 của chuột thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-13-6. SEQ ID NO: 113 và SEQ ID NO: 114 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#110 của chuột thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

3)-2-3-4 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4PFALA của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#110 của chuột thu được trong ví dụ 3)-1-3 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4PFALA của CD147_#110 của chuột thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 3)-2-1-7. SEQ ID NO: 115 và SEQ ID NO: 116 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG4PFALA của CD147_#110 của chuột thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

3)-2-4 Tạo ra vectơ biểu hiện kháng thể thể khảm của người của CD147_#131 của chuột

3)-2-4-1 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột thu được trong ví dụ 3)-1-4 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-12-4. SEQ ID NO: 117 và SEQ ID NO: 118 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của

chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ này.

3)-2-4-2 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#131 của chuột thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#131 của chuột thu được trong ví dụ 3)-1-4 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#131 của chuột thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-12-6. SEQ ID NO: 119 và SEQ ID NO: 120 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#131 của chuột thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

3)-2-4-3 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#131 của chuột thể khảm của người

Bằng cách sử dụng cADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#131 của chuột thu được trong ví dụ 3)-1-4 để làm khuôn, vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#131 của chuột thể khảm của người được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 1)-13-6. SEQ ID NO: 121 và SEQ ID NO: 122 tương ứng thể hiện trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#131 của chuột thể khảm của người và trình tự axit amin của chuỗi nặng này.

3)-3 Điều chế kháng thể thể khảm của người

3)-3-1 Tạo ra kháng thể thể khảm của người từ kháng thể của chuột có khả năng phản ứng chéo với khỉ

Kháng thể được tạo ra theo cách giống như trong ví dụ 1)-14-1.

Kháng thể thể khảm của người của CD147_#84 của chuột thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG1 của CD147_#84 của chuột thể khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#84 thể khảm của người của chuột có tên là "#84chIgG1". Kháng thể thể khảm của người của CD147_#84 của chuột thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#84 của chuột thể khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột thể khảm của người có tên là "#84chIgG2". Kháng thể thể khảm của người của CD147_#84 của chuột thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#84 của chuột thể

khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột thể khảm của người có tên là "#84chIgG4P". Kháng thể thể khảm của người của CD147_#84 của chuột thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG1LALA của CD147_#84 của chuột thể khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột thể khảm của người có tên là "#84chIgG1LALA". Kháng thể thể khảm của người của CD147_#84 của chuột thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4PFALA của CD147_#84 của chuột thể khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột thể khảm của người có tên là "#84chIgG4PFALA".

Kháng thể thể khảm của người của CD147_#101 của chuột thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#101 của chuột thể khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột thể khảm của người có tên là "#101chIgG2". Kháng thể thể khảm của người của CD147_#101 của chuột thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#101 của chuột thể khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột thể khảm của người có tên là "#101chIgG4P". Kháng thể thể khảm của người của CD147_#101 của chuột thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4PFALA của CD147_#101 của chuột thể khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột thể khảm của người có tên là "#101chIgG4PFALA".

Kháng thể thể khảm của người của CD147_#110 của chuột thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#110 của chuột thể khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột thể khảm của người có tên là "#101chIgG2". Kháng thể thể khảm của người của CD147_#110 của chuột thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#110 của chuột thể khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột thể khảm của người có tên là "#110chIgG4P". Kháng thể thể khảm của người của CD147_#110 của chuột thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4PFALA của CD147_#110 của chuột thể khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột thể khảm của người có tên là "#110chIgG4PFALA".

Kháng thể thể khảm của người của CD147_#131 của chuột thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#131 của chuột thể khảm của người

và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột thể khảm của người có tên là "#131chIgG2". Kháng thể thể khảm của người của CD147_#131 của chuột thu được bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#131 của chuột thể khảm của người và vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột thể khảm của người có tên là "#131chIgG4P".

3)-3-2 Tinh chế kháng thể thể khảm của người của các kháng thể của chuột có khả năng phản ứng chéo với khỉ

Các kháng thể được tinh chế từ dịch nổi bề mặt nuôi cấy thu được trong ví dụ 3)-3-1 theo cách giống như trong ví dụ 1)-14-2.

Ví dụ 4. Hiệu quả kháng u in-vivo của các kháng thể thể khảm của người

$5 \times 10^6$ tế bào dòng tụy của người MIA PaCa-2 được tạo hỗn dịch trong PBS chứa 50% GFR-Matrigel (Corning Inc., Cat. 354230), và hỗn dịch này được cấy dưới da vào nách của chuột cái NOD-scid 5 đến 6 tuần tuổi (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, được mua của CHARLES RIVER LABORATORIES Nhật bản, INC). Việc chia nhóm được thực hiện dựa trên thể tích khối u 5 đến 6 ngày sau khi cấy, và kháng thể thể khảm của người kháng CD147 có khả năng phản ứng chéo với khỉ cynomolgus (#84chIgG1, #84chIgG1LALA, #84chIgG2, #84chIgG4P, hoặc #84chIgG4PFALA) được sử dụng trong phúc mạc cho chuột bị ung thư ở liều 1, 3, hoặc 10 mg/kg vào ngày sau khi chia nhóm (n = 5). Kháng thể thể khảm của người kháng CD147 có khả năng phản ứng chéo với khỉ cynomolgus (#101chIgG2, #101chIgG4P, #101chIgG4PFALA, #110chIgG2, #110chIgG4P, #110chIgG4PFALA, #131chIgG2, hoặc #131chIgG4P) được sử dụng trong phúc mạc cho chuột bị ung thư ở liều 3 hoặc 10 mg/kg vào ngày sau khi chia nhóm (n = 5). Trục lớn và trục nhỏ của khối u được cấy được đo hai lần một tuần bằng cách sử dụng thước cặp số điện tử (sản phẩm của MITUTOYO CORPORATION) để tính thể tích khối u bằng công thức sau đây.

Thể tích khối u ($mm^3$) = 1/2 × trục nhỏ (mm) × trục nhỏ (mm) × trục lớn (mm)

Fig.13-1(a) đến Fig.13-1 (d), Fig.13-2(e) đến Fig.13-2 (h), Fig.13-3 (i) đến Fig.13-3 (l), và Fig.13-4 (m) và Fig.13-3 (n) thể hiện các kết quả. Các đồ thị này cũng thể hiện giá trị trung bình và sai số chuẩn của sự thay đổi thể tích khối u.

Kháng thể thể khảm của người #84 có hiệu quả kháng u phụ thuộc liều ở tất cả các phân typ IgG. Trong nhóm sử dụng #84chIgG4P ở liều 10 mg/kg trong đó hiệu quả kháng u mạnh nhất được quan sát, sự thoái triển khối u hoàn toàn được quan sát 20 ngày sau khi cấy ở 5 trong số 5 con chuột.

Kháng thể thể khảm của người #101 có hiệu quả kháng u phụ thuộc liều ở tất cả các phân typ IgG. Trong nhóm sử dụng 101chIgG4P ở liều 10 mg/kg trong đó hiệu quả kháng u mạnh nhất được quan sát, sự thoái triển khối u hoàn toàn được quan sát 20 ngày sau khi cấy ở 4 con chuột trong số 5 con chuột.

Kháng thể thể khảm của người #110 có hiệu quả kháng u phụ thuộc liều ở tất cả các phân typ IgG. Trong nhóm sử dụng 110chIgG4P ở liều 10 mg/kg trong đó hiệu quả kháng u mạnh nhất được quan sát, sự thoái triển khối u hoàn toàn được quan sát 22 ngày sau khi cấy ở 3 con chuột trong số 5 con chuột.

Kháng thể thể khảm của người #131 có hiệu quả kháng u phụ thuộc liều ở phân typ IgG4P. Không có sự khác nhau về hiệu quả kháng u được quan sát trong các nhóm sử dụng #131chIgG2 ở liều 3 mg/kg và 10 mg/kg.

Tất cả các kháng thể thể khảm của người có tác dụng ức chế sự phát triển của khối u bằng 68 đến 100% ở liều 10 mg/kg, bất kể phân typ IgG của người của mỗi kháng thể. Đã gợi ý rằng các kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người có khả năng phản ứng chéo với khỉ cynomolgus #084, #101, #110, và #131 cũng độc lập với hệ thống miễn dịch của chuột nhắt, tương tự với kháng thể kháng CD147 của người LN22R8 hoặc 2P10F2 thu được từ việc gây miễn dịch tế bào, và có hiệu quả kháng u bằng cơ chế tác dụng mới đối với CD147.

Ví dụ 5. Đánh giá hoạt tính liên kết của kháng thể thể khảm của người với CD147

Hằng số phân ly của sự liên kết của #84chIgG1, #84chIgG2, #84chIgG4P, #84chIgG1LALA, #84chIgG4PFALA, #101chIgG4P, hoặc #110chIgG4P được tạo ra trong ví dụ 3)-3-1 với CD147 của người được xác định bằng cách sử dụng Biacore T200 (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience). Kháng thể kháng IgG (Fc) của người được gây miễn dịch trên chip của bộ cảm biến bằng cách sử dụng kit bắt giữ kháng thể của người (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience) sau đó bắt giữ kháng thể thể khảm của người để làm phối tử và liên kết kháng nguyên dưới dạng chất phân tích. HBS-EP+ (sản phẩm của

GE Healthcare Bioscience) để làm dung dịch đệm chạy mẫu và CM5 (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience) để làm chip của bộ cảm biến được sử dụng. Sau khi 1 µg/ml hoặc 2 µg/ml của kháng thể thể khảm của người được bổ sung lên chip này ở tốc độ 10 µl/phút trong 60 giây, dịch pha loãng nhiều bậc của protein CD147 làm kháng nguyên (0,25 đến 4 µg/ml đối với #131chIgG4P hoặc 0,5 đến 8 µg/ml đối với #84chIgG1, #84chIgG2, #84chIgG4P, #84chIgG1LALA, #84chIgG4PFALA, #101chIgG4P, hoặc #110chIgG4P) được liên kết ở tốc độ dòng 30 µl/phút trong 120 giây, sau đó theo dõi tiếp đối với pha phân ly 120 giây, 300 giây, hoặc 600 giây. Ở đây, protein CD147 được sử dụng được biểu hiện trong *Escherichia coli*, tinh chế theo 2 bước là ái lực Ni và SEC, và sau đó đuôi được cắt. Magie clorua 3M (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience) được bổ sung ở tốc độ dòng 20 µl/phút trong 30 giây để làm dung dịch tái sinh. Bằng cách sử dụng mô hình liên kết 1:1, hằng số tốc độ liên kết ka, hằng số tốc độ phân ly kd, và hằng số phân ly (KD;KD = kd/ka) được tính. Bảng 5 thể hiện các kết quả này.

Bảng 5

Hằng số phân ly của sự liên kết của kháng thể thể khảm của người với CD147 của người

| | Tên | KD(nM) |
|---|---|---|
| 1 | #84chIgG1 | 393 |
| 2 | #84chIgG2 | 334 |
| 3 | #84chIgG4P | 381 |
| 4 | #84chIgG1LALA | 371 |
| 5 | #84chIgG4PFALA | 358 |
| 6 | #101chIgG4P | 10,5 |
| 7 | #110chIgG4P | 9,94 |
| 8 | #131chIgG4P | 3,45 |

Ví dụ 6. Tạo ra kháng thể nhân hóa

6)-1 Thiết kế kháng thể nhân hóa

6)-1-1 Lập mô hình phân tử của vùng biến đổi

Phương pháp được biết là lập mô hình độ tương đồng (Methods in Enzymology, 203, 121-153, (1991)) được sử dụng. Bằng cách sử dụng chương trình phân tích protein cấu trúc ba chiều có bán trên thị trường, Discovery Studio (sản phẩm của Dassault Systemes), các trình tự tương đồng của các vùng biến đổi được xác định từ các cấu trúc được đăng ký trong ngân hàng dữ liệu protein (Nuc. Acids Res. 35, D301-D303 (2007)). Các mô hình ba

chiều được tạo ra bằng cách sử dụng các chuỗi nặng xác định được, các chuỗi nhẹ, và các cấu trúc ở mặt phân cách chuỗi nặng và chuỗi nhẹ để làm khuôn.

6)-1-2 Phương pháp thiết kế kháng thể nhân hóa

Kháng thể được nhân hóa bằng cách ghép CDR (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 10029-10033 (1989)). Do có độ tương đồng cao, trình tự liên ứng của phân nhóm 1 của chuỗi kapa của người và trình tự liên ứng của phân nhóm 3 của chuỗi gama của người được xác định theo KABAT và các đồng tác giả (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed.Public Health Service, Panasonic Corporation Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)) được chọn làm các thể nhận của các vùng khung của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của CD147_#84 của chuột, tương ứng. Do có độ tương đồng cao, trình tự liên ứng của phân nhóm 1 của chuỗi kapa của người được xác định theo KABAT và các đồng tác giả, và IGHV3-30*05 và IGHJ3*01 của chuỗi gama của người được xác định theo IMGT (THE INTERNATIONAL IMMUNOGENETICS INFORMATION SYSTEM (R)) được chọn làm các thể nhận của các vùng khung của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của CD147_#101 của chuột, tương ứng. Do có độ tương đồng cao, IGKV1-39*01 và IGKJ4*01 của chuỗi kapa của người được xác định theo IMGT và IGHV1-2*02 và IGHJ6*01 của chuỗi gama của người được xác định theo IMGT được chọn làm các thể nhận của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của CD147_#110 của chuột, tương ứng. Do có độ tương đồng cao, IGKV1-39*01 và IGKJ2*01 của chuỗi kapa của người được xác định theo IMGT và IGHV3-30*05 và IGHJ6*01 của chuỗi gama của người được xác định theo IMGT được chọn làm các thể nhận của chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của CD147_#131 của chuột, tương ứng. Các gốc cho để được đưa vào các thể nhận này được chọn bằng cách phân tích các mô hình ba chiều trong khi tham khảo các tiêu chí được đưa ra bởi Queen và các đồng tác giả (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 10029-10033 (1989)) hoặc các tiêu chí khác.

6)-1-3 Nhân hóa chuỗi nặng của CD147_#84 của chuột

Các gốc axit amin của thể nhận thể hiện trên Fig.14(a) được đưa vào vùng biến đổi của chuỗi nặng của CD147_#84 của chuột, bằng cách đó thiết kế vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể nhân hóa #84H1h.

Các chuỗi nặng của kháng thể nhân hóa được thiết kế bằng cách nối vùng biến đổi được thiết kế ở trên với các vùng hằng định chuỗi gama của IgG2 và IgG4P của người, và

có tên là #84H1hIgG2 và #84H1hIgG4P, tương ứng. SEQ ID NO: 123 thể hiện trình tự axit amin có chiều dài đầy đủ của #84H1hIgG2. SEQ ID NO: 124 thể hiện trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 123. SEQ ID NO: 125 thể hiện trình tự axit amin có chiều dài đầy đủ của #84H1hIgG4P. SEQ ID NO: 126 thể hiện trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 125.

6)-1-4 Nhân hóa chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột

Các gốc axit amin của thể nhận thể hiện trên Fig.14(b) được đưa vào vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột, bằng cách đó thiết kế vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể nhân hóa #84L2h.

Chuỗi nhẹ của kháng thể nhân hóa được thiết kế bằng cách nối vùng biến đổi được thiết kế ở trên với vùng hằng định chuỗi κ của người, và có tên là #84L2h. SEQ ID NO: 127 thể hiện trình tự axit amin có chiều dài đầy đủ của chuỗi nhẹ #84L2h. SEQ ID NO: 128 thể hiện trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 127.

6)-1-5 Kháng thể nhân hóa #84

Kháng thể nhân hóa #84H1L2hIgG2 được thiết kế bằng cách kết hợp chuỗi nặng #84H1hIgG2 và chuỗi nhẹ #84L2h được thiết kế như trên. Hơn nữa, kháng thể nhân hóa #84H1L2hIgG4P được thiết kế bằng cách kết hợp chuỗi nặng #84H1hIgG4P và chuỗi nhẹ #84L2h.

6)-1-6 Nhân hóa chuỗi nặng của CD147_#101 của chuột

Các gốc axit amin của thể nhận thể hiện trên Fig.15(a) được đưa vào vùng biến đổi của chuỗi nặng của CD147_#101 của chuột, bằng cách đó thiết kế vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể nhân hóa #101H1h. Các chuỗi nặng của kháng thể nhân hóa được thiết kế bằng cách nối vùng biến đổi được thiết kế ở trên với các vùng hằng định chuỗi gama của IgG2 và IgG4P của người và có tên là #101H1hIgG2 và #101H1hIgG4P, tương ứng. SEQ ID NO: 129 thể hiện trình tự axit amin có chiều dài đầy đủ của #101H1hIgG2. SEQ ID NO: 130 thể hiện trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 129. SEQ ID NO: 131 thể hiện trình tự axit amin có chiều dài đầy đủ của #101H1hIgG4P. SEQ ID NO: 132 thể hiện trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 131.

6)-1-7 Nhân hóa chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột

Các gốc axit amin của thể nhận thể hiện trên Fig.15(b) được đưa vào vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột, bằng cách đó thiết kế vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể nhân hóa #101L2h. Trong vùng biến đổi được thiết kế ở trên, chuỗi nhẹ của kháng thể nhân hóa được nối với vùng hằng định chuỗi κ của người được thiết kế và có tên là #101L2h. SEQ ID NO: 133 thể hiện trình tự axit amin có chiều dài đầy đủ của chuỗi nhẹ #101L2h. SEQ ID NO: 134 thể hiện trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 133.

6)-1-8 Kháng thể nhân hóa #101

Kháng thể nhân hóa #101H1L2hIgG2 được thiết kế bằng cách kết hợp chuỗi nặng #101H1hIgG2 và chuỗi nhẹ #101L2h được thiết kế như trên. Hơn nữa, kháng thể nhân hóa #101H1L2hIgG4P được thiết kế bằng cách kết hợp chuỗi nặng #101H1hIgG4P và chuỗi nhẹ #101L2h.

6)-1-9 Nhân hóa chuỗi nặng của CD147_#110 của chuột

Các gốc axit amin của các thể nhận thể hiện trên mỗi Fig.16(a) và Fig.16 (b) được đưa vào vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#110 của chuột, bằng cách đó thiết kế các vùng biến đổi của các chuỗi nặng của kháng thể nhân hóa #110H1h và #110H13h.

Các chuỗi nặng của kháng thể nhân hóa được thiết kế bằng cách nối vùng biến đổi được thiết kế ở trên với vùng hằng định chuỗi gama của người của IgG4P và có tên là #110H1hIgG4P và #110H13hIgG4P, tương ứng. SEQ ID NO: 135 thể hiện trình tự axit amin có chiều dài đầy đủ của #110H1hIgG4P, và SEQ ID NO: 147 thể hiện trình tự axit amin có chiều dài đầy đủ của #110H13hIgG4P. SEQ ID NO: 136 thể hiện trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 135, và SEQ ID NO: 148 thể hiện trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 147.

6)-1-10 Nhân hóa chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột

Các gốc axit amin của các thể nhận thể hiện trên mỗi Fig.16(c), Fig.16(d), và Fig.16(e) được đưa vào vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột, bằng cách đó thiết kế các vùng biến đổi của các chuỗi nhẹ của kháng thể nhân hóa #110L4h, #110L2h, và #110L12h.

Các chuỗi nhẹ của các kháng thể nhân hóa được thiết kế bằng cách nối vùng biến đổi được thiết kế ở trên vùng hằng định chuỗi κ của người và có tên là #110L4h, #110L2h,

và #110L12h, tương ứng. SEQ ID NO: 137 thể hiện trình tự axit amin có chiều dài đầy đủ của chuỗi nhẹ #110L4h, SEQ ID NO: 149 thể hiện trình tự axit amin có chiều dài đầy đủ của chuỗi nhẹ #110L2h, và SEQ ID NO: 151 thể hiện trình tự axit amin có chiều dài đầy đủ của chuỗi nhẹ #110L12h. SEQ ID NO: 138 thể hiện trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 150 thể hiện trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 149, và SEQ ID NO: 152 thể hiện trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 151.

6)-1-11 Kháng thể nhân hóa #110

Kháng thể nhân hóa #110H1L4hIgG4P được thiết kế bằng cách kết hợp chuỗi nặng #110H1hIgG4P và chuỗi nhẹ #110L4h được thiết kế như trên. Hơn nữa, kháng thể nhân hóa #110H13L2hIgG4P được thiết kế bằng cách kết hợp chuỗi nặng #110H13hIgG4P và chuỗi nhẹ #110L2h, và kháng thể nhân hóa #110H13L12hIgG4P được thiết kế bằng cách kết hợp chuỗi nặng #110H13hIgG4P và chuỗi nhẹ #110L12h.

6)-1-12 Nhân hóa chuỗi nặng của CD147_#131 của chuột

Các gốc axit amin của thể nhận thể hiện trên Fig.17(a) được đưa vào vùng biến đổi của chuỗi nặng của CD147_#131 của chuột, bằng cách đó thiết kế vùng biến đổi của chuỗi nặng của kháng thể nhân hóa #131H2h.

Chuỗi nặng của kháng thể nhân hóa được thiết kế bằng cách nối vùng biến đổi được thiết kế ở trên với vùng hằng định chuỗi gama của IgG2 của người và có tên là #131H2hIgG2. SEQ ID NO: 139 thể hiện trình tự axit amin có chiều dài đầy đủ của #131H2hIgG2. SEQ ID NO: 140 thể hiện trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 139.

6)-1-13 Nhân hóa chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột

Các gốc axit amin của thể nhận thể hiện trên Fig.17(b) được đưa vào vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột, bằng cách đó thiết kế vùng biến đổi của chuỗi nhẹ của kháng thể nhân hóa #131L2h.

Chuỗi nhẹ của kháng thể nhân hóa được thiết kế bằng cách nối vùng biến đổi được thiết kế ở trên với vùng hằng định chuỗi κ của người và có tên là #131L2h. SEQ ID NO: 141 thể hiện trình tự axit amin có chiều dài đầy đủ của chuỗi nhẹ #131L2h. SEQ ID NO: 142 thể hiện trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của SEQ ID NO: 141.

6)-1-14 Kháng thể nhân hóa #131

Kháng thể nhân hóa #131H2L2hIgG2 được thiết kế bằng cách kết hợp chuỗi nặng #131H2hIgG2 và chuỗi nhẹ #131L2h như được thiết kế ở trên.

6)-2 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nhẹ của kháng thể nhân hóa

6)-2-1 Thiết kế vectơ biểu hiện #84L2h

Đoạn ADN được thể hiện bằng các vị trí nucleotit 37 đến 402 của trình tự nucleotit của #84L2h được thể hiện bằng SEQ ID NO: 128 được tổng hợp (Geneart AG). Bằng cách sử dụng kit tạo dòng In-Fusion HD PCR (Clontech Laboratories, Inc.), đoạn ADN tổng hợp được được chèn vào vị trí mà ở đó pCMA-LK được cắt bằng enzym giới hạn BsiWI, bằng cách đó tạo ra vectơ biểu hiện #84L2h.

6)-2-2 Thiết kế vectơ biểu hiện #101L2h

Đoạn ADN được thể hiện bằng các vị trí nucleotit 37 đến 402 của trình tự nucleotit của #101L2h được thể hiện bằng SEQ ID NO: 134 được tổng hợp (Geneart AG). Vectơ biểu hiện #101L2h được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 6)-2-1.

6)-2-3 Thiết kế các vectơ biểu hiện #110L4h, #110L2h, và #110L12h

Các đoạn ADN được thể hiện bằng các vị trí nucleotit 37 đến 402 của các trình tự nucleotit #110L4h, #110L2h, và #110L12h được thể hiện bằng SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 150 và SEQ ID NO: 152 được tổng hợp (GeneArt AG). Các vectơ biểu hiện #110L4h, #110L2h, và #110L12h được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 6)-2-1.

6)-2-4 Thiết kế vectơ biểu hiện #131L2h

Đoạn ADN được thể hiện bằng các vị trí nucleotit 37 đến 402 của trình tự nucleotit của #131L2h được thể hiện bằng SEQ ID NO: 142 được tổng hợp (GeneArt AG). Vectơ biểu hiện #131L2h được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 6)-2-1.

6)-3 Thiết kế vectơ biểu hiện chuỗi nặng của kháng thể nhân hóa

6)-3-1 Thiết kế vectơ biểu hiện # 84H1hIgG2

Đoạn ADN được thể hiện bằng các vị trí nucleotit 36 đến 437 của trình tự nucleotit của #84H1hIgG2 được thể hiện bằng SEQ ID NO: 124 được tổng hợp (GeneArt AG). Bằng cách sử dụng kit tạo dòng In-Fusion HD PCR (Clontech Laboratories, Inc.), đoạn ADN tổng hợp được được chèn vào vị trí mà ở đó pCMA-G2 được cắt bằng enzym giới hạn BlpI, bằng cách đó tạo ra vectơ biểu hiện #84H1hIgG2.

6)-3-2 Thiết kế vectơ biểu hiện # 84H1hIgG4P

Đoạn ADN được thể hiện bằng các vị trí nucleotit 36 đến 437 của trình tự nucleotit của #84H1hIgG4P được thể hiện bằng SEQ ID NO: 126 được tổng hợp (GeneArt AG). Bằng cách sử dụng kit tạo dòng In-Fusion HD PCR (Clontech Laboratories, Inc.), đoạn ADN tổng hợp được được chèn vào vị trí mà ở đó pCMA-G4P được cắt bằng enzym giới hạn BlpI, bằng cách đó tạo ra vectơ biểu hiện #84H1hIgG4P.

6)-3-3 Thiết kế vectơ biểu hiện #101H1hIgG2

Đoạn ADN được thể hiện bằng các vị trí nucleotit 36 đến 428 của trình tự nucleotit của #101H1hIgG2 được thể hiện bằng SEQ ID NO: 130 được tổng hợp (GeneArt AG). Vectơ biểu hiện #101H1hIgG2 được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 6)-3-1.

6)-3-4 Thiết kế vectơ biểu hiện #101H1hIgG4P

Đoạn ADN được thể hiện bằng các vị trí nucleotit 36 đến 428 của trình tự nucleotit của #101H1hIgG4P được thể hiện bằng SEQ ID NO: 132 được tổng hợp (GeneArt AG). Vectơ biểu hiện #101H1hIgG4P được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 6)-3-2.

6)-3-5 Thiết kế các vectơ biểu hiện #110H1hIgG4P và #110H13hIgG4P

Các đoạn ADN được thể hiện bằng các vị trí nucleotit 36 đến 425 của các trình tự nucleotit của #110H1hIgG4P và #110H13hIgG4P được thể hiện bằng SEQ ID NO: 136 và SEQ ID NO: 148 được tổng hợp (GeneArt AG). Các vectơ biểu hiện #110H1hIgG4P và #110H13hIgG4P được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 6)-3-2.

6)-3-6 Thiết kế vectơ biểu hiện #131H2hIgG2

Đoạn ADN được thể hiện bằng các vị trí nucleotit 36 đến 431 của trình tự nucleotit của #131H2hIgG2 được thể hiện bằng SEQ ID NO: 140 được tổng hợp (GeneArt AG). Vectơ biểu hiện #131H2hIgG2 được thiết kế theo cách giống như trong ví dụ 6)-3-1.

6)-4 Điều chế kháng thể nhân hóa

6)-4-1 Tạo ra kháng thể nhân hóa

Kháng thể được tạo ra theo cách giống như trong ví dụ 1)-14-1. Dãy các kháng thể nhân hóa được điều chế bằng cách kết hợp vectơ biểu hiện chuỗi H và vectơ biểu hiện chuỗi L tương ứng với các tổ hợp của chuỗi H và chuỗi L thể hiện trong ví dụ 6)-1-5, ví dụ 6)-1-8, ví dụ 6)-1-11, và ví dụ 6)-1-14,

6)-4-2 Tinh chế kháng thể nhân hóa theo một bước

Kháng thể được tinh chế từ dịch nổi bề mặt nuôi cấy thu được trong ví dụ 6)-4-1 bằng quy trình một bước sắc ký ái lực rProtein A. Sau khi dịch nổi bề mặt nuôi cấy được đưa vào cột được làm cân bằng bằng PBS và được nạp MabSelectSuRe (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience), cột này được rửa bằng PBS với lượng bằng hai lần thể tích cột này hoặc nhiều hơn. Tiếp theo, việc rửa giải bằng dung dịch arginin hydroclorua 2M (pH 4,0) được thực hiện để thu hồi phân đoạn chứa kháng thể. Phân đoạn này được thay thế chất đệm bằng PBS bằng cách thẩm tách (Thermo Scientific, băng thẩm tách Slide-A-Lyzer). Kháng thể được cô bằng cách sử dụng thiết bị lọc ly tâm UF VIVASPIN20 (trọng lượng phân tử phân đoạn UF10K, Sartorius AG) để điều chỉnh nồng độ IgG đến 1 mg/ml hoặc cao hơn. Cuối cùng, việc lọc được thực hiện bằng cách sử dụng bộ lọc Minisart-Plus (Sartorius AG) để thu được mẫu tinh chế.

6)-4-3 Tinh chế kháng thể nhân hóa theo hai bước

Dịch nổi bề mặt nuôi cấy thu được trong ví dụ 6)-4-1 được tinh chế bằng quy trình hai bước gồm sắc ký ái lực rProtein A và gốm hydroxyapatit. Sau khi dịch nổi bề mặt nuôi cấy được đưa vào cột được làm cân bằng bằng PBS và được nạp MabSelectSuRe (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience), cột này được rửa bằng PBS với lượng bằng hai lần thể tích cột này hoặc nhiều hơn. Tiếp theo, kháng thể được rửa giải bằng dung dịch arginin hydroclorua 2M (pH 4,0). Phân đoạn chứa kháng thể được thay thế chất đệm bằng PBS bằng cách thẩm tách (Thermo Scientific, băng thẩm tách Slide-A-Lyzer), sau đó pha loãng 5 lần bằng dung dịch đệm 5mM natri phosphat/50mM MES/pH 7,0, và được đưa vào cột gốm hydroxyapatit (Japan Bio-Rad Laboratories, Inc., cột hydroxyapatit Bio-Scale CHT Type-1) được làm cân bằng bằng dung dịch đệm 5 mM NaPi/50 mM MES/30 mM NaCl/pH 7,0. Quá trình rửa giải gradien tuyến tính bằng natri clorua được thực hiện để thu hồi phân đoạn chứa kháng thể. Phân đoạn này được thay thế chất đệm bằng HBS hoặc chất đệm (25mM Histidin/5% Sorbitol/pH 6,0) bằng cách thẩm tách (Thermo Scientific, băng thẩm tách Slide-A-Lyzer). Kháng thể được cô bằng cách sử dụng thiết bị lọc ly tâm UF VIVASPIN20 (phân đoạn trọng lượng phân tử UF10K, Sartorius AG) để điều chỉnh nồng độ IgG đến 25 mg/ml. Cuối cùng, việc lọc được thực hiện bằng cách sử dụng bộ lọc Minisart-Plus (Sartorius AG) để thu được mẫu tinh chế.

Ví dụ 7. Xác định hoạt tính của kháng thể nhân hóa

7)-1 Đánh giá hoạt tính liên kết của kháng thể nhân hóa với CD147

Hằng số phân ly của sự liên kết của kháng thể nhân hóa kháng CD147 của người #84H1L2hIgG2, #84H1L2hIgG4P, #101H1L2hIgG2, #101H1L2hIgG4P, #110H1L4hIgG4P, hoặc #131H2L2hIgG2 được tạo ra trong ví dụ 6)-4-3 với CD147 của người được xác định bằng cách sử dụng Biacore T200 (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience). Kháng thể kháng IgG (Fc) của người được gây miễn dịch trên chip của bộ cảm biến bằng cách sử dụng kit bắt giữ kháng thể của người (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience) sau đó bắt giữ kháng thể nhân hóa để làm phối tử và liên kết kháng nguyên để làm chất phân tích. HBS-EP+ (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience) để làm dung dịch đệm chạy mẫu và CM5 (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience) để làm chip của bộ cảm biến được sử dụng. Sau khi 1 μg/ml kháng thể nhân hóa được bổ sung lên chip này ở tốc độ 10 μl/phút trong 60 giây, dịch pha loãng nhiều bậc của kháng nguyên được sử dụng trong ví dụ 5) được kết hợp ở tốc độ dòng 30 μl/phút trong 120 giây (0,0625 đến 1 μg/ml đối với #101H1L2hIgG2 và #101H1L2hIgG4P, và 0,25 đến 4 μg/ml đối với #84H1L2hIgG2, #84H1L2hIgG4P, #110H1L4hIgG4P, #110H13L2hIgG4P, #110H13L12hIgG4P, và #131H2L2hIgG2), sau đó theo dõi đối với pha phân ly 300 giây. Magie clorua 3M (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience) để làm dung dịch tái sinh được bổ sung vào đó ở tốc độ dòng 20 μl/phút trong 30 giây. Hằng số tốc độ liên kết ka, hằng số tốc độ phân ly kd, và hằng số phân ly (KD; KD = kd/ka) được tính toán bằng cách sử dụng mô hình liên kết 1:1.

Bảng 6 thể hiện các kết quả này.

Bảng 6

Hằng số phân ly của sự liên kết của kháng thể nhân hóa với CD147 của người

| Tên | KD(nM) |
|---|---|
| #84H1L2hIgG2 | 227 |
| #84H1L2hIgG4P | 242 |
| #101H1L2hIgG2 | 10,5 |
| #101H1L2hIgG4P | 10,5 |
| #110H1L4hIgG4P | 8,60 |
| #110H13L2hIgG4P | 58,9 |
| #110H13L12hIgG4P | 154 |
| #131H2L2hIgG2 | 5,84 |

7)-2 Hiệu quả kháng u của các kháng thể CD147 nhân hóa trong mô hình ghép tụy khác loài

$5 \times 10^6$ tế bào dòng tụy của người MIA PaCa-2 được tạo hỗn dịch trong PBS chứa 50% GFR-Matrigel (Corning Inc., Cat. 354230), và hỗn dịch này được cấy dưới da vào nách của chuột cái NOD-scid 4 tuần tuổi (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, được mua của CHARLES RIVER LABORATORIES Nhật bản, INC). Việc chia nhóm được thực hiện dựa trên thể tích khối u, kháng thể CD147 nhân hóa (#84H1L2hIgG2, #84H1L2IgG4P, #101H1L2hIgG2, #101H1L2hIgG4P, #110H1L4hIgG4P, hoặc #131H2L2hIgG2) được tạo ra trong ví dụ 6)-4-2 được sử dụng trong phúc mạc cho chuột mang khối u ở liều 3 mg/kg hoặc 10 mg/kg 7 ngày sau khi cấy (n = 5). Để làm thuốc đối chứng, gemxitabin (được mua của Eli Lilly Nhật bản K.K.) đây là chất điều trị chuẩn cho bệnh ung thư tụy được sử dụng trong phúc mạc cho chuột bị ung thư ở liều 400 mg/kg 7 và 14 ngày sau khi cấy (n = 5). Trục lớn và trục nhỏ của khối u được cấy được đo hai lần một tuần bằng cách sử dụng thước cặp số điện tử (sản phẩm của MITUTOYO CORPORATION) để tính thể tích khối u bằng công thức sau đây.

Fig.18(a) đến Fig.18(d) thể hiện các kết quả. Các đồ thị này cũng thể hiện giá trị trung bình và sai số chuẩn của sự thay đổi thể tích khối u.

Trong khi tỷ lệ ức chế sự phát triển của khối u của thuốc đối chứng là 71%, và không nhận thấy sự biến mất nào của khối u, tất cả các kháng thể CD147 nhân hóa có hiệu quả kháng u mạnh hơn trong nhóm sử dụng liều 3 hoặc 10 mg/kg so với gemxitabin. Trong nhóm sử dụng 10 mg/kg #84H1L2hIgG4P, #101H1L2hIgG2, #101H1L2hIgG4P, hoặc #110H1L4hIgG4P, hiệu quả kháng u mạnh với sự biến mất của khối u được quan sát.

Ví dụ 8. Sự hoạt hóa tín hiệu p38MAPK in-vitro bởi kháng thể CD147

8)-1 Cảm ứng quá trình phosphoryl hóa p38MAPK bằng kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người trong các tế bào ung thư tụy PANC-1

Đã có thông báo rằng sự hoạt hóa CD147 làm thúc đẩy quá trình phosphoryl hóa p38MAPK (Lim et al., FEBS Letters, 88-92, 1998) (Li et., al. J. Hepatology, 1378-1389, 2015). Để nghiên cứu sự ảnh hưởng của kháng thể kháng CD147 có hiệu quả kháng u đến tín hiệu p38MAPK, sự phosphoryl hóa p38MAPK trong các tế bào PANC-1 được xử lý bằng kháng thể thể khảm của người kháng CD147 LN22R8chIgG4P ở liều 10 μg/ml trong

15 phút được đánh giá bằng cách sử dụng các thử nghiệm Western đơn giản (Protein Simple Nhật bản K.K., Wes). Để làm mẫu đối chứng, các tế bào PANC-1 được xử lý bằng IgG của người (Jackson ImmunoResearch Inc., Cat. 009-000-003) ở liều 10 μg/ml theo cách giống như vậy được phân tích. Để phát hiện p38MAPK, mAb của thỏ p38 MAPK (Cell Signaling Technology, Inc., Cat. #9212) được sử dụng. Để phát hiện p38MAPK được phosphoryl hóa, mAb của thỏ P-p38 MAPK (T180/Y182) (D3F9) XP (Cell Signaling Technology, Inc., Cat. #4511S) được sử dụng. Fig.19 thể hiện tỷ lệ của tín hiệu p38MAPK được phosphoryl hóa với tín hiệu p38MAPK được phát hiện. Các mẫu được xử lý bằng kháng thể được xác định hai lần, và đồ thị thể hiện các giá trị trung bình.

Trong nhóm được điều trị bằng kháng thể LN22R8chIgG4P, sự tăng mức tín hiệu MAPK phosphoryl hóa được quan sát.

8)-2 Sự phosphoryl hóa HSP27, đây là một phân tử xuôi dòng của tín hiệu p38, trung gian bởi kháng thể kháng CD147

Đã có thông báo rằng HSP27 được phosphoryl hóa bởi sự hoạt hóa p38MAPK (Landry et al., Biochem. Cell Biol., 703-707, 1995). Để nghiên cứu xem sự phosphoryl hóa p38 được cảm ứng bởi kháng thể thể khảm của người kháng CD147 LN22R8 thực tế có thúc đẩy sự hoạt hóa tín hiệu p38 không, sự phosphoryl hóa trong các mẫu được xử lý bằng kháng thể của 8)-1 được đánh giá bằng cách sử dụng các thử nghiệm Western đơn giản (Protein Simple Nhật bản K.K., Wes). Để phát hiện HSP27, kháng thể kháng HSP27 (R&D systems, Cat. AF15801) được sử dụng. Để phát hiện HSP27 được phosphoryl hóa, kháng thể phospho-HSP27 (Ser82) (Cell Signaling Technology, Inc., Cat. 2401S) hoặc kháng thể kháng HSP27 (phospho Ser15) (Abcam plc., Cat.ab76313) được sử dụng.

Fig.20(a) hoặc Fig.20(b) thể hiện tỷ lệ của tín hiệu HSP27 được phosphoryl hóa bởi Ser82 hoặc Ser15với tín hiệu HSP27 được phát hiện, tương ứng. Các mẫu được xử lý bằng kháng thể được đánh giá theo hai mẫu, và các đồ thị thể hiện giá trị trung bình.

Trong nhóm được điều trị bằng kháng thể LN22R8chIgG4P, sự tăng tín hiệu HSP27 được phosphoryl hóa được quan sát. Do sự phosphoryl hóa và sự hoạt hóa HSP27 là xuôi dòng và được cảm ứng bởi sự phosphoryl hóa p38, sự phosphoryl hóa này đến lượt mình được cảm ứng bởi kháng thể thể khảm của người kháng CD147, đã phát hiện được rằng kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người LN22R8IgG4P cảm ứng sự hoạt

hóa tín hiệu p38MAPK. Tương tự, sự hoạt hóa tín hiệu p38MAPK cũng được quan sát trong các tế bào ung thư tụy MIA PaCa-2.

Ví dụ 9. Hoạt hóa tín hiệu p38 bởi kháng thể CD147 trong mô khối u ghép khác loài

Việc liệu sự hoạt hóa tín hiệu p38MAPK bởi kháng thể CD147 được quan sát in vitro cũng xảy ra trong các khối u được tạo dưới da ở chuột hay không được nghiên cứu trong các khối u dưới da của chuột MIA PaCa-2. $5 \times 10^6$ tế bào của dòng tụy của người MIA PaCa-2 được tạo hỗn dịch trong PBS chứa 50% GFR-Matrigel (Corning Inc., Cat. 354230), và hỗn dịch này được cấy dưới da vào nách của chuột cái NOD-scid 5 tuần tuổi (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, được mua của CHARLES RIVER LABORATORIES Nhật bản, INC). Việc chia nhóm được thực hiện dựa trên thể tích khối u 5 ngày sau khi cấy, và kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người LN22R8chIgG4P được sử dụng trong phúc mạc cho chuột mang khối u ở liều 10 mg/kg vào ngày sau khi chia nhóm. Các khối u được lấy mẫu 6, 24, 48, 72 giờ sau khi sử dụng kháng thể, được làm lạnh bằng cách sử dụng nước đá khô, và được bảo quản lạnh. Để chuẩn bị các mẫu từ các mô khối u được làm lạnh (n = 3), thiết bị phân ly nhẹ MACS Octo có bộ phận gia nhiệt (Miltenyi Biotec K.K.) được sử dụng. Các dịch tan khối u thu được được phân tích bằng cách sử dụng các thử nghiệm Western đơn giản (Protein Simple Nhật bản K.K., Wes).

Fig.21(a) thể hiện các giá trị trung bình của tín hiệu p38MAPK phát hiện được cùng với các sai số chuẩn. Fig.21(b) thể hiện các giá trị trung bình của tín hiệu p38MAPK được phosphoryl hóa phát hiện được cùng với các sai số chuẩn. Fig.21(c) thể hiện các giá trị trung bình của tỷ lệ của tín hiệu p38MAPK được phosphoryl hóa với tín hiệu p38MAPK cùng với các sai số chuẩn. Trong LN22R8chIgG4P, p38MAPK được phosphoryl hóa tăng lên từ 6 giờ đến 72 giờ sau khi sử dụng. Tỷ lệ của tín hiệu p38MAPK được phosphoryl hóa ở mức đỉnh của nó ở thời điểm 6 giờ sau khi sử dụng và sau đó giảm đi khi p38MAPK tăng lên từ 24 giờ đến 72 giờ.

Do sự tăng mức độ phosphoryl hóa p38 và sự tăng mức độ phosphoryl hóa HSP27 do sử dụng kháng thể thể khảm CD147 cũng được quan sát trong các khối u dưới da của chuột nhắt, đã phát hiện được rằng tín hiệu p38 được hoạt hóa.

Ví dụ 10. Cảm ứng các phân tử như CXCL8 xuôi dòng của p38MAPK

Đã có thông báo rằng sự hoạt hóa p38MAPK gây ra sự cảm ứng CXCL8 thông qua việc làm ổn định mARN (Hoffmann et al., J. Leukoc. Biol., 847-855, 2002) và sự hoạt hóa tín hiệu SMAD3/4 (Leovonen et al., PLOS ONE, e57474, 2013). ARN được tách chiết từ các khối u dưới da của chuột nhắt sau khi sử dụng kháng thể được nghiên cứu bằng PCR định lượng để xác định xem sự biểu hiện gen CXCL8 có được cảm ứng trong các khối u MIA PaCa-2 sau khi sử dụng kháng thể này không. Tương tự, gen RHOB (Vasilaki et al., FASEB Journal, 891-905, 2010) đã được thông báo là được cảm ứng bởi sự hoạt hóa quá trình truyền tín hiệu SMAD cũng được nghiên cứu về sự thay đổi do sử dụng kháng thể CD147. Để làm các gen đối chứng nội sinh, sự biểu hiện của gen importin (ipo8) và gen protein liên kết với hộp TATA (tbp) được xác định. Sau khi kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người được sử dụng, và các khối u MIA PaCa-2 được lấy mẫu 72 giờ sau đó và được xử lý bằng ARN sau đó (Qiagen N.V., Cat. 76104), ARN được tách chiết bằng cách sử dụng Kit RNeasy Mini (250) (Qiagen N.V., Cat. 74106). Để làm kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người, LN22R8chIgG1, LN22R8chIgG2, hoặc LN22R8chIgG4P được tạo ra trong ví dụ 1)-14 được sử dụng. Để RT-PCR định lượng, kit EXPRESS một bước SuperScript qRT-PCR vạn năng (Thermofisher scienticic, Cat. 11781-01K) được sử dụng, và importin (ipo8) (Thermo Fisher Scientific, Cat. Hs00183533_m1), protein liên kết với hộp TATA (tbp) (Thermo Fisher Scientific, Cat. Hs00427621_m1), thành viên của họ rashomolog B (rhoB) (Thermo Fisher Scientific, Cat.hs00269660_s1), và interleukin 8 (Thermo Fisher Scientific, Cat. Hs00174103_m1) được sử dụng làm các đoạn dò định lượng gen. Sự tăng tín hiệu huỳnh quang đặc trưng cho gen sau phản ứng PCR được xác định bằng cách sử dụng ABIPrism 7500 (Applied Biosystems). Fig.22(a) thể hiện các giá trị trung bình (n = 3) của tỷ lệ biểu hiện gen ipo8/tbp cùng với các độ lệch chuẩn. Fig.22(b) thể hiện các giá trị trung bình (n = 3) của tỷ lệ biểu hiện gen cxcl8/tbp cùng với các độ lệch chuẩn. Fig.22(c) thể hiện các giá trị trung bình (n = 3) của tỷ lệ biểu hiện gen rhoB/tbp cùng với các độ lệch chuẩn.

Sau khi sử dụng LN22R8chIgG1, LN22R8chIgG2, hoặc LN22R8chIgG4P, sự biểu hiện gen ipo8 không thay đổi, nhưng sự cảm ứng sự biểu hiện cxcl8 và rhoB trong nhóm sử dụng kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người được quan sát. Việc cảm ứng sự biểu hiện cxcl8 và rhoB tỷ lệ với mức độ hiệu quả kháng u của kháng thể thể khảm

của người thể hiện trong ví dụ 1)-18, gợi ý rằng việc cảm ứng sự biểu hiện của cả hai gen có thể có tiềm năng tương quan với hiệu quả kháng u.

Ví dụ 11. Cảm ứng các gen cxcl8 và rhoB bằng cách tăng hiệu quả kháng u thông qua sự biến đổi kháng thể của chuột kháng CD147 của người thành kháng thể thể khảm của người

Hiệu quả kháng u của kháng thể của chuột kháng CD147 của người CD147_#110 của chuột được tăng lên bằng cách tạo thể khảm của người như thể hiện trong ví dụ 2 và ví dụ 7. Đối với việc cảm ứng cxcl8 và rhoB được quan sát trong các khối u sau khi sử dụng kháng thể thể khảm của người LN22R8chIgG1, LN22R8chIgG2, hoặc LN22R8chIgG4P, CD147_#110 của chuột được so sánh với kháng thể thể khảm #110chIgG4P theo cách giống như trong ví dụ 10.

Fig.23(a) thể hiện các giá trị trung bình (n = 3) của tỷ lệ biểu hiện gen ipo8/tbp cùng với các độ lệch chuẩn.

Fig.23(b) thể hiện các giá trị trung bình (n = 3) của tỷ lệ biểu hiện gen cxcl8/tbp cùng với các độ lệch chuẩn.

Fig.23(c) thể hiện các giá trị trung bình (n = 3) của tỷ lệ biểu hiện gen rhoB/tbp cùng với các độ lệch chuẩn.

Sự biểu hiện gen ipo8 không thay đổi do việc sử dụng kháng thể này. Trong khi không có sự thay đổi nào được quan sát trong sự biểu hiện gen cxcl8 và rhoB do sử dụng CD147_#110 của chuột, do trong nhóm không sử dụng kháng thể, sự cảm ứng cxcl8 và rhoB bởi #110chIgG4P được quan sát. Đã gợi ý rằng sự cảm ứng cả hai gen là thông số có tương quan với hiệu quả kháng u bởi kháng thể CD147.

Ví dụ 12. Đánh giá bằng cách sử dụng mô hình ung thư tụy âm tính với SMAD4

Yếu tố phiên mã, SMAD4, được biết là một trong số các phân tử quan trọng đối với sự hoạt hóa quá trình truyền tín hiệu SMAD (Zang, et al., Current Biology, 270-276, 1997). Đã biết rằng quá trình truyền tín hiệu SMAD bị suy giảm một phần do các khuyết tật di truyền của SMAD4 trong một số bệnh ung thư tụy (Hahn, et al., Science, 350-353, 1996). Việc liệu kháng thể CD147 có hiệu quả kháng u trong dòng tế bào ung thư tụy BxPC-3 không có SMAD4 không và có sự truyền tín hiệu SMAD bị ức chế một phần không (Yasutome et al., Clin.Exp. Di căn, 461-473, 2005) được nghiên cứu. $2,5 \times 10^6$ tế bào dòng tụy của người BxPC-3 (ATCC, Cat. CRL-1687) được tạo hỗn dịch trong PBS chứa 100%

Matrigel (Corning Inc., Cat. 354234), và hỗn dịch này được cấy dưới da vào nách của chuột nhắt cái BALB/c-nu 6 tuần tuổi (CAnN. Cg-Foxn1nu/CrlCrlj, được mua của CHARLES RIVER LABORATORIES Nhật bản, INC). Việc chia nhóm được thực hiện dựa trên thể tích khối u 8 ngày sau khi cấy, và kháng thể của chuột nhắt kháng CD147 của người LN22R8 hoặc kháng thể của chuột kháng CD147 của người 2P10F2 được sử dụng trong phúc mạc cho chuột bị ung thư ở liều 10 mg/kg 8, 15, và 22 ngày sau khi cấy (n = 5). Để làm thuốc đối chứng, gemxitabin (Eli Lilly Nhật bản K.K., Gemzar (R)) đây là chất điều trị bệnh ung thư tụy được sử dụng cho chuột nhắt mang khối u qua tĩnh mạch đuôi ở liều 200 mg/kg 8, 15, 22 ngày sau khi cấy (n = 5). Trục lớn và trục nhỏ của khối u được cấy được đo hai lần một tuần bằng cách sử dụng thước cặp số điện tử (sản phẩm của MITUTOYO CORPORATION) để tính thể tích khối u bằng công thức sau đây.

Thể tích khối u ($mm^3$) = 1/2 × trục nhỏ (mm) × trục nhỏ (mm) × trục lớn (mm)

Fig.24 thể hiện các kết quả này. Các đồ thị này cũng thể hiện các giá trị trung bình và sai số chuẩn của sự thay đổi thể tích khối u. Khối u BxPC-3 đề kháng với kháng thể LN22R8, kháng thể 2P10F2, và gemxitabin.

Ví dụ 13. Đạt được tính mẫn cảm của kháng thể CD147 bằng cách phục hồi SMAD4

Đã có thông báo rằng tín hiệu SMAD khôi phục bằng cách phục hồi SMAD4 trong một số dòng tế bào ung thư tụy. Việc liệu tín hiệu SMAD được khôi phục bằng cách phục hồi SMAD4 có gây ra sự tăng tính mẫn cảm của kháng thể CD147 không được nghiên cứu.

13)-1 Tạo ra các tế bào biểu hiện ổn định SMAD4

Bằng cách sử dụng kit vectơ Retro-X™ Q, dòng tế bào biểu hiện ổn định SMAD4 BxPC-3 được tạo ra. Gen SMAD4 của người được tạo ra bởi quá trình tổng hợp nhân tạo được đưa vào vị trí tạo dòng của plasmit pQCXIP chứa trong kit để làm vectơ retrovirut (Takara Bio Inc., Retro-X™ Q Vector Set, Cat. 631516) để tạo ra vectơ retrovirut biểu hiện SMAD4. Bằng cách sử dụng hệ đóng gói vạn năng Retro-X (Takara Bio Inc., Cat. 631530), vectơ retrovirut biểu hiện SMAD4 được đưa vào BxPC-3, và các tế bào BxPC-3 mà trong đó retrovirut được đưa vào nhiễm sắc thể bằng cách gây nhiễm virut và do đó trở thành kháng puromycin và dương tính với SMAD4 được chọn bằng cách sử dụng puromyxin (Takara Bio Inc., Cat. 631306) để dùng làm các tế bào BxPC-3 dương tính với SMAD4, BxPC-3-SMAD4. Plasmit pQCXIP của vectơ retrovirut được đưa vào theo cách giống như

vậy, và các tế bào BxPC-3 mà trở thành kháng puromyxin được dùng làm BxPC-3-giả. Thử nghiệm gây nhiễm retrovirut được thực hiện hai lần để tạo ra lô 1 và lô 2 của BxPC-3-giả và BxPC-3-SMAD4.

13)-2 Khẳng định sự biểu hiện CD147 và SMAD4

BxPC-3 (ATCC, Cat. CRL-1687), và BxPC-3-giả và BxPC-3-SMAD4 được tạo ra trong ví dụ 13)-1 được phân tích bằng cách sử dụng các thử nghiệm Western đơn giản (Protein Simple Nhật bản K.K., Wes). Để làm mẫu đối chứng dương tính với SMAD4, MIA PaCa-2 được sử dụng. Để phát hiện SMAD4, kháng thể kháng SMAD4 (R&D systems, Cat. AF2097) được sử dụng. Để phát hiện GAPDH, kháng thể kháng GAPDH (Abfrontier, Cat. LF-MA0026) được sử dụng. Để phát hiện CD147, kháng thể kháng CD147 (Abcam, Cat. Ab108317) được sử dụng.

Fig.25(a) thể hiện các kết quả này. MIA PaCa-2 là dương tính với SMAD4 và dương tính với CD147. BxPC-3 là âm tính với SMAD4 và dương tính với CD147. BxPC-3-giả là âm tính với SMAD4 và dương tính với CD147 mà không có sự ảnh hưởng nào của việc gây nhiễm retrovirut được quan sát. Cả lô 1 và lô 2 của BxPC-3-SMAD4 có vectơ retrovirut biểu hiện SMAD4 được đưa vào đều dương tính với SMAD4. Sự biểu hiện SMAD4 của lô 2 là cao, và do đó lô 2 được sử dụng làm BxPC-3-SMAD4 trong các thử nghiệm tiếp theo.

13)-3 Tính mẫn cảm của khối u BxPC-3 biểu hiện ổn định SMAD4 với kháng thể thể khảm của người CD147

$2,5 \times 10^6$ tế bào BxPC-3-giả hoặc BxPC-3-SMAD4 được tạo hỗn dịch trong PBS chứa 100% Matrigel (Corning Inc., Cat. 354234), và hỗn dịch này được cấy dưới da vào nách của chuột nhắt cái BALB/c-nu 5 tuần tuổi (CAnN. Cg-Foxn1nu/CrlCrlj, được mua của CHARLES RIVER LABORATORIES Nhật bản, INC). Việc chia nhóm được thực hiện dựa trên thể tích khối u 6 ngày sau khi cấy BxPC-3-giả, và việc chia nhóm của BxPC-3-SMAD4 được thực hiện 3 ngày sau khi cấy tương ứng, kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người LN22R8chIgG2 hoặc LN22R8chIgG4P được sử dụng trong phúc mạc cho chuột bị ung thư ở liều 10 mg/kg vào ngày này, và 7, 14, 21, 28 ngày sau khi chia nhóm (n = 5). Trục lớn và trục nhỏ của khối u được cấy được đo hai lần một tuần bằng

cách sử dụng thước cặp số điện tử (sản phẩm của MITUTOYO CORPORATION) để tính thể tích khối u bằng công thức sau đây.

Thể tích khối u ($mm^3$) = 1/2 × trục nhỏ (mm) × trục nhỏ (mm) × trục lớn (mm)

Fig.25(b) và Fig.25(c) thể hiện các kết quả. Các đồ thị này cũng thể hiện các giá trị trung bình và sai số chuẩn của sự thay đổi thể tích khối u. Khối u BxPC-3-giả là kháng với hoặc có tính mẫn cảm thấp với kháng thể LN22R8chIgG2 hoặc LN22R8chIgG4P. Khối u BxPC-3-SMAD4 có tính mẫn cảm một phần với kháng thể LN22R8chIgG2 hoặc LN22R8chIgG4P.

13)-4 Sự thay đổi tín hiệu p38 trong khối u do sự biểu hiện SMAD4

Đã có thông báo rằng tín hiệu p38 tăng lên do sự biểu hiện SMAD4 trong các tế bào ung thư tụy âm tính với SMAD4 (Chen et al., B. M. C., 1471-2407, 2014). Sự thay đổi của mức p38MAPK và p38MAPK được phosphoryl hóa trong khối u BxPC-3-SMAD4 do việc sử dụng kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người (72 giờ sau khi sử dụng kháng thể này) được phân tích bằng cách sử dụng các thử nghiệm Western đơn giản (Protein Simple Nhật bản K.K., Wes) theo cách giống như trong ví dụ 13)-1. Theo cách giống như trong ví dụ 1)-18, LN22R8chIgG4P để làm kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người được sử dụng cho chuột mang khối u MIA PaCa-2 dưới da ở liều 10 mg/kg. Để chuẩn bị mẫu (n = 3) từ các mô khối u, thiết bị phân ly nhẹ MACS Octo có các bộ gia nhiệt (Miltenyi Biotec K.K.) được sử dụng.

Fig.26(a) thể hiện các giá trị trung bình của các giá trị xác định được của ba mẫu khối u cùng với sai số chuẩn của các giá trị xác định được của p38 MAPK ở dạng đồ thị. Fig.26(b) thể hiện các giá trị trung bình của các giá trị xác định được của ba mẫu khối u cùng với sai số chuẩn của các giá trị xác định được của p38 MAPK phosphoryl hóa ở dạng đồ thị.

Trong các khối u BxPC-3-SMAD4, lượng p38 và p38 phosphoryl hóa tăng lên hai lần. 72 giờ sau khi sử dụng kháng thể CD147 thể khảm của người, sự giảm một phần của p38 và sự tăng một phần của p38 phosphoryl hóa được quan sát.

Đã phát hiện được rằng tín hiệu p38 tăng lên do sự biểu hiện SMAD4 trong các khối u của các tế bào ung thư tụy BxPC-3. Có khả năng là sự tăng tín hiệu p38 phụ thuộc

SMAD4 góp phần vào sự tăng tính mẫn cảm với kháng thể CD147 thể khảm của người LN22R8chIgG4P.

Ví dụ 14. Hiệu quả kháng u của kháng thể thể khảm CD147 trong bệnh ung thư tụy kháng gemxitabin

Hiệu quả kháng u của kháng thể CD147 trong mô hình khối u ung thư tụy kháng gemxitabin được nghiên cứu. $5 \times 10^6$ tế bào dòng tụy của người MIA PaCa-2 được tạo hỗn dịch trong PBS chứa 50% GFR-Matrigel (Corning Inc., Cat. 354230), và hỗn dịch này được cấy dưới da vào nách của chuột cái NOD-scid 5 tuần tuổi (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, CHARLES RIVER LABORATORIES JAPAN, INC). Gemxitabin (Eli Lilly Japan K.K.), là chất điều trị chuẩn cho bệnh ung thư tụy, được sử dụng trong phúc mạc ở liều 400 mg/kg 6 ngày sau khi cấy, và việc chia nhóm của chuột trong đó các khối kháng gemxitabin được khẳng định là phát triển được thực hiện dựa trên kích thước khối u một tuần sau đó. Gemxitabin được sử dụng trong phúc mạc cho nhóm đối chứng ở liều 400 mg/kg (n = 5) 13 ngày (ngày chia nhóm) và 20 ngày sau khi cấy. Để làm nhóm sử dụng kết hợp kháng thể CD147 và gemxitabin (n = 5), kháng thể CD147 thể khảm của người LN22R8chIgG4P được sử dụng trong phúc mạc ở liều 10 mg/kg 13 ngày (ngày chia nhóm) và 20 ngày sau khi cấy, ngoài gemxitabin được sử dụng trong phúc mạc ở liều 400 mg/kg 13 ngày (ngày chia nhóm) và 20 ngày sau khi cấy. Trục lớn và trục nhỏ của khối u được cấy được đo hai lần một tuần bằng cách sử dụng thước cặp số điện tử (sản phẩm của MITUTOYO CORPORATION) để tính thể tích khối u bằng công thức sau đây.

Thể tích khối u ($mm^3$) = 1/2 × trục nhỏ (mm) × trục nhỏ (mm) × trục lớn (mm)

Đồ thị trên Fig.27 thể hiện các kết quả cho thấy các giá trị trung bình và sai số chuẩn của sự thay đổi thể tích khối u. Đồ thị này cũng thể hiện sự phát triển khối u của nhóm không sử dụng (không điều trị) không sử dụng gemxitabin và kháng thể (n = 5).

Mặc dù kích thước khối u trung bình của nhóm sử dụng gemxitabin, làm thuốc đối chứng, là 1269 $mm^3$ 28 ngày sau khi cấy, và không có khối u thoái triển nào được quan sát, kích thước khối u trung bình của nhóm mà kháng thể CD147 thể khảm của người LN22R8chIgG4P được sử dụng kết hợp là 15 $mm^3$, và sự thoái triển khối u được quan sát ở 3 trong số 5 con chuột. Các kết quả này cho thấy rằng có khả năng tính mẫn cảm của

kháng thể CD147 được biểu hiện trong quá trình phát triển các khối u ung thư tụy kháng gemxitabin.

Ví dụ 15. Hiệu quả kháng u của kháng thể CD147 nhân hóa trong mô hình bệnh ung thư gan

15)-1 Sự biểu hiện của CD147 và SMAD4 trong các tế bào Hep G2

Sự biểu hiện CD147 và SMAD4 trong các tế bào HepG2 của dòng tế bào ung thư gan (ATCC, Cat. HB-8065) được nghiên cứu theo cách giống như trong ví dụ 13)-2. Đối với các mẫu đối chứng mà dương tính với CD147, MIA PaCa-2 và BxPC-3 (ATCC, Cat. CRL-1687) được sử dụng. MIA PaCa-2 được sử dụng làm mẫu đối chứng dương tính với SMAD4, và BxPC-3 được sử dụng làm mẫu đối chứng âm tính với SMAD4.

Tỷ lệ của tín hiệu được phát hiện với GAPDH được xác định, và các kết quả này được nêu tóm tắt như sau. Các tế bào Hep G2 được phát hiện là dương tính với CD147 và SMAD4.

Tỷ lệ tín hiệu CD147/GAPDH

| | |
|---|---|
| MIA PaCa-2 | 0,481 |
| BxPC-3 | 0,481 |
| Hep G2 | 2,944 |

Tỷ lệ tín hiệu SMAD4/GAPDH

| | |
|---|---|
| MIA PaCa-2 | 0,329 |
| BxPC-3 | 0,003 |
| Hep G2 | 0,723 |

15)-2 Khẳng định sự biểu hiện của CD147 trong các tế bào Hep G2 bằng cách sử dụng máy đếm tế bào theo dòng

CD147 được biểu hiện trên bề mặt tế bào của các tế bào HepG2 (ATCC, Cat. HB-8065) được phân tích bằng cách sử dụng máy đếm tế bào theo dòng. Để khẳng định sự biểu hiện CD147 của người, kháng thể IgG1 của chuột nhắt kháng CD147 của người MEM-M6/1-APC được đánh dấu bằng APC (Thermofisher, Cat. MA1-10104) được sử dụng làm kháng thể kháng CD147 của người có bán trên thị trường. Để làm kháng thể đối chứng isotyp IgG1 của chuột nhắt, mIgG1-APC (Miltenyi Biotec K.K., Cat. 130-092-214) được sử dụng. MEM-M6/1-APC được bổ sung vào hỗn dịch của các tế bào Hep G2 với lượng

1/10, sau đó xử lý ở 4°C trong 30 phút. Các tế bào này được rửa bằng dung dịch đệm PBS chứa 5% FBS, sau đó xác định bằng cách sử dụng máy đếm tế bào theo dòng (CantoII, BD Biosciences). Fig.28(a) nêu tóm tắt các kết quả này.

Đã phát hiện được rằng các tế bào Hep G2 được nhuộm bằng MEM-M6/1-APC có tín hiệu huỳnh quang mạnh, do đó chúng biểu hiện CD147.

15)-3 Sự hoạt hóa p38 bởi kháng thể CD147 nhân hóa trong các tế bào ung thư gan

Để nghiên cứu sự ảnh hưởng của kháng thể kháng CD147 đến p38MAPK trong các tế bào ung thư gan Hep G2, sự phosphoryl hóa P38 trong các tế bào Hep G2 (ATCC, Cat. HB-8065) được xử lý bằng kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người (LN22R8chIgG4P) hoặc kháng thể nhân hóa kháng CD147 của người (#84H1L2hIgG2, #84H1L2hIgG4P, #101H1L2hIgG2, #101H1L2hIgG4P, #110H1L4hIgG4P, hoặc #131H2L2hIgG2) được tạo ra trong ví dụ 6)-4-2 ở liều 10 μg/ml trong 15 phút được đánh giá bằng cách sử dụng các thử nghiệm Western đơn giản (Protein Simple Japan K.K., Wes). Để làm mẫu đối chứng, các tế bào Hep G2 được xử lý bằng IgG của người (hIgG, Jackson ImmunoResearch Inc., 009-000-003) ở liều 10 μg/ml theo cách giống như vậy được phân tích. Để phát hiện p38MAPK, mAb của thỏ p38 MAPK (Cell Signaling Technology, Inc., Cat. #9212) được sử dụng. Để phát hiện p38 MAPK được phosphoryl hóa, mAb của thỏ P-p38 MAPK (T180/Y182) (D3F9) XP (Cell Signaling Technology, Inc., #4511S) được sử dụng. Fig.28(b) thể hiện tỷ lệ của tín hiệu p38MAPK được phosphoryl hóa với tín hiệu p38MAPK được phát hiện.

Sự tăng tín hiệu p38 MAPK được phosphoryl hóa bằng hai lần hoặc cao hơn so với tín hiệu của nhóm được điều trị bằng IgG của người do điều trị bằng LN22R8chIgG4P, #84H1L2hIgG2, #84H1L2hIgG4P, #101H1L2hIgG2, #101H1L2hIgG4P, #110H1L4hIgG4P hoặc #131H2L2hIgG2 được quan sát, và đã phát hiện được rằng sự phosphoryl hóa p38 MAPK được cảm ứng bởi kháng thể kháng CD147 của người trong các tế bào ung thư gan, cũng như trong các tế bào ung thư tụy.

15)-4 So sánh hiệu quả kháng u giữa kháng thể CD147 nhân hóa và sorafenib trong bệnh ung thư gan

Hiệu quả kháng u của kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người và kháng thể nhân hóa trong dòng tế bào gan của người HepG2 (ATCC, Cat. HB-8065) mà

dương tính với CD147 và SMAD4 và trong đó sự phosphoryl hóa p38 do kháng thể kháng CD147 của người được quan sát được kiểm tra.

$5 \times 10^6$ tế bào của dòng tế bào gan của người HepG2 được tạo hỗn dịch trong PBS chứa 50% Matrigel (Corning Inc., Cat. 354234), và hỗn dịch này được cấy dưới da vào nách của chuột cái NOD-scid 4 tuần tuổi (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, được mua của CHARLES RIVER LABORATORIES JAPAN, INC). Việc chia nhóm được thực hiện dựa trên thể tích khối u 9 ngày sau khi cấy, và kháng thể CD147 thể khảm của người (LN22R8chIgG4P) hoặc kháng thể CD147 nhân hóa (#84H1L2hIgG2, #84H1L2hIgG4P, hoặc #110H1L4hIgG4P) được tạo ra trong ví dụ 6)-4-2 được sử dụng trong phúc mạc cho chuột bị ung thư ở liều 1 mg/kg hoặc 10 mg/kg (n = 5). Để làm thuốc đối chứng, sorafenib (viên nén Nexavar 200mg, Bayer AG), là chất điều trị bệnh ung thư gan, được hòa tan trong dung môi etanol dầu thầu dầu PEG-35 (Cremophor EL, NACALAI TESQUE, INC., Cat.09727-14) theo tài liệu tham khảo (Chang et.al., Cancer Chem.Thera.Pharm., 2007) đi kèm với viên nén Nexavar, và dung dịch này được sử dụng qua đường miệng cho chuột bị ung thư ở liều 30 mg/kg hoặc 90 mg/kg 9, 10, 11, 12, 13, 16, 17, và 18 ngày sau khi cấy (n = 5). Trục lớn và trục nhỏ của khối u được cấy được đo hai lần một tuần bằng cách sử dụng thước cặp số điện tử (sản phẩm của MITUTOYO CORPORATION) để tính thể tích khối u bằng công thức sau đây.

Thể tích khối u ($mm^3$) = 1/2 × trục nhỏ (mm) × trục nhỏ (mm) × trục lớn (mm)

Bảng 7 và Fig.29(a) đến Fig.29(d) thể hiện các kết quả. Các đồ thị này cũng thể hiện các giá trị trung bình và sai số chuẩn của sự thay đổi thể tích khối u. Để làm kết quả của việc sử dụng sorafenib, tác dụng ức chế một phần sự phát triển của khối u được quan sát, nhưng sự biến mất của khối u không được quan sát. Tất cả các kháng thể LN22R8chIgG4P, #84H1L2hIgG2, #84H1L2hIgG4P, và #110H1L4hIgG4P có hiệu quả kháng u mạnh với sự biến mất của khối u.

Bảng 7

| Thiết kế nhóm/sử dụng (n=5) | Thể tích khối u trung bình ($mm^3$) | Tỷ lệ ức chế sự phát triển của khối u (%) | Số ví dụ về sự thoái triển hoàn toàn khối u |
|---|---|---|---|
| Không được điều trị | 1740 | 0 | 0/5 |
| Chất dẫn thuốc, qD1x9 po | 1576 | 9 | 0/5 |
| Sorafenib 30mg/kg, qD1x9 po | 1425 | 18 | 0/5 |
| Sorafenib 90mg/kg, qD1x9 po | 1252 | 28 | 0/5 |
| LN22R8chIgG4P, 1 mg/kg, một liều ip | 664 | 62 | 0/5 |
| LN22R8chIgG4P, 10 mg/kg, một liều ip | 13 | 99 | 2/5 |
| #84H1L2hIgG2, 1 mg/kg, một liều ip | 456 | 74 | 0/5 |
| #84H1L2hIgG2, 10 mg/kg, một liều ip | 339 | 81 | 4/5 |
| #84H1L2hIgG4P, 1 mg/kg, một liều ip | 471 | 73 | 0/5 |
| #84H1L2hIgG4P, 10 mg/kg, một liều ip | 6 | 100 | 4/5 |
| #110H1L4hIgG4P, 1 mg/kg, một liều ip | 410 | 76 | 0/5 |
| #110H1L4hIgG4P, 10 mg/kg, một liều ip | 257 | 85 | 2/5 |

Ví dụ 16. Tác dụng đối với các tế bào T và PBMC

Đã có thông báo rằng sự biểu hiện của CD147 làm tăng các tế bào T dương tính với CD4 và dương tính với CD8 với sự hoạt hóa tế bào T (Hu et al., J. Cell. Mol. Med., 2132-2143, 2010), và một số kháng thể CD147 có tác dụng cảm ứng sự hoạt hóa tế bào T và ức chế sự phát triển (Koch et al., Int. Immunology, 777-786, 1999; Chiampanichayakul et al., Immunology 167-178, 2006). Sự ảnh hưởng của kháng thể kháng CD147 của người, có hiệu quả kháng u mạnh độc lập với chức năng của tế bào thực hiện, đến các tế bào lympho máu ngoại vi (PBL) chứa các tế bào T được nghiên cứu.

16)-1 Tăng mức biểu hiện CD147 bằng cách kích thích CD3/CD28 của PBMC

Việc liệu mức biểu hiện CD147 có tăng cùng với sự hoạt hóa tế bào T không được nghiên cứu bằng cách sử dụng PBMC của người. PBMC của người được nuôi cấy trong môi trường RPMI1640 chứa 10% FBS ở 37°C với sự có mặt của 5% $CO_2$. Sự phát triển được cảm ứng bằng cách bổ sung Dynabeads CD3/CD28 hoạt hóa tế bào T của người (các hạt CD3/CD28, Thermo Fisher SCIENTIFIC K.K., Cat. 1131D) trong quá trình nuôi cấy, và việc phân tích được thực hiện bằng cách sử dụng máy đếm tế bào theo dòng 4 ngày sau đó để nghiên cứu sự thay đổi mức biểu hiện CD147. Để khẳng định sự biểu hiện CD147 của người, kháng thể IgG1 của chuột nhắt kháng CD147 của người MEM-M6/1-APC được

đánh dấu bằng APC (CD147-APC, Thermofisher, Cat. MA1-10104) được sử dụng làm kháng thể kháng CD147 của người có bán trên thị trường. Để làm kháng thể đối chứng isotyp IgG1 của chuột nhắt, mIgG1-APC (Miltenyi Biotec K.K., Cat. 130-092-214) được sử dụng. Để phát hiện các tế bào T CD3, CD4, và CD8 chứa trong PBMC của người, kháng thể kháng CD3 của người APC/Fire™ 750 (sản phẩm của BioLegend, Inc., Cat. 344840), kháng CD4 của người PerCP/Cy5.5 (sản phẩm của BioLegend, Inc., Cat. 344608), và kháng CD8 của người Brilliant Violet 510 (sản phẩm của BioLegend, Inc., Cat. 344732) được sử dụng.

Fig.30 nêu tóm tắt các kết quả của sự liên kết CD147-APC trong các tế bào dương tính với CD3 và CD4 và các tế bào dương tính với CD3 và CD8. Trong trường hợp mà ở đó các tế bào dương tính với CD3 và CD4 và các tế bào dương tính với CD3 và CD8 được kích thích bằng các hạt CD3/CD28, sự tăng mức biểu hiện CD147 được khẳng định, và sự tăng mức biểu hiện CD147 trên bề mặt màng của các tế bào T có sự hoạt hóa tế bào T được khẳng định.

16)-2 Đánh giá tác dụng của kháng thể kháng CD147 của người đến sự phát triển của các tế bào đơn nhân máu ngoại vi người

Tác dụng của kháng thể kháng CD147 của người đến sự phát triển của các tế bào đơn nhân máu ngoại vi người (PBMC) được phân tích. Để làm kháng thể kháng CD147 của người, 2P10F2chIgG4P được sử dụng. Sau khi đánh dấu huỳnh quang PBMC bằng cách sử dụng kit liên kết tế bào huỳnh quang CellVue Claret Far Red (sigma, Cat. MIDCLARET-1KT), tế bào được nuôi cấy trong môi trường RPMI1640 chứa 10% FBS ở 37°C với sự có mặt của 5% $CO_2$. 2P10F2chIgG4P (10 μg/ml) được bổ sung trong quá trinh nuôi cấy khi sự phát triển được cảm ứng bằng cách bổ sung IL-2 và Dynabeads CD3/CD28 hoạt hóa tế bào T của người (hạt CD3/CD28, Thermo Fisher SCIENTIFIC K.K., Cat. 1131D) để nghiên cứu sự ảnh hưởng đến sự phát triển này. Tín hiệu huỳnh quang của tế bào PBMC giảm đi do sự phân chia tế bào được xác định bằng cách sử dụng máy đếm tế bào theo dòng (CantoII, BD Biosciences) 3 ngày và 5 ngày sau khi nuôi cấy. Fig.31 nêu tóm tắt các kết quả này.

Các tín hiệu huỳnh quang của tế bào PBMC giảm đi do sự phân chia tế bào được quan sát 3 ngày và 5 ngày sau khi nuôi cấy do bổ sung các hạt CD3/CD28. Trong trường

hợp bổ sung IL-2, 2P10F2chIgG4P, hoặc IL-2 và 2P10F2chIgG4P trong quá trình nuôi cấy, không có sự thay đổi nào của sự giảm tín hiệu huỳnh quang được quan sát. Đã gợi ý rằng kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người 2P10F2chIgG4P có hiệu quả kháng u mạnh trong mô hình khối u ở chuột nhất về bệnh ung thư tụy của người thể hiện trong ví dụ 1)-18 không ảnh hưởng đến sự phát triển của PBMC.

16)-3 Đánh giá kháng thể kháng CD147 của người đối với sự sản sinh xytokin bởi các tế bào lympho máu ngoại vi của người

Để là kháng thể kháng CD147 của người, kháng thể thể khảm của người #84chIgG1, #84chIgG2, #84chIgG4P, #84chIgG1LALA, #84chIgG4PFALA, #101chIgG4P, hoặc #110chIgG4P được sử dụng. PBL được điều chế từ máu ngoại vi của người bằng cách sử dụng Ficoll-Paque PLUS (GE Healthcare Nhật bản). Đĩa có 96 lỗ được phủ 10 μg/ml kháng thể thể khảm của người. IgG của người (hIgG, Jackson ImmunoResearch Inc., Cat. 009-000-003) để làm kháng thể đối chứng âm và CD3/CD28 hoạt hóa tế bào T của người Dynabeads (hạt CD3/CD28, Thermo Fisher SCIENTIFIC K.K., Cat. 1131D) để làm kháng thể đối chứng dương mà cảm ứng sự hoạt hóa tế bào T và cảm ứng xytokin được sử dụng. $1x10^6$ tế bào PBL được bổ sung vào các lỗ được phủ kháng thể này, và xytokin (IL2, TNFα, và INFγ) trong môi trường được xác định 24 giờ sau đó. CD3/CD28 hoạt hóa tế bào T của người Dynabeads được bổ sung trực tiếp vào các lỗ cùng với bổ sung PBL, và các xytokin (IL2, TNFα, và INFγ) trong môi trường được xác định 24 giờ sau đó theo cách giống như vậy. IL-2 của người ELISA Quantikine (R&D systems, Cat. D2050) được sử dụng để xác định IL2. Amersham TNF-α của người, Biotrak Easy ELISA (GE Healthcare Nhật bản, Cat. RPN5967) được sử dụng để xác định TNFα. Kit phát triển ELISA IFN-γ của người (Mabtech, Cat. 3420-1H-6) được sử dụng để xác định INFγ. Mỗi phép đo được thực hiện ba lần, và giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của năng suất hấp thụ phát hiện được được tính. Fig.32 nêu tóm tắt các kết quả.

Đã khẳng định được rằng tất cả các xytokin (IL2, TNFα, và INFγ) xác định được và được tạo ra từ PBL chỉ tăng lên trong dịch nuôi cấy trong các lỗ có bổ sung các hạt CD3/CD28 để làm đối chứng dương, và các xytokin không tăng trong dịch nuôi cấy trong các lỗ được phủ kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người, như perhIgG được dùng làm đối chứng âm.

Ví dụ 17. Phân tích cấu trúc tinh thể tia X của phức chất #110Fab'-CD147 nhân hóa

17)-1 Kết tinh phức chất

#110H1L4 hIgG4P nhân hóa được phân cắt bằng Pepsin, và Fab'2 thu được được khử bằng Dithiothreitol, sau đó alkyl hóa bằng Iodoaxetamit để thu được đoạn Fab'. Hỗn hợp của đoạn Fab' và hCD147v2 (22-205) sử dụng trong ví dụ 5) được sắc ký lọc gel bằng cách sử dụng cột Superdex 10/300GL (GE Healthcare) để thu được phân đoạn phức chất. Phức chất này được thay bằng dung dịch đệm (10mM Tris HCl, pH 7,5, 50mM NaCl) bằng cách sử dụng AmiconUltra15 MWCO 10K (sản phẩm của Millipore Corporation) để được cô tới 13g/l. Dung dịch phức chất này được kết tinh bằng cách khuếch tán hơi. Dung dịch tạo ra bằng cách bổ sung lượng bằng nhau của dung dịch chất kết tủa (0,1 M NaMalonat, pH 7,0, 12% (trọng lượng/thể tích) Polyetylen Glycol 3350) vào 0,5 µl dung dịch protein được cho vào đồ chứa kín chứa 0,05ml dung dịch chất kết tủa để cho hai dung dịch không tiếp xúc với nhau, sau đó để yên ở 25°C. Tinh thể có kích thước 0,15mm × 0,15mm × 0,3mm thu được khoảng một tuần sau đó được ngâm trong dung dịch chất kết tủa có bổ sung Polyetylen Glycol 400 để thu được nồng độ 30% (trọng lượng/thể tích), sau đó làm lạnh bằng nitơ lỏng. Dữ liệu nhiễu xạ tia X được thu thập bằng cách sử dụng chùm PF-BL17A của Photon Factory, High Energy Accelerator Research Organization (KEK) (Ibaraki, Nhật bản). Cường độ nhiễu xạ được định lượng từ ảnh nhiễu xạ thu được bằng cách sử dụng chương trình phần mềm mosflm (CCP4: Collaborative Computational Project No. 4) để xác định hệ số cấu trúc tinh thể. Nhóm không gian của tinh thể là P21, và ô đơn vị tinh thể là (a = 64,96 Å, b = 93,37 Å, c = 98,31 Å, alpha = gama = 90, và beta = 90,89).

17)-2 Phân tích cấu trúc của phức chất

Sự thay thế phân tử được thực hiện bằng cách sử dụng tọa độ cấu trúc ba chiều của hệ số cấu trúc thu được và mô hình độ tương đồng của đoạn Fab', và cấu trúc đã biết của CD147 của người (PDBID: 3b5h) để xác định pha. Để tính toán, chương trình phần mềm phaser (CCP4: Collaborative Computational Project No.4) được sử dụng. Tinh thể này chứa hai phức chất trong đơn vị không đối xứng. Cấu trúc này được tinh chỉnh bằng cách sử dụng chương trình phần mềm Refmac5 (CCP4: Collaborative Computational Project No.4), và mô hình này được hiệu chỉnh bằng cách sử dụng chương trình phần mềm coot. Thao tác này được lặp lại để thu được giá trị R cuối bằng 23% và giá trị R tự do bằng 28%

với độ phân giải 2,3 Å. Mô hình cuối bao gồm hai đoạn Fab' của #110H1L4 nhân hóa, và hCD147v2 liên kết với mỗi đoạn trong số chúng. Đối với một hCD147v2, mật độ điện tử tương ứng với các gốc axit amin 23-203 được quan sát, nhưng đối với hCD147v2 còn lại, mật độ điện tử tương ứng với vùng 1 là không rõ ràng, và chỉ mật độ điện tử tương ứng với gốc axit amin 103-202 được quan sát.

17)-3 Xác định epitop

Các gốc axit amin của hCD147v2 có mặt trong phạm vi 4 Å từ bề mặt liên kết với đoạn Fab' của #110H1L4 nhân hóa trong hai phức chất chứa trong đơn vị không đối xứng nói chung là như sau: Arg106, Lys108, Ala109, Val110, Lys127, Ser128, Glu129, Ser130, Val131, Pro132, Pro133, Val134, Gln164, và Gly165. Fig.41 thể hiện mô hình dạng dải và toàn bộ bề mặt của các phức chất này, và Fig.42 thể hiện sự tương tác giữa hCD147v2 và #110H1L4 nhân hóa.

Ví dụ 18. Hiệu quả kháng u của kháng thể CD147 nhân hóa trong mô hình bệnh ung thư dạ dày

Hiệu quả kháng u của kháng thể thể khảm của người kháng CD147 của người và kháng thể nhân hóa đối với các tế bào KATO III của dòng tế bào ung thư dạ dày của người (ATCC, Cat. HTB-103) được khẳng định là dương tính với CD147 bằng máy đếm tế bào theo dòng được đánh giá.

$5 \times 10^6$ tế bào của dòng tế bào ung thư dạ dày của người KATO III được tạo hỗn dịch trong 100% Matrigel (Corning Inc., Cat. 354234), và hỗn dịch này được cấy dưới da vào nách của chuột cái NOD-scid 5 tuần tuổi (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, được mua của CLEA Nhật bản, Inc). Việc chia nhóm được thực hiện dựa trên thể tích khối u 3 ngày sau khi cấy, và kháng thể CD147 thể khảm của người (LN22R8chIgG4P) hoặc kháng thể CD147 nhân hóa (#110H1L4hIgG4P) được tạo ra trong ví dụ 6)-4-2 được sử dụng trong phúc mạc cho chuột bị ung thư ở liều 10 mg/kg 7 ngày một lần sau khi chia nhóm (n = 6). Trục lớn và trục nhỏ của khối u được cấy được đo hai lần một tuần bằng cách sử dụng thước cặp số điện tử (sản phẩm của MITUTOYO CORPORATION) để tính thể tích khối u bằng công thức sau đây.

Thể tích khối u ($mm^3$) = 1/2 × trục nhỏ (mm) × trục nhỏ (mm) × trục lớn (mm)

Fig.43 thể hiện các kết quả này. Các đồ thị này cũng thể hiện các giá trị trung bình và sai số chuẩn của sự thay đổi thể tích khối u. Trong khi thể tích khối u trung bình của chuột nhắt 24 ngày sau khi cấy là 290 $mm^3$ trong nhóm không được điều trị, thể tích này là 199 $mm^3$ trong nhóm sử dụng LN22R8chIgG4p và 134 $mm^3$ trong nhóm sử dụng #110H1L4hIgG4P. Hiệu quả kháng u tính được là 31% trong nhóm sử dụng LN22R8chIgG4p và 54% trong nhóm sử dụng #110H1L4hIgG4P.

Ví dụ 19. Hiệu quả kháng u của kháng thể CD147 nhân hóa trong mô hình bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính

Hiệu quả kháng u của kháng thể nhân hóa kháng CD147 của người đối với các tế bào KU812 của dòng tế bào bạch cầu dạng tủy mạn tính của người (ATCC, Cat. CRL-2099) được khẳng định là dương tính với CD147 bằng máy đếm tế bào theo dòng được kiểm tra.

$5 \times 10^6$ tế bào KU812 của dòng tế bào bạch cầu dạng tủy mạn tính được tạo hỗn dịch trong PBS chứa 50% Matrigel (Corning Inc., Cat. 354234), và hỗn dịch này được cấy dưới da vào nách của 5 tuần tuổi chuột cái NOD-scid (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, được mua của CLEA Nhật bản, Inc). Việc chia nhóm được thực hiện dựa trên thể tích khối u 3 ngày sau khi cấy, và kháng thể CD147 nhân hóa (#110H1L4hIgG4P) được tạo ra trong ví dụ 6)-4-2 được sử dụng trong phúc mạc cho chuột mang khối u ở liều 10 mg/kg 7 ngày một lần sau khi chia nhóm (n = 5). Để làm thuốc đối chứng, imatinib (AstaTech, Inc., Cat. #63168), là chất điều trị chuẩn cho bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính, được điều chỉnh bằng nước cất thành dung dịch 9 mg/ml được sử dụng qua đường miệng cho chuột bị ung thư ở liều 90 mg/kg (sử dụng hằng ngày trừ các ngày thứ bảy và chủ nhật; sử dụng 4, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 23, 24 ngày sau khi cấy). Trục lớn và trục nhỏ của khối u được cấy được đo hai lần một tuần bằng cách sử dụng thước cặp số điện tử (sản phẩm của MITUTOYO CORPORATION) để tính thể tích khối u bằng công thức sau đây.

Thể tích khối u ($mm^3$) = 1/2 × trục nhỏ (mm) × trục nhỏ (mm) × trục lớn (mm)

Fig.44 thể hiện các kết quả này. Đồ thị này thể hiện các giá trị trung bình và sai số chuẩn của sự thay đổi thể tích khối u. Trong khi thể tích khối u trung bình của chuột trong nhóm không được điều trị là 627$mm^3$ 25 ngày sau khi cấy, thể tích này là 328$mm^3$ trong nhóm sử dụng imatinib và 6$mm^3$ trong nhóm sử dụng #110H1L4hIgG4P. Hiệu quả kháng

u tính được là 48% trong nhóm sử dụng imatinib và 97% trong nhóm sử dụng #110H1L4hIgG4P. Trong nhóm chỉ sử dụng #110H1L4hIgG4P, sự thoái triển khối u hoàn toàn được quan sát trong 4 ví dụ trong số 5 ví dụ.

Ví dụ 20. Hiệu quả kháng u của kháng thể CD147 nhân hóa trong mô hình bệnh ung thư kết tràng

Hiệu quả kháng u của mỗi kháng thể nhân hóa đối với các tế bào của dòng tế bào SW620 của dòng tế bào ung thư kết tràng của người (ATCC, Cat. CCL-227) được khẳng định là dương tính với CD147 bằng máy đếm tế bào theo dòng được đánh giá.

$5 \times 10^6$ tế bào SW620 của dòng tế bào ung thư kết tràng của người được tạo hỗn dịch trong 100% Matrigel (Corning Inc., Cat. 354234), và hỗn dịch này được cấy dưới da vào nách của chuột cái NOD-scid 5 tuần tuổi (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, được mua của CLEA Nhật bản, Inc). Việc chia nhóm được thực hiện dựa trên thể tích khối u 3 ngày sau khi cấy, và kháng thể CD147 thể khảm của người (LN22R8chIgG4P) hoặc kháng thể CD147 nhân hóa (#084H1L2hIgG4P hoặc #110H1L4hIgG4P) được tạo ra trong ví dụ 6)-4-2 được sử dụng trong phúc mạc cho chuột bị ung thư ở liều 10 mg/kg 7 ngày một lần sau khi chia nhóm (n = 5). Trục lớn và trục nhỏ của khối u được cấy được đo hai lần một tuần bằng cách sử dụng thước cặp số điện tử (sản phẩm của MITUTOYO CORPORATION) để tính thể tích khối u bằng công thức sau đây.

Thể tích khối u ($mm^3$) = 1/2 × trục nhỏ (mm) × trục nhỏ (mm) × trục lớn (mm)

Fig.45 thể hiện các kết quả này. Đồ thị này thể hiện các giá trị trung bình và sai số chuẩn của sự thay đổi thể tích khối u. Trong khi thể tích khối u trung bình của chuột trong nhóm không được điều trị 21 ngày sau khi cấy là $1302mm^3$, thể tích này là $709mm^3$ trong nhóm sử dụng #084H1L2hIgG4P và $403mm^3$ trong nhóm sử dụng #110H1L4hIgG4P. Hiệu quả kháng u tính được là 46% trong nhóm sử dụng #084H1L2hIgG4P và 69% trong nhóm sử dụng #110H1L4hIgG4P.

Ví dụ 21. Hiệu quả kháng u của kháng thể CD147 nhân hóa trong mô hình bệnh ung thư thận 786-O

Hiệu quả kháng u của mỗi kháng thể nhân hóa đối với bệnh ung thư thận ở người 786-O được khẳng định là dương tính với CD147 bằng máy đếm tế bào theo dòng được đánh giá. $5 \times 10^6$ tế bào ung thư thận ở người 786-O được tạo hỗn dịch trong 50% Matrigel

(Corning Inc., Cat. 354234), và hỗn dịch này được cấy dưới da vào nách của 5 tuần tuổi chuột cái NOD-scid (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, được mua từ CLEA Japan, Inc). Việc chia nhóm được thực hiện dựa trên thể tích khối u 3 ngày sau khi cấy, và kháng thể CD147 thể khảm của người (LN22R8chIgG4P) hoặc kháng thể CD147 nhân hóa (#084H1L2hIgG4P hoặc #110H1L4hIgG4P) được tạo ra trong ví dụ 6)-4-2 được sử dụng trong phúc mạc cho chuột bị ung thư ở liều 10 mg/kg 7 ngày một lần sau khi chia nhóm tổng cộng 4 lần (n = 6). Trục lớn và trục nhỏ của khối u được cấy được đo hai lần một tuần bằng cách sử dụng thước cặp số điện tử (sản phẩm của MITUTOYO CORPORATION) để tính thể tích khối u bằng công thức sau đây.

Thể tích khối u ($mm^3$) = 1/2 × trục nhỏ (mm) × trục nhỏ (mm) × trục lớn (mm)

Fig.46 thể hiện các kết quả này. Đồ thị này thể hiện các giá trị trung bình và sai số chuẩn của sự thay đổi thể tích khối u. Trong khi thể tích khối u trung bình của chuột trong nhóm không được điều trị 31 ngày sau khi cấy là 918$mm^3$, thể tích này là 224$mm^3$ trong nhóm sử dụng #084H1L2hIgG4P và 379$mm^3$ trong nhóm sử dụng #110H1L4hIgG4P. Hiệu quả kháng u tính được là 76% trong nhóm sử dụng #084H1L2hIgG4P và 59% trong nhóm sử dụng #110H1L4hIgG4P.

Ví dụ 22. Hiệu quả kháng u của kháng thể CD147 nhân hóa trong mô hình bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (AML)

Hiệu quả kháng u của kháng thể nhân hóa đối với các tế bào OCI-AML3 của dòng tế bào AML của người (DSMZ, Cat. ACC 582) được khẳng định là dương tính với CD147 bằng máy đếm tế bào theo dòng được đánh giá.

$5 \times 10^6$ tế bào OCI-AML3 của dòng tế bào AML của người được tạo hỗn dịch trong 50% GFR-Matrigel (Corning Inc., Cat. 354230), và hỗn dịch này được cấy dưới da vào nách của chuột cái NOD-scid 5 tuần tuổi (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, được mua của CLEA Japan, Inc). Việc chia nhóm được thực hiện dựa trên thể tích khối u 3 ngày sau khi cấy, và kháng thể CD147 nhân hóa (#110H1L4hIgG4P) được tạo ra trong ví dụ 6)-4-2 được sử dụng bằng cách tiêm vào tĩnh mạch đuôi cho chuột nhắt mang khối u ở liều 10 mg/kg 7 ngày một lần sau khi chia nhóm (n = 6). Trục lớn và trục nhỏ của khối u được cấy được đo hai lần một tuần bằng cách sử dụng thước cặp số điện tử (sản phẩm của MITUTOYO CORPORATION) để tính thể tích khối u bằng công thức sau đây.

Thể tích khối u ($mm^3$) = 1/2 × trục nhỏ (mm) × trục nhỏ (mm) × trục lớn (mm)

Fig.47 thể hiện các kết quả này. Đồ thị này thể hiện các giá trị trung bình và sai số chuẩn của sự thay đổi thể tích khối u. Trong khi thể tích khối u trung bình của chuột trong nhóm không được điều trị 21 ngày sau khi cấy là 1533$mm^3$, thể tích này là 394$mm^3$ trong nhóm sử dụng #110H1L4hIgG4P. Hiệu quả kháng u tính được là 74% trong nhóm sử dụng #110H1L4hIgG4P.

Ví dụ 23. Xác định hiệu quả của các kháng thể nhân hóa kháng CD147 có hoạt tính liên kết khác nhau

5 × $10^6$ tế bào MIA PaCa-2 dòng tụy của người được tạo hỗn dịch trong PBS chứa 50% GFR-Matrigel (Corning Inc., Cat. 354230), và hỗn dịch này được cấy dưới da vào nách của chuột cái Nude 4 tuần tuổi (BALB/c Slc-nu/nu, được mua từ Japan SLC, Inc). Việc chia nhóm được thực hiện dựa trên thể tích khối u, và ba loại kháng thể CD147 nhân hóa (#110H1L4hIgG4P, #110H13L02hIgG4P, và #110H13L12hIgG4P; bảng 6 thể hiện các hoạt tính liên kết của chúng) có hoạt tính liên kết khác nhau với protein CD147 được tạo ra trong ví dụ 6)-4-2 được sử dụng mỗi loại cho chuột nhắt mang khối u qua tĩnh mạch đuôi ở liều 10 mg/kg 7 ngày sau khi cấy (n = 6). Để làm thuốc đối chứng, gemxitabin (được mua từ Eli Lilly Japan K.K.), là chất điều trị chuẩn cho bệnh ung thư tụy, được sử dụng cho chuột bị ung thư qua tĩnh mạch đuôi ở liều 400 mg/kg 3 và 10 ngày sau khi cấy (n = 6). Trục lớn và trục nhỏ của khối u được cấy được đo hai lần một tuần bằng cách sử dụng thước cặp số điện tử (sản phẩm của MITUTOYO CORPORATION) để tính thể tích khối u bằng công thức sau đây.

Thể tích khối u ($mm^3$) = 1/2 × trục nhỏ (mm) × trục nhỏ (mm) × trục lớn (mm)

Fig.48 thể hiện các kết quả này. Đồ thị này thể hiện các giá trị trung bình và sai số chuẩn của sự thay đổi thể tích khối u.

Trong khi tỷ lệ ức chế sự phát triển của khối u của gemxitabin để làm thuốc đối chứng là 66%, tất cả các kháng thể CD147 nhân hóa có hiệu quả kháng u mạnh hơn trong nhóm sử dụng 10 mg/kg so với gemxitabin.

Ví dụ 24. So sánh các kháng thể CD147

24)-1 Đánh giá hoạt tính liên kết của các kháng thể kháng CD147 hiện có với kháng nguyên

Các kháng thể tinh chế được điều chế dựa trên trình tự của 4A5, 5F6 của WO2010/036460 và PPAT-082-03 của WO2017/061602. Hằng số phân ly của sự liên kết của 4A5, 5F6 hoặc PPAT-082-03 với protein CD147 được xác định bằng cách sử dụng Biacore T200 (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience). Kháng thể kháng IgG (Fc) của người được gây miễn dịch trên chip của bộ cảm biến bằng cách sử dụng kit bắt giữ kháng thể của người (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience) sau đó bắt giữ kháng thể thể khảm của người để làm phối tử và liên kết kháng nguyên để làm chất phân tích. HBS-EP+ (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience) để làm dung dịch đệm chạy mẫu và CM5 (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience) để làm chip của bộ cảm biến được sử dụng. Sau khi 1 μg/ml kháng thể cạnh tranh được bổ sung lên chip này ở tốc độ 10 μl/phút trong 60 giây, dịch pha loãng nhiều bậc của kháng nguyên sử dụng trong ví dụ 5 (0,5 đến 8 μg/ml) được bổ sung vào đó ở tốc độ dòng 30 μl/phút trong 120 giây, sau đó theo dõi tiếp đối với pha phân ly 300 giây. Magie clorua 3M (sản phẩm của GE Healthcare Bioscience) để làm dung dịch tái sinh được bổ sung vào đó ở tốc độ dòng 20 μl/phút trong 30 giây. Hằng số tốc độ liên kết ka, hằng số tốc độ phân ly kd, và hằng số phân ly (KD; KD = kd/ka) được tính toán bằng cách sử dụng mô hình liên kết 1:1 để phân tích dữ liệu. Hằng số phân ly của sự liên kết của kháng thể CD147 nhân hóa (#084H1L2hIgG4P hoặc #110H1L4hIgG4P) với protein CD147 được tính bằng phương pháp của ví dụ 7)-1.

Bảng 8 thể hiện thông tin về hằng số phân ly tính được, chức năng của tế bào thực hiện, và vùng epitop.

Bảng 8

| Kháng thể | Dạng kháng thể | KD (nM) | Chức năng của tế bào thực hiện | Vùng epitop |
|---|---|---|---|---|
| #110H1L4h | IgG4P của người | 8,60 | ADCC(-)<br>CDC(-)<br>ADCP(±) | Arg106 đến Gly165 của SEQ ID NO: 3 (biến thể 2 của CD147 của người) |
| #084H1L2h | IgG4P của người | 242 | ADCC(-)<br>CDC(-)<br>ADCP(+) | Trong vùng lân cận Asp65 đến Gln81 của SEQ ID NO: 3 (biến thể 2 của CD147 của người) |
| 4A5 | IgG2a của chuột | 132 | ADCC(+)<br>CDC(+)<br>ADCP(+) | Cạnh tranh với #084H1L2h |
| 5F6 | IgG1 của người | 71,9 | ADCC(+)<br>CDC(-)<br>ADCP(+) | Cạnh tranh với #084H1L2h |
| PPAT-082-03 | IgG1 của người | 33,2 | ADCC(+)<br>CDC(-)<br>ADCP(+) | Cạnh tranh với #084H1L2h |

24)-2 ELISA cạnh tranh với kháng thể CD147 hiện có

Bằng cách sử dụng kháng thể CD147 nhân hóa (#084H1L2hIgG4P hoặc #110H1L4hIgG4P) được tạo ra trong ví dụ 6)-4-2, hoạt tính liên kết với CD147/Fc tái tổ hợp của người (Sino Biological Inc., Cat. 10186-H02H) được đánh giá bằng ELISA cạnh tranh. Để làm các kháng thể cạnh tranh, các kháng thể 4A5 và 5F6 được điều chế trong 24)-1 và kháng thể PPAT-082-03 được sử dụng. Để làm kháng thể cạnh tranh đối chứng âm, IgG của người (Jackson ImmunoResearch Inc., Cat. 130093) được sử dụng. Để làm kháng thể cạnh tranh đối chứng dương, kháng thể #84H1L2hIgG2 được sử dụng đối với kháng thể #084H1L2hIgG4P và kháng thể #110chIgG2 được sử dụng đối với #110H1L4hIgG4P.

CD147/Fc tái tổ hợp của người được pha loãng bằng PBS ở nồng độ 2 μg/ml được bổ sung vào đĩa có 96 lỗ (Thermo Scientific, Cat.43454) ở lượng 50 μl/lỗ, sau đó bảo quản qua đêm ở 4°C. Sau khi loại bỏ dung dịch protein, 300μl PBS chứa 1% BSA được bổ sung vào đó, sau đó gia nhiệt ở nhiệt độ trong phòng trong một giờ. Sau khi loại bỏ dung dịch, 25μl dung dịch kháng thể hiện có (0, 0,2, 2, hoặc 20 μg/ml) được bổ sung vào đó, sau đó

gia nhiệt ở nhiệt độ trong phòng trong hai giờ. 25µl kháng thể CD147 nhân hóa (#084H1L2hIgG4P hoặc #110H1L4hIgG4P) ở nồng độ 20 ng/ml được bổ sung vào mỗi lỗ, sau đó gia nhiệt ở nhiệt độ trong phòng trong hai giờ. Sau khi rửa bằng PBS chứa 0,05% Tween20 (Bio-Rad Laboratories, Inc., Cat. 170-6531) hai lần, 50µl HRP kháng IgG4 của người (Abcam plc., Cat.ab99823) được pha loãng 2000 lần bằng PBS chứa 1% BSA được bổ sung vào đó, sau đó gia nhiệt ở nhiệt độ trong phòng trong một giờ. Sau khi rửa bằng PBS chứa 0,05% Tween20 (Bio-Rad Laboratories, Inc., Cat. 170-6531) ba lần, dung dịch rửa được rút nước đủ, và 50µl dung dịch cơ chất HRP (eBioscience, Thermo Fisher SCIENTIFIC K.K., Cat,00-4203-58) được bổ sung vào đó, sau đó gia nhiệt ở nhiệt độ trong phòng trong 15 đến 20 phút. Sau đó, năng suất hấp thụ ở 405nm được xác định bằng cách sử dụng máy đọc đĩa (model: EnVision2104, sản phẩm của PerkinElmer, Inc).

Bảng 8 và Fig.49(a) và Fig.49 (b) thể hiện các kết quả này.

Sự liên kết của #084H1L2hIgG4P với CD147/Fc tái tổ hợp của người được ức chế bởi sự có mặt của kháng thể CD147 hiện có ở nồng độ 1 đến 10µg/ml với sự có mặt của hIgG. Sự liên kết của #110H1L4hIgG4P với CD147/Fc tái tổ hợp của người không bị ức chế bởi sự có mặt của kháng thể CD147 hiện có ở nồng độ 0,1 đến 10µg/ml với sự có mặt của hIgG nhưng bị ức chế bởi sự có mặt của kháng thể #110chIgG2. Đã phát hiện được rằng epitop của #084H1L2hIgG4P cạnh tranh với sự liên kết của kháng thể kháng CD147 hiện có, nhưng epitop của #110H1L4hIgG4P không bị ảnh hưởng bởi sự liên kết của kháng thể kháng CD147 hiện có. Bảng 8 thể hiện thông tin epitop của kháng thể H110H1L4h được thể hiện bằng ví dụ 17)-3. Vùng epitop của #084H1L2h được đánh giá từ các kết quả thử nghiệm của sự liên kết cạnh tranh (ví dụ 2)-8) với kháng thể 2P10F2, epitop của nó được đánh giá bằng cách phân tích bằng cách sử dụng các thể đột biến CD147 của ví dụ 1)-9. Bảng 8 thể hiện các kết quả này.

24)-3 Đánh giá ADCC của các kháng thể kháng CD147

Theo phương pháp của ví dụ 1)-15, hoạt tính ADCC của kháng thể kháng CD147 được đánh giá. Các điều kiện khác với các điều kiện trong phương pháp của ví dụ 1)-15 được bao gồm, việc đánh giá được thực hiện bằng cách sử dụng các tế bào HepG2 (ATCC, Cat. HB-8065) để làm các tế bào đích của ADCC và #110H1L4hIgG4P, #084H1L2hIgG4P, 4A5, 5F6, và PPAT-082-03 được sử dụng làm các kháng thể CD147 ở nồng độ 1 µg/ml.

Việc xác định được thực hiện theo ba mẫu, và các giá trị trung bình và độ lệch chuẩn được tính. Trong trường hợp mà ở đó $^{51}Cr$ được phát hiện trong 5% hoặc tỷ lệ cao hơn của các tế bào, ADCC được xác định là dương tính (+). Trong trường hợp nhỏ hơn 5%, hoạt tính ADCC được xác định là âm tính (-). Bảng 8 thể hiện các kết quả này.

Hoạt tính ADCC không được phát hiện trong #110H1L4hIgG4P và #084H1L2hIgG4P, và do đó ADCC được xác định là (-). Trong 4A5, 5F6, và PPAT-082-03, $^{51}Cr$ được phát hiện trong 5% hoặc tỷ lệ cao hơn của các tế bào, và do đó ADCC được xác định là dương tính (+). #110H1L4hIgG4P và #084H1L2hIgG4P là âm tính đối với ADCC và do vậy được mong đợi là có khả năng cảm ứng mức độ thấp hơn sự chết tế bào của các tế bào bình thường, như các tế bào máu biểu hiện CD147, trong cơ thể người so với 4A5, 5F6, và PPAT-082-03, chúng là dương tính đối với hoạt tính ADCC.

24)-4 Đánh giá CDC của các kháng thể kháng CD147

Theo phương pháp của ví dụ 1)-16, hoạt tính lmμ chết tế bào phụ thuộc bổ thể (hoạt tính CDC) bởi kháng thể kháng CD147 của người được đánh giá. Các điều kiện khác với các điều kiện trong phương pháp của ví dụ 1)-16 được bao gồm, việc xác định được thực hiện bằng cách sử dụng các tế bào HepG2 của dòng tế bào gan của người (ATCC, Cat. HB-8065) để làm các tế bào đích và #110H1L4hIgG4P, #084H1L2hIgG4P, 4A5, 5F6, và PPAT-082-03 để làm các kháng thể kháng CD147 của người và bổ sung bổ thể của thỏ tới nồng độ cuối 10%. Việc xác định được thực hiện theo ba mẫu, và các giá trị trung bình và độ lệch chuẩn được tính. Các kháng thể trong đó 30% hoặc tỷ lệ cao hơn của hoạt tính CDC phụ thuộc kháng thể được quan sát được xác định là có hoạt tính CDC dương tính và được thể hiện là CDC (+) trong bảng. Bảng 8 thể hiện các kết quả này. Chỉ có 4A5 trong số các kháng thể kháng CD147 của người có hoạt tính CDC dương tính. #110H1L4hIgG4P, #084H1L2hIgG4P, 5F6, và PPAT-082-03 là âm tính đối với CDC và được mong đợi là có khả năng cảm ứng sự chết tế bào của các tế bào bình thường, như các tế bào máu biểu hiện CD147, trong cơ thể người ở mức thấp hơn so với 4A5 mà có hoạt tính CDC dương tính.

24)-5 Đánh giá ADCP của các kháng thể kháng CD147

Theo phương pháp của ví dụ 1)-17, hoạt tính ADCP của kháng thể kháng CD147 được xác định. Các điều kiện khác với các điều kiện trong phương pháp của ví dụ 1)-17 được bao gồm, hoạt tính ADCP được xác định bằng cách sử dụng các tế bào HepG2 của

dòng tế bào gan của người (ATCC, Cat. HB-8065) để làm các tế bào đích và bổ sung #110H1L4hIgG4P, #084H1L2hIgG4P, 4A5, 5F6, và PPAT-082-03 để làm các kháng thể kháng CD147 ở nồng độ 1 μg/ml và lượng như nhau của tế bào RAW264.7 được đánh dấu vào các tế bào đích của ADCP. Việc xác định được thực hiện theo ba mẫu, và các giá trị trung bình và độ lệch chuẩn được tính. Sự tăng hoạt tính ADCP nhỏ hơn 10% của nhóm được điều trị bằng IgG của người được xác định là dương tính nhẹ (±), và sự tăng hoạt tính bằng 10% hoặc cao hơn được xác định là dương tính (+). Bảng 8 thể hiện các kết quả này.

#110H1L4hIgG4P có hoạt tính ADCP nhỏ hơn 10%, và hoạt tính ADCP này được xác định là ±. Các kháng thể #084H1L2hIgG4P, 4A5, 5F6, và PPAT-082-03 có hoạt tính ADCP bằng 10% hoặc cao hơn, và hoạt tính ADCP này được xác định là +. #110H1L4hIgG4P nhận biết CD147-D2 có hoạt tính ADCP thấp hơn so với các kháng thể CD147 khác nhận biết CD147-D1. Sau khi kháng thể CD147 được liên kết với CD147, đoạn Fc của kháng thể cần được nhận biết bởi thụ thể Fcγ được biểu hiện trên các đại thực bào hoặc các tế bào đơn nhân của ADCP. Tuy nhiên, có khả năng là hoạt tính ADCP là thấp do epitop của kháng thể #110 ở gần bề mặt của các tế bào này, và thụ thể Fcγ nhận biết đoạn Fc của kháng thể liên kết với CD147 dùng làm kháng nguyên khó hơn các kháng thể khác nhận biết CD147-D1. #110H1L4hIgG4P có hoạt tính ADCP dương tính nhẹ được mong đợi là có khả năng cảm ứng sự chết tế bào của các tế bào bình thường, như các tế bào máu biểu hiện CD147, trong cơ thể người ít hơn so với #084H1L2hIgG4P, 4A5, 5F6, và PPAT-082-03 có hoạt tính ADCP dương tính.

Ví dụ 25

25)-1 Kết tập tế bào của hệ thống máu bởi kháng thể kháng CD147

Đã có thông báo rằng một số kháng thể kháng CD147 cảm ứng sự kết tập của các tế bào máu (Kasinrerk, et al., Immunology 1999, 96 (2) p184-192). Sự kết tập của các tế bào máu có thể gây ra độc tính máu nghiêm trọng (Doll, C., et al., 1994, Curr. Opin. Oncol., 345-350) và là đặc tính không mong muốn đối với kháng thể điều trị. Sự khác nhau về hoạt tính kết tập tế bào giữa các kháng thể kháng CD147 được nghiên cứu. Để làm các kháng thể CD147, #110H1L4hIgG4P, #084H1L2hIgG4P, 4A5, 5F6, và PPAT-082-03 được đánh giá. Để làm kháng thể đối chứng âm, IgG của người (hIgG, ChromPure Human IgG, Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., Cat.009-000-003) được sử dụng. Các tế bào

HEL92.1.7 (được mua của ATCC, Cat. #TIB-180) cùng với môi trường RPMI1640 (Thermo Fisher SCIENTIFIC K.K., Cat. 11875-093) chứa 10% FBS (HyClone, GE Healthcare, Cat. SH30084,03) được bổ sung vào đĩa 96 lỗ có đáy hình chữ U (Sumitomo Bakelite Co., Ltd., Cat. MS-9096U) ở mật độ 1600 tế bào/80 µl cho một lỗ, sau đó nuôi cấy trong 4 giờ trong điều kiện 5% $CO_2$, độ ẩm 95%, và 37°C. 20µl dung dịch kháng thể kháng CD147 (150µg/ml, 50µg/ml) được bổ sung vào mỗi lỗ tới nồng độ cuối 30 hoặc 10 µg/ml. Sau khi nuôi cấy trong 2 ngày trong điều kiện 5% $CO_2$, độ ẩm 95%, và 37°C, việc quan sát bằng kính hiển vi được thực hiện.

Trong khi sự kết tập tế bào do bổ sung IgG của người hoặc #110H1L4hIgG4P không được quan sát, các tế bào được kết tập khi có mặt kháng thể #084H1L2hIgG4P, 4A5, 5F6, hoặc PPAT-082-03, và các khối tế bào chồng nhau ở tâm của đĩa được quan sát. Đã thấy rằng #110H1L4hIgG4P nhận biết CD147-D2 không có hoạt tính kết tập tế bào máu và do vậy là khác với các kháng thể CD147 khác nhận biết vùng CD147-D1. Do các kháng thể CD147 bao gồm #084 có hoạt tính kết tập tế bào có thể có tiềm năng gây ra độc tính như cục huyết khối thông qua sự kết tập của các tế bào máu khi được sử dụng cho người, cần tránh hoặc làm giảm các tác dụng phụ này bằng cách sử dụng kết hợp việc tiêm heparin dưới da ở liều được sử dụng để điều trị cục huyết khối hoặc heparin có trọng lượng phân tử thấp hoặc thuốc kháng tiểu cầu.

25)-2 Đánh giá nguy cơ của hội chứng giải phóng xytokin

Trong một số các kháng thể như OKT3 và TGN1412, việc sử dụng các kháng thể điều trị gây ra sự tăng xytokin trong máu bởi sự hoạt hóa các tế bào miễn dịch, bằng cách đó gây ra hội chứng giải phóng xytokin nghiêm trọng (Gaston, R., Kidney International, 1991, 141-148; Suntharalingam, G., et al., N.Engl. J. Med. 2006, 1018-1028). Đã có thông báo rằng một số kháng thể CD147 tác dụng lên các tế bào miễn dịch, có tác dụng làm tăng sự tạo ra interferon gama hoặc interleukin-4 (Hu, J., et al., J. Cell. Mol. Med., 2010, 2132-2143). Độc tính của các thuốc kháng thể do hội chứng giải phóng xytokin có thể được dự báo bởi thử nghiệm giải phóng xytokin bằng cách sử dụng máu ngoại vi (Vessillier, S.et al., J. Immunolol. Methods, 2015, 43-52). Do đó, nguy cơ của hội chứng giải phóng xytokin được đánh giá bởi thử nghiệm giải phóng xytokin bằng cách sử dụng máu ngoại vi của người. #110H1L4hIgG4P, #110chIgG4PFALA, #084H1L2hIgG4P, và #084H1L2hIgG2

được sử dụng làm các kháng thể CD147, và bevacizumab (Genentech, Inc.), trastuzumab (Roche Pharma AG), alemtuzumab (Sanofi K.K.), và kháng thể kháng CD3 của người (BioLegend Cat. No317326) được sử dụng làm các kháng thể so sánh. Đối với tất cả các kháng thể CD147 được đánh giá, sự tăng mức độ phát triển tế bào không được quan sát trong các tế bào đơn nhân máu ngoại vi người (6 người cho được đánh giá đối với mỗi kháng thể), và sự ảnh hưởng đến mức độ giải phóng xytokin (TNFα, INF-γ, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, và MIP-1α) là nhỏ hơn ở bevacizumab, chất này có nguy cơ thấp của hội chứng giải phóng xytokin. Đối với kháng thể kháng CD3 của người (OKT3), sự tăng mức độ phát triển tế bào và sự tăng mức độ giải phóng xytokin (TNFα, INF-γ, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, và MIP-1α) được quan sát. Đã chứng minh được rằng #110H1L4hIgG4P, #110chIgG4PFALA, #084H1L2hIgG4P, và #084H1L2hIgG2 không cảm ứng sự giải phóng xytokin mà có thể có tiềm năng gây ra hội chứng giải phóng xytokin.

25)-3 Đánh giá độ an toàn của kháng thể kháng CD147 ở khỉ

Đã có thông báo rằng một số kháng thể của chuột nhắt kháng CD147, khi được sử dụng cho chuột nhắt, ức chế các chức năng của CD147, cảm ứng sự kết tập của các tế bào hồng cầu trong lách, và làm giảm lượng các tế bào hồng cầu trong máu ngoại vi, bằng cách đó gây ra bệnh thiếu máu (Coste, I. et al., Blood, 2001, 3984-3988). Do các kháng thể CD147 thu được theo sáng chế như #110H1L4hIgG4P không có sự liên kết với CD147 của chuột nhắt, độ an toàn không được đánh giá thích hợp ở chuột nhắt. Do đó, độ an toàn được đánh giá bằng cách sử dụng #110H1L4hIgG4P cho khỉ cynomolgus, đây là kháng thể kháng CD147 được khẳng định là có hoạt tính liên kết với CD147 của người và khỉ bằng các thử nghiệm bằng cách sử dụng máy đếm tế bào theo dòng. #110H1L4hIgG4P được sử dụng qua tĩnh mạch cho khỉ cynomolgus (một con đực và một con cái) ở một liều duy nhất 99,2 mg/kg, đó là liều cực đại. Kết quả là, độc tính nghiêm trọng (các thay đổi về thể trọng và sự hấp thu thức ăn hoặc các thay đổi mô bệnh học) không được quan sát trong thời gian quan sát 15 ngày từ khi sử dụng hoặc bằng cách xét nghiệm mô bệnh học khi kết thúc thời gian quan sát. #110H1L4hIgG4P không có độc tính đối với khỉ cynomolgus, do đó cho thấy rằng nó có thể được sử dụng để điều trị bệnh ung thư ở người.

Ví dụ 26. Ảnh hưởng của KLF5 đến tính mẫn cảm với kháng thể CD147

Tín hiệu EMT gây chết được biết là tín hiệu của sự chết tế bào phụ thuộc SMAD2/SMAD3/SMAD4 trong các tế bào ung thư, và đã được thông báo rằng, ở các tế bào ung thư âm tính với SMAD4, có sự tăng mức biểu hiện của yếu tố phiên mã protein KLF5, nó thường giảm đi bởi sự truyền tín hiệu SMAD, và điều này làm giảm tín hiệu EMTgây chết ở các tế bào ung thư âm tính với SMAD4 (David, C., Cell, 2016, 1015-1030). Do kháng thể CD147 theo sáng chế hoạt hóa sự truyền tín hiệu SMAD và có hiệu quả kháng u đối với các tế bào dương tính với SMAD4, nó được cho là cảm ứng sự chết tế bào phụ thuộc tín hiệu SMAD. Việc KLF5 có liên quan đến tính mẫn cảm với hiệu quả kháng u phụ thuộc kháng thể CD147 không được nghiên cứu.

26)-1 Tạo ra dòng tế bào biểu hiện KLF5

Theo phương pháp của ví dụ 13, các tế bào MIA PaCa-2 của dòng tế bào biểu hiện ổn định KLF5 được tạo ra. SEQ ID NO: 145 và 146 lần lượt thể hiện trình tự axit amin và trình tự nucleotit của KLF5 của người. Vectơ retrovirut pQCXIP có trình tự (Ref seq. ID: NM_001730.4) của gen KLF5 chứa trong đó (GenScript Biotech Corporation, Cat. OHu21278C) được tạo ra và vectơ retrovirut này được sử dụng để tạo ra retrovirut. Retrovirut được đưa vào nhiễm sắc thể bằng cách gây nhiễm virut, và các tế bào MIA PaCa-2 trở nên kháng puromycin và dương tính đối với KLF5 được chọn để tạo ra các tế bào MIA PaCa-2 dương tính với KLF5, MIA PaCa-2-KLF5. Vectơ retrovirut pQCXIP được gây nhiễm theo cách giống như vậy để tạo ra các tế bào MIA PaCa-2 kháng puromycin, MIA PaCa-2-giả.

26)-2 Khẳng định sự biểu hiện KLF5

Sự biểu hiện KLF5 của MIA PaCa-2-giả và MIA PaCa-2-KLF5 được khẳng định bằng cách sử dụng máy đếm tế bào theo dòng. Theo phương pháp của ví dụ 13-2, đã khẳng định được rằng mức biểu hiện KLF5 trong MIA PaCa-2-KLF5 tăng lên so với mức biểu hiện này trong MIA PaCa-2-giả. Để phát hiện KLF5, kháng thể KLF5 (Cell Signaling Technology, Inc., Cat. #51586) được sử dụng.

26)-3 Tính mẫn cảm của khối u MIA PaCa-2 biểu hiện KLF5 với kháng thể CD147 nhân hóa

Theo phương pháp của ví dụ 7)-2, tính mẫn cảm của các khối u chứa MIA PaCa-2-KLF5 và MIA PaCa-2-giả với kháng thể CD147 nhân hóa #110H1L4hIgG4P được so sánh.

Kháng thể CD147 nhân hóa (#110H1L4hIgG4P) được tạo ra trong ví dụ 6)-4-2 được sử dụng cho chuột mang khối u qua tĩnh mạch đuôi ở liều 1 mg/kg 3 ngày sau khi cấy tế bào (n = 6). Kháng thể được sử dụng 7 ngày sau đó theo cách giống như vậy. Dung dịch đệm PBS được sử dụng cho chuột mang khối u của nhóm đối chứng qua tĩnh mạch đuôi theo cách giống như vậy (n = 6). Fig.50 thể hiện các kết quả này.

Thể tích trung bình của khối u MIA PaCa-2-giả giảm tới 9% của thể tích này trong nhóm đối chứng 14 ngày sau khi sử dụng kháng thể CD147 nhân hóa, do đó có tính mẫn cảm đối với kháng thể CD147. Thể tích khối u trung bình của MIA PaCa-2-KLF5 bằng 80% của nhóm đối chứng, do đó có tính mẫn cảm thấp với kháng thể CD147. Đã phát hiện được rằng hiệu quả kháng u phụ thuộc tín hiệu SMAD của kháng thể CD147 được ngăn chặn bởi sự biểu hiện KLF5.

Khả năng áp dụng trong công nghiệp

Sáng chế đề xuất kháng thể đặc hiệu CD147 hoạt hóa CD147 và có hiệu quả kháng u mạnh. Sáng chế đề xuất kháng thể có hiệu quả kháng u mạnh độc lập với các chức năng của tế bào thực hiện. Kháng thể theo sáng chế có hiệu quả trong các tế bào ung thư gan tốt hơn rõ ràng so với hiệu quả của sorafenib được sử dụng làm một trong số các thuốc chăm sóc chuẩn của bệnh ung thư gan. Kháng thể theo sáng chế có hiệu quả trong các tế bào ung thư tụy mạnh hơn đáng kể so với hiệu quả của gemxitabin được sử dụng làm một trong số các thuốc chăm sóc chuẩn cho bệnh ung thư tụy. Kháng thể theo sáng chế có hiệu quả trong các tế bào bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính mạnh hơn đáng kể so với hiệu quả của imatinib được sử dụng làm một trong số các thuốc chăm sóc chuẩn cho bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính. Kháng thể theo sáng chế có hiệu quả kháng u độc lập với các chức năng của tế bào thực hiện và gây ít mối lo ngại hơn theo đánh giá về độ an toàn, và do đó kháng thể kháng CD147 có độ an toàn rất tốt được đề xuất. CD147 được biểu hiện không chỉ trong các tế bào u, mà còn trong các tế bào máu. Tuy nhiên, kháng thể theo sáng chế không tác dụng đối với các tế bào T và PBMC và độc lập với các chức năng của tế bào thực hiện, nên kháng thể này có ưu điểm là gây ra các lo ngại về độ an toàn ít hơn khi phát triển nó làm chất kháng u. Sáng chế đề xuất dược phẩm chứa kháng thể nêu trên, cũng như phương pháp điều trị khối u bằng cách sử dụng kháng thể này và/hoặc dược phẩm này.

Danh mục trình tự

SEQ ID NO: 1: Trình tự axit amin của biến thể 1 của CD147 của người

SEQ ID NO: 2: Trình tự nucleotit của biến thể 1 của CD147 của người

SEQ ID NO: 3: Trình tự axit amin của biến thể 2 của CD147 của người

SEQ ID NO: 4: Trình tự nucleotit của biến thể 2 của CD147 của người

SEQ ID NO: 5: Trình tự axit amin của SMAD4 của người

SEQ ID NO: 6: Trình tự nucleotit của SMAD4 của người

SEQ ID NO: 7: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của LN22R8

SEQ ID NO: 8: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của LN22R8

SEQ ID NO: 9: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nặng của LN22R8

SEQ ID NO: 10: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của LN22R8

SEQ ID NO: 11: Trình tự axit amin của CDRL1 của LN22R8

SEQ ID NO: 12: Trình tự axit amin của CDRL2 của LN22R8

SEQ ID NO: 13: Trình tự axit amin của CDRL3 của LN22R8

SEQ ID NO: 14: Trình tự axit amin của CDRH1 của LN22R8

SEQ ID NO: 15: Trình tự axit amin của CDRH2 của LN22R8

SEQ ID NO: 16: Trình tự axit amin của CDRH3 của LN22R8

SEQ ID NO: 17: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của 2P10F2

SEQ ID NO: 18: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của 2P10F2

SEQ ID NO: 19: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nặng của 2P10F2

SEQ ID NO: 20: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của 2P10F2

SEQ ID NO: 21: Trình tự axit amin của CDRL1 của 2P10F2

SEQ ID NO: 22: Trình tự axit amin của CDRL2 của 2P10F2

SEQ ID NO: 23: Trình tự axit amin của CDRL3 của 2P10F2

SEQ ID NO: 24: Trình tự axit amin của CDRH1 của 2P10F2

SEQ ID NO: 25: Trình tự axit amin của CDRH2 của 2P10F2

SEQ ID NO: 26: Trình tự axit amin của CDRH3 của 2P10F2

SEQ ID NO: 27: ADN bao gồm trình tự ADN mã hóa trình tự tín hiệu chuỗi nhẹ của người và vùng hằng định chuỗi kapa của người

SEQ ID NO: 28: ADN bao gồm trình tự ADN mã hóa axit amin của trình tự tín hiệu chuỗi nặng của người và vùng hằng định IgG1 của người

SEQ ID NO: 29: ADN bao gồm trình tự ADN mã hóa axit amin của trình tự tín hiệu chuỗi nặng của người và vùng hằng định IgG2 của người

SEQ ID NO: 30: Trình tự nucleotit của chuỗi nhẹ của LN22R8 thể khảm của người

SEQ ID NO: 31: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của LN22R8 thể khảm của người

SEQ ID NO: 32: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG1 của LN22R8 thể khảm của người

SEQ ID NO: 33: Trình tự axit amin của chuỗi nặng loại IgG1 của LN22R8 thể khảm của người

SEQ ID NO: 34: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG2 của LN22R8 thể khảm của người

SEQ ID NO: 35: Trình tự axit amin của chuỗi nặng loại IgG2 của LN22R8 thể khảm của người

SEQ ID NO: 36: ADN bao gồm trình tự ADN mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nặng loại IgG4P của LN22R8 thể khảm của người

SEQ ID NO: 37: Trình tự axit amin của chuỗi nặng loại IgG4P của LN22R8 thể khảm của người

SEQ ID NO: 38: ADN bao gồm trình tự ADN mã hóa axit amin của trình tự tín hiệu chuỗi nặng của người và vùng hằng định IgG1LALA của người

SEQ ID NO: 39: ADN bao gồm trình tự ADN mã hóa axit amin của trình tự tín hiệu chuỗi nặng của người và vùng hằng định IgG4P của người

SEQ ID NO: 40: Trình tự nucleotit của chuỗi nhẹ của 2P10F2 thể khảm của người

SEQ ID NO: 41: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của 2P10F2 thể khảm của người

SEQ ID NO: 42: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG1LALA của 2P10F2 thể khảm của người

SEQ ID NO: 43: Trình tự axit amin của chuỗi nặng loại IgG1LALA của 2P10F2 thể khảm của người

SEQ ID NO: 44: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG2 của 2P10F2 thể khảm của người

SEQ ID NO: 45: Trình tự axit amin của chuỗi nặng loại IgG2 của 2P10F2 thể khảm của người

SEQ ID NO: 46: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG4P của 2P10F2 thể khảm của người

SEQ ID NO: 47: Trình tự axit amin của chuỗi nặng loại IgG4P của 2P10F2 thể khảm của người

SEQ ID NO: 48: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột (r#84)

SEQ ID NO: 49: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột (r#84)

SEQ ID NO: 50: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#84 của chuột (r#84)

SEQ ID NO: 51: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#84 của chuột (r#84)

SEQ ID NO: 52: Trình tự axit amin của CDRL1 của CD147_#84 của chuột (r#84)

SEQ ID NO: 53: Trình tự axit amin của CDRL2 của CD147_#84 của chuột (r#84)

SEQ ID NO: 54: Trình tự axit amin của CDRL3 của CD147_#84 của chuột (r#84)

SEQ ID NO: 55: Trình tự axit amin của CDRH1 của CD147_#84 của chuột (r#84)

SEQ ID NO: 56: Trình tự axit amin của CDRH2 của CD147_#84 của chuột (r#84)

SEQ ID NO: 57: Trình tự axit amin của CDRH3 của CD147_#84 của chuột (r#84)

SEQ ID NO: 58: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột (r#101)

SEQ ID NO: 59: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột (r#101)

SEQ ID NO: 60: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#101 của chuột (r#101)

SEQ ID NO: 61: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#101 của chuột (r#101)

SEQ ID NO: 62: Trình tự axit amin của CDRL1 của CD147_#101 của chuột (r#101)

SEQ ID NO: 63: Trình tự axit amin của CDRL2 của CD147_#101 của chuột (r#101)

SEQ ID NO: 64: Trình tự axit amin của CDRL3 của CD147_#101 của chuột (r#101)

SEQ ID NO: 65: Trình tự axit amin của CDRH1 của CD147_#101 của chuột (r#101)

SEQ ID NO: 66: Trình tự axit amin của CDRH2 của CD147_#101 của chuột (r#101)

SEQ ID NO: 67: Trình tự axit amin của CDRH3 của CD147_#101 của chuột (r#101)

SEQ ID NO: 68: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột (r#110)

SEQ ID NO: 69: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột (r#110)

SEQ ID NO: 70: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#110 của chuột (r#110)

SEQ ID NO: 71: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#110 của chuột (r#110)

SEQ ID NO: 72: Trình tự axit amin của CDRL1 của CD147_#110 của chuột (r#110)

SEQ ID NO: 73: Trình tự axit amin của CDRL2 của CD147_#110 của chuột (r#110)

SEQ ID NO: 74: Trình tự axit amin của CDRL3 của CD147_#110 của chuột (r#110)

SEQ ID NO: 75: Trình tự axit amin của CDRH1 của CD147_#110 của chuột (r#110)

SEQ ID NO: 76: Trình tự axit amin của CDRH2 của CD147_#110 của chuột (r#110)

SEQ ID NO: 77: Trình tự axit amin của CDRH3 của CD147_#110 của chuột (r#110)

SEQ ID NO: 78: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột (r#131)

SEQ ID NO: 79: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột (r#131)

SEQ ID NO: 80: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#131 của chuột (r#131)

SEQ ID NO: 81: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#131 của chuột (r#131)

SEQ ID NO: 82: Trình tự axit amin của CDRL1 của CD147_#131 của chuột (r#131)

SEQ ID NO: 83: Trình tự axit amin của CDRL2 của CD147_#131 của chuột (r#131)

SEQ ID NO: 84: Trình tự axit amin của CDRL3 của CD147_#131 của chuột (r#131)

SEQ ID NO: 85: Trình tự axit amin của CDRH1 của CD147_#131 của chuột (r#131)

SEQ ID NO: 86: Trình tự axit amin của CDRH2 của CD147_#131 của chuột (r#131)

SEQ ID NO: 87: Trình tự axit amin của CDRH3 của CD147_#131 của chuột (r#131)

SEQ ID NO: 88: ADN bao gồm trình tự ADN mã hóa axit amin của trình tự tín hiệu chuỗi nặng của người và vùng hằng định IgG4PFALA của người

SEQ ID NO: 89: Trình tự nucleotit của chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 90: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 91: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng IgG1 type của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 92: Trình tự axit amin của chuỗi nặng IgG1 type của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 93: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 94: Trình tự axit amin của chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 95: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 96: Trình tự axit amin của chuỗi nặng loại IgG4P của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 97: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng loại IgG1LALA của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 98: Trình tự axit amin của chuỗi nặng loại IgG1LALA của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 99: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng IgG4PFALA type của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 100: Trình tự axit amin của chuỗi nặng IgG4PFALA type của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 101: Trình tự nucleotit của chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 102: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 103: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng IgG2 của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 104: Trình tự axit amin của chuỗi nặng IgG2 của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 105: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng IgG4P của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 106: Trình tự axit amin của chuỗi nặng IgG4P của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 107: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng IgG4PFALA của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 108: Trình tự axit amin của chuỗi nặng IgG4PFALA của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 109: Trình tự nucleotit của chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 110: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 111: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng IgG2 của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 112: Trình tự axit amin của chuỗi nặng IgG2 của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 113: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng IgG4P của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 114: Trình tự axit amin của chuỗi nặng IgG4P của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 115: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng IgG4PFALA của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 116: Trình tự axit amin của chuỗi nặng IgG4PFALA của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 117: Trình tự nucleotit của chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 118: Trình tự axit amin của chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 119: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng IgG2 của CD147_#131 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 120: Trình tự axit amin của chuỗi nặng IgG2 của CD147_#131 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 121: Trình tự nucleotit của chuỗi nặng IgG4P của CD147_#131 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 122: Trình tự axit amin của chuỗi nặng IgG4P của CD147_#131 của chuột thể khảm của người

SEQ ID NO: 123: Trình tự axit amin của #84H1hIgG2

SEQ ID NO: 124: Trình tự nucleotit của #84H1hIgG2

SEQ ID NO: 125: Trình tự axit amin của #84H1hIgG4P

SEQ ID NO: 126: Trình tự nucleotit của #84H1hIgG4P

SEQ ID NO: 127: Trình tự axit amin của #84L2h

SEQ ID NO: 128: Trình tự nucleotit của #84L2h

SEQ ID NO: 129: Trình tự axit amin của #101H1hIgG2

SEQ ID NO: 130: Trình tự nucleotit của #101H1hIgG2

SEQ ID NO: 131: Trình tự axit amin của #101H1hIgG4P

SEQ ID NO: 132: Trình tự nucleotit của #101H1hIgG4P

SEQ ID NO: 133: Trình tự axit amin của #101L2h

SEQ ID NO: 134: Trình tự nucleotit của #101L2h

SEQ ID NO: 135: Trình tự axit amin của #110H1hIgG4P

SEQ ID NO: 136: Trình tự nucleotit của #110H1hIgG4P

SEQ ID NO: 137: Trình tự axit amin của #110L4h

SEQ ID NO: 138: Trình tự nucleotit của #110L4h

SEQ ID NO: 139: Trình tự axit amin của #131H2hIgG2

SEQ ID NO: 140: Trình tự nucleotit của #131H2hIgG2

SEQ ID NO: 141: Trình tự axit amin của #131L2h

SEQ ID NO: 142: Trình tự nucleotit của #131L2h

SEQ ID NO: 143: vùng mu3 của CD147v1 của người

SEQ ID NO: 144: vùng mu3 của CD147 của khỉ cynomolgus

SEQ ID NO: 145: Trình tự axit amin của KLF5 của người

SEQ ID NO: 146: Trình tự nucleotit của KLF5 của người

SEQ ID NO: 147: Trình tự axit amin của #110H13hIgG4P

SEQ ID NO: 148: Trình tự nucleotit của #110H13hIgG4P

SEQ ID NO: 149: Trình tự axit amin của #110L2h

SEQ ID NO: 150: Trình tự nucleotit của #110L2h

SEQ ID NO: 151: Trình tự axit amin của #110L12h

SEQ ID NO: 152: Trình tự nucleotit của #110L12h

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể kháng CD147 của người hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó bao gồm,

a) CDRH1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 45 đến 54 của SEQ ID NO: 135, CDRH2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 69 đến 78 của SEQ ID NO: 135, CDRH3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 118 đến 125 đến SEQ ID NO: 135, CDRL1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 44 đến 54 của SEQ ID NO: 137, CDRL2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 70 đến 76 của SEQ ID NO: 137, và CDRL3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 109 đến 117 của SEQ ID NO: 137;

b) CDRH1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 45 đến 54 của SEQ ID NO: 147, CDRH2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 69 đến 78 của SEQ ID NO: 147, CDRH3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 118 đến 125 của SEQ ID NO: 147, CDRL1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 44 đến 54 của SEQ ID NO: 149, CDRL2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 70 đến 76 của SEQ ID NO: 149, và CDRL3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 109 đến 117 của SEQ ID NO: 149; hoặc

c) CDRH1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 45 đến 54 của SEQ ID NO: 147, CDRH2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 69 đến 78 của SEQ ID NO: 147, CDRH3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 118 đến 125 của SEQ ID NO: 147, CDRL1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 44 đến 54 của SEQ ID NO: 151, CDRL2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 70 đến 76 của SEQ ID NO: 151, và CDRL3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 109 đến 117 của SEQ ID NO: 151.

2. Kháng thể theo điểm 1, trong đó CDRH1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 45 đến 54 của SEQ ID NO: 135, CDRH2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 69 đến 78 của SEQ ID NO: 135, CDRH3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 118 đến 125 của SEQ ID NO: 135, CDRL1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 44 đến 54 của SEQ ID NO: 137, CDRL2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 70 đến 76 của SEQ ID NO: 137, và CDRL3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 109 đến 117 của SEQ ID NO: 137.

3. Kháng thể theo điểm 1, trong đó CDRH1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 45 đến 54 của SEQ ID NO: 147, CDRH2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 69 đến 78 của SEQ ID NO: 147, CDRH3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 118 đến 125 của SEQ ID NO: 147,

CDRL1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 44 đến 54 của SEQ ID NO: 149, CDRL2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 70 đến 76 của SEQ ID NO: 149, và CDRL3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 109 đến 117 của SEQ ID NO: 149.

4. Kháng thể theo điểm 1, trong đó CDRH1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 45 đến 54 của SEQ ID NO: 147, CDRH2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 69 đến 78 của SEQ ID NO: 147, CDRH3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 118 đến 125 của SEQ ID NO: 147, CDRL1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 44 đến 54 của SEQ ID NO: 151, CDRL2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 70 đến 76 của SEQ ID NO: 151, và CDRL3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 109 đến 117 của SEQ ID NO: 151.

5. Kháng thể theo điểm 1, bao gồm:
vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các axit amin ở vị trí từ 20 đến 136 của SEQ ID NO: 135, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các axit amin ở vị trí từ 21 đến 128 của SEQ ID NO: 137.

6. Kháng thể theo điểm 1, bao gồm:
vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các axit amin ở vị trí từ 20 đến 136 của SEQ ID NO: 147, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các axit amin ở vị trí từ 21 đến 128 của SEQ ID NO: 149.

7. Kháng thể theo điểm 1, bao gồm:
vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm các axit amin ở vị trí từ 20 đến 136 của SEQ ID NO: 147, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm các axit amin ở vị trí từ 21 đến 128 của SEQ ID NO: 151.

8. Kháng thể theo điểm 1, trong đó vùng hằng định là vùng hằng định của người.

9. Kháng thể theo điểm 1, bao gồm:
chuỗi nặng bao gồm các axit amin ở vị trí từ 20 đến 463 của SEQ ID NO: 135, và chuỗi nhẹ bao gồm các axit amin ở vị trí từ 21 đến 234 của SEQ ID NO: 137.

10. Kháng thể theo điểm 1, bao gồm:
chuỗi nặng bao gồm các axit amin ở vị trí từ 20 đến 463 của SEQ ID NO: 147, và chuỗi nhẹ bao gồm các axit amin ở vị trí từ 21 đến 234 của SEQ ID NO: 149.

11. Kháng thể theo điểm 1, bao gồm:
chuỗi nặng bao gồm các axit amin ở vị trí từ 20 đến 463 của SEQ ID NO: 147, và chuỗi nhẹ bao gồm các axit amin ở vị trí từ 21 đến 234 của SEQ ID NO: 151.

12. Kháng thể theo điểm 1, bao gồm:
chuỗi nặng bao gồm các axit amin ở vị trí từ 20 đến 461 hoặc các axit amin ở vị trí từ 20 đến 462 của SEQ ID NO: 135, và chuỗi nhẹ bao gồm các axit amin ở vị trí từ 21 đến 234 của SEQ ID NO: 137.

13. Kháng thể theo điểm 1, bao gồm:
chuỗi nặng bao gồm các axit amin ở vị trí từ 20 đến 461 hoặc các axit amin ở vị trí từ 20 đến 462 của SEQ ID NO: 147, và chuỗi nhẹ bao gồm các axit amin ở vị trí từ 21 đến 234 của SEQ ID NO: 149.

14. Kháng thể theo điểm 1, bao gồm:
chuỗi nặng bao gồm các axit amin ở vị trí từ 20 đến 461 hoặc các axit amin ở vị trí từ 20 đến 462 của SEQ ID NO: 147, và chuỗi nhẹ bao gồm các axit amin ở vị trí từ 21 đến 234 của SEQ ID NO: 151.

15. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể có hoạt tính ADCC giảm hoặc không có hoạt tính ADCC.

16. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể có hoạt tính CDC giảm hoặc không có hoạt tính CDC.

17. Kháng thể theo điểm 1, trong đó kháng thể có hoạt tính ADCP giảm hoặc không có hoạt tính ADCP.

18. Polynucleotit mã hóa kháng thể theo điểm 1.

19. Dược phẩm chứa kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 1.

20. Dược phẩm theo điểm 19, dược phẩm này là tác nhân chống khối u.

21. Dược phẩm để điều trị khối u biểu hiện CD147, dược phẩm này chứa kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 1.

22. Dược phẩm để điều trị bệnh ung thư tuyến tụy, ung thư gan, ung thư dạ dày, ung thư kết tràng, ung thư thận, ung thư vú, ung thư tử cung, ung thư buồng trứng, ung thư phổi, u lympho, ung thư tuyến giáp, ung thư da, ung thư đầu và cổ, bệnh sacôm, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư bàng quang, u não, u mô đệm ruột-dạ dày (gastrointestinal stromal tumor - GIST), bệnh bạch cầu, bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (acute myeloid leukemia - AML), bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính (chronic myeloid leukemia - CML), bệnh bạch cầu dòng lympho mạn tính (chronic lymphocytic leukemia - CLL), bệnh bạch cầu dòng lympho cấp tính (acute lymphocytic leukemia - ALL), u lympho ác tính, u lympho tế bào B, u lympho không phải bệnh Hodgkin hoặc u lympho tế bào B lớn lan tỏa (diffuse large B-cell lymphoma - DLBCL), dược phẩm này chứa kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 1.

23. Vectơ biểu hiện bao gồm polynucleotit theo điểm 18.

24. Tế bào chủ biến nạp với vectơ biểu hiện theo điểm 23.

25. Phương pháp sản xuất kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm bước nuôi cấy tế bào chủ với vectơ biểu hiện bao gồm nucleotit mà mã hóa kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 1 và thu gom kháng thể đích hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó từ phần nổi lên trên bề mặt dịch nuôi cấy.

26. Kháng thể kháng CD147 của người hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó dùng để điều trị khối u biểu hiện CD147, kháng thể này hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó bao gồm:

a) CDRH1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 45 đến 54 của SEQ ID NO: 135, CDRH2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 69 đến 78 của SEQ ID NO: 135, CDRH3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 118 đến 125 của SEQ ID NO: 135, CDRL1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 44 đến 54 của SEQ ID NO: 137, CDRL2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 70 đến 76 của SEQ ID NO: 137, và CDRL3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 109 đến 117 của SEQ ID NO: 137;

b) CDRH1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 45 đến 54 của SEQ ID NO: 147, CDRH2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 69 đến 78 của SEQ ID NO: 147, CDRH3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 118 đến 125 của SEQ ID NO: 147, CDRL1 bao gồm các axit amin ở vị trí

từ 44 đến 54 của SEQ ID NO: 149, CDRL2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 70 đến 76 của SEQ ID NO: 149, và CDRL3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 109 đến 117 của SEQ ID NO: 149; hoặc

c) CDRH1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 45 đến 54 của SEQ ID NO: 147, CDRH2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 69 đến 78 của SEQ ID NO: 147, CDRH3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 118 đến 125 của SEQ ID NO: 147, CDRL1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 44 đến 54 của SEQ ID NO: 151, CDRL2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 70 đến 76 của SEQ ID NO: 151, và CDRL3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 109 đến 117 của SEQ ID NO: 151.

27. Kháng thể kháng CD147 của người hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó dùng để điều trị bệnh ung thư tuyến tụy, ung thư gan, ung thư dạ dày, ung thư kết tràng, ung thư thận, ung thư vú, ung thư tử cung, ung thư buồng trứng, ung thư phổi, u lympho, ung thư tuyến giáp, ung thư da, ung thư đầu và cổ, bệnh sacôm, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư bàng quang, u não, u mô đệm ruột-dạ dày (gastrointestinal stromal tumor - GIST), bệnh bạch cầu, bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (acute myeloid leukemia - AML), bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính (chronic myeloid leukemia - CML), bệnh bạch cầu dòng lympho mạn tính (chronic lymphocytic leukemia - CLL), bệnh bạch cầu dòng lympho cấp tính (acute lymphocytic leukemia - ALL), u lympho ác tính, u lympho tế bào B, u lympho không phải bệnh Hodgkin hoặc u lympho tế bào B lớn lan tỏa (diffuse large B-cell lymphoma - DLBCL), kháng thể này hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó bao gồm:

a) CDRH1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 45 đến 54 của SEQ ID NO: 135, CDRH2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 69 đến 78 của SEQ ID NO: 135, CDRH3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 118 đến 125 của SEQ ID NO: 135, CDRL1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 44 đến 54 của SEQ ID NO: 137, CDRL2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 70 đến 76 của SEQ ID NO: 137, và CDRL3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 109 đến 117 của SEQ ID NO: 137;

b) CDRH1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 45 đến 54 của SEQ ID NO: 147, CDRH2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 69 đến 78 của SEQ ID NO: 147, CDRH3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 118 đến 125 của SEQ ID NO: 147, CDRL1 bao gồm các axit amin ở vị trí

từ 44 đến 54 của SEQ ID NO: 149, CDRL2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 70 đến 76 của SEQ ID NO: 149, và CDRL3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 109 đến 117 của SEQ ID NO: 149; hoặc

c) CDRH1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 45 đến 54 của SEQ ID NO: 147, CDRH2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 69 đến 78 của SEQ ID NO: 147, CDRH3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 118 đến 125 của SEQ ID NO: 147, CDRL1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 44 đến 54 của SEQ ID NO: 151, CDRL2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 70 đến 76 của SEQ ID NO: 151, và CDRL3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 109 đến 117 của SEQ ID NO: 151.

28. Kháng thể kháng CD147 của người hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó dùng để điều trị bệnh ung thư tuyến tụy, ung thư gan, ung thư dạ dày, ung thư kết tràng, ung thư thận, bệnh bạch cầu, bệnh bạch cầu dạng tủy cấp tính (acute myeloid leukemia - AML), bệnh bạch cầu dạng tủy mạn tính (chronic myeloid leukemia - CML), bệnh bạch cầu dòng lympho mạn tính (chronic lymphocytic leukemia - CLL), bệnh bạch cầu dòng lympho cấp tính (acute lymphocytic leukemia - ALL), u lympho ác tính, u lympho tế bào B, u lympho không phải bệnh Hodgkin hoặc u lympho tế bào B lớn lan tỏa (diffuse large B-cell lymphoma - DLBCL), kháng thể này hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó bao gồm:

a) CDRH1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 45 đến 54 của SEQ ID NO: 135, CDRH2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 69 đến 78 của SEQ ID NO: 135, CDRH3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 118 đến 125 của SEQ ID NO: 135, CDRL1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 44 đến 54 của SEQ ID NO: 137, CDRL2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 70 đến 76 của SEQ ID NO: 137, và CDRL3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 109 đến 117 của SEQ ID NO: 137;

b) CDRH1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 45 đến 54 của SEQ ID NO: 147, CDRH2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 69 đến 78 của SEQ ID NO: 147, CDRH3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 118 đến 125 của SEQ ID NO: 147, CDRL1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 44 đến 54 của SEQ ID NO: 149, CDRL2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 70 đến 76 của SEQ ID NO: 149, và CDRL3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 109 đến 117 của SEQ ID NO: 149; hoặc

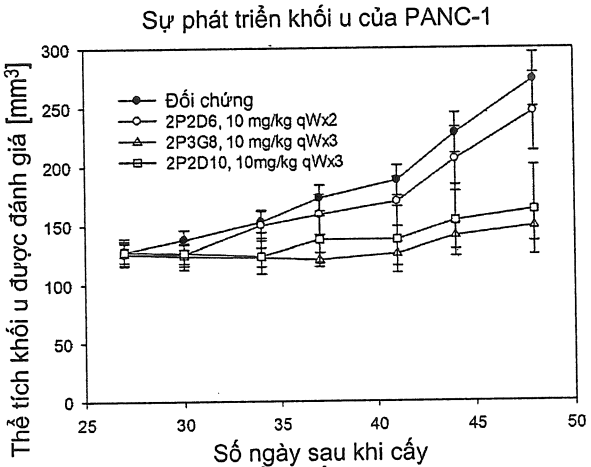
c) CDRH1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 45 đến 54 của SEQ ID NO: 147, CDRH2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 69 đến 78 của SEQ ID NO: 147, CDRH3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 118 đến 125 của SEQ ID NO: 147, CDRL1 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 44 đến 54 của SEQ ID NO: 151, CDRL2 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 70 đến 76 của SEQ ID NO: 151, và CDRL3 bao gồm các axit amin ở vị trí từ 109 đến 117 của SEQ ID NO: 151.

29. Phức hợp kháng thể-dược chất bao gồm kháng thể hoặc đoạn liên kết kháng nguyên của nó theo điểm 1 liên hợp với dược chất khác.

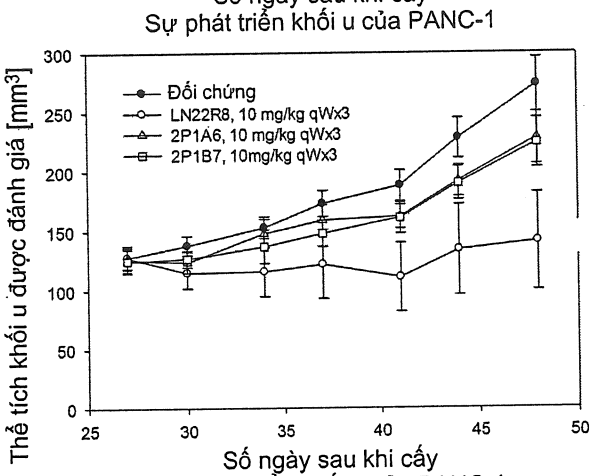
30. Kháng thể hai giá bao gồm: đoạn liên kết kháng nguyên của kháng thể theo điểm 1 và đoạn liên kết kháng nguyên mà liên kết với kháng nguyên không phải là CD147.

Fig.1

(a)


Sự phát triển khối u của PANC-1
Đối chứng
2P2D6, 10 mg/kg qWx2
2P3G8, 10 mg/kg qWx3
2P2D10, 10mg/kg qWx3
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy

(b)


Sự phát triển khối u của PANC-1
Đối chứng
LN22R8, 10 mg/kg qWx3
2P1A6, 10 mg/kg qWx3
2P1B7, 10mg/kg qWx3
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy

(c)

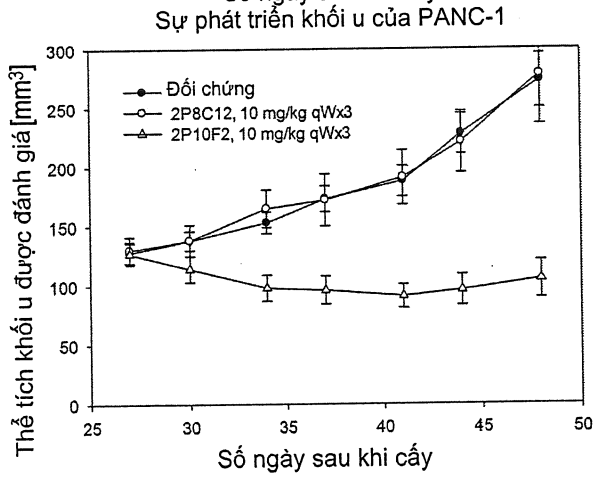

Sự phát triển khối u của PANC-1
Đối chứng
2P8C12, 10 mg/kg qWx3
2P10F2, 10 mg/kg qWx3
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy

Fig.2-1

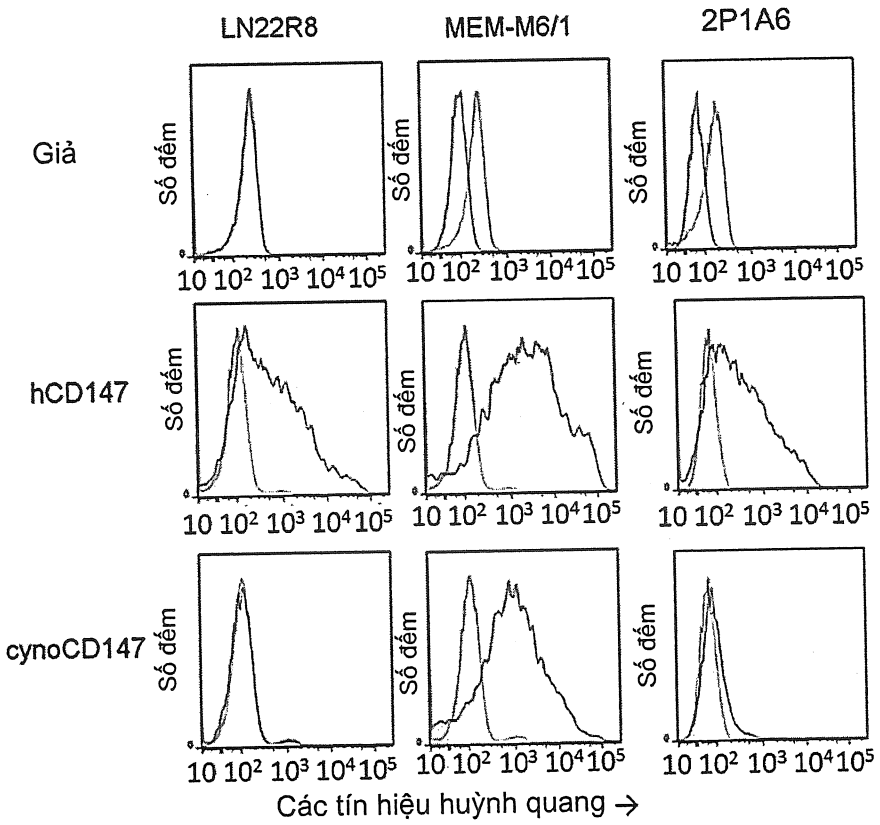

LN22R8
MEM-M6/1
2P1A6
Giả
hCD147
cynoCD147
Số đếm
10 10² 10³ 10⁴ 10⁵
Các tín hiệu huỳnh quang →

Fig.2-2

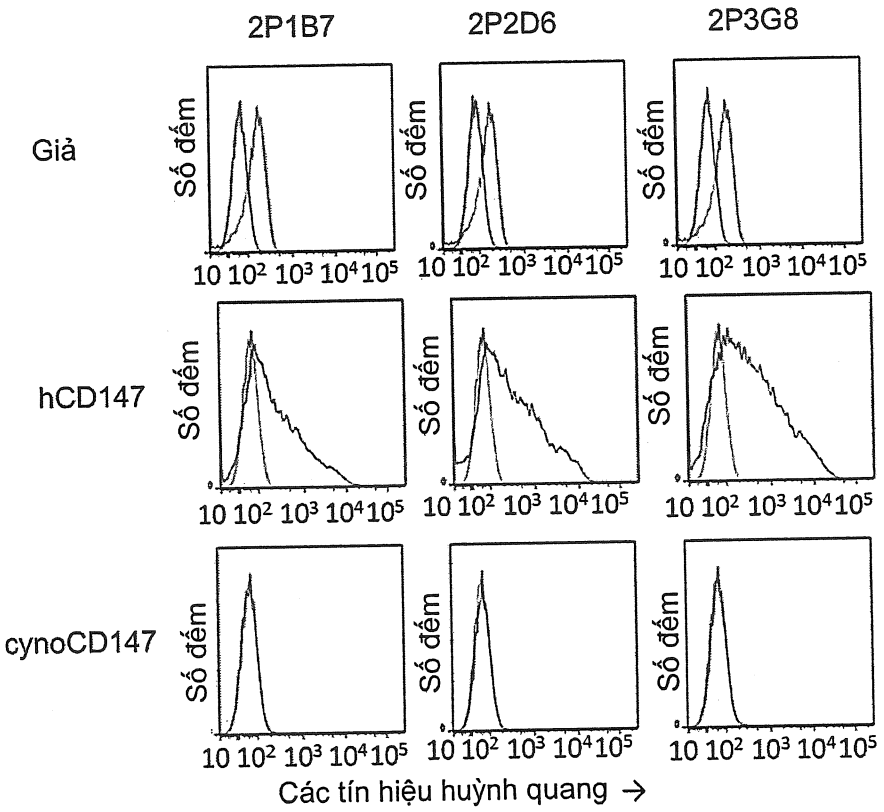

2P1B7
2P2D6
2P3G8
Giả
hCD147
cynoCD147
Số đếm
10 10² 10³ 10⁴ 10⁵
Các tín hiệu huỳnh quang →

Fig.2-3

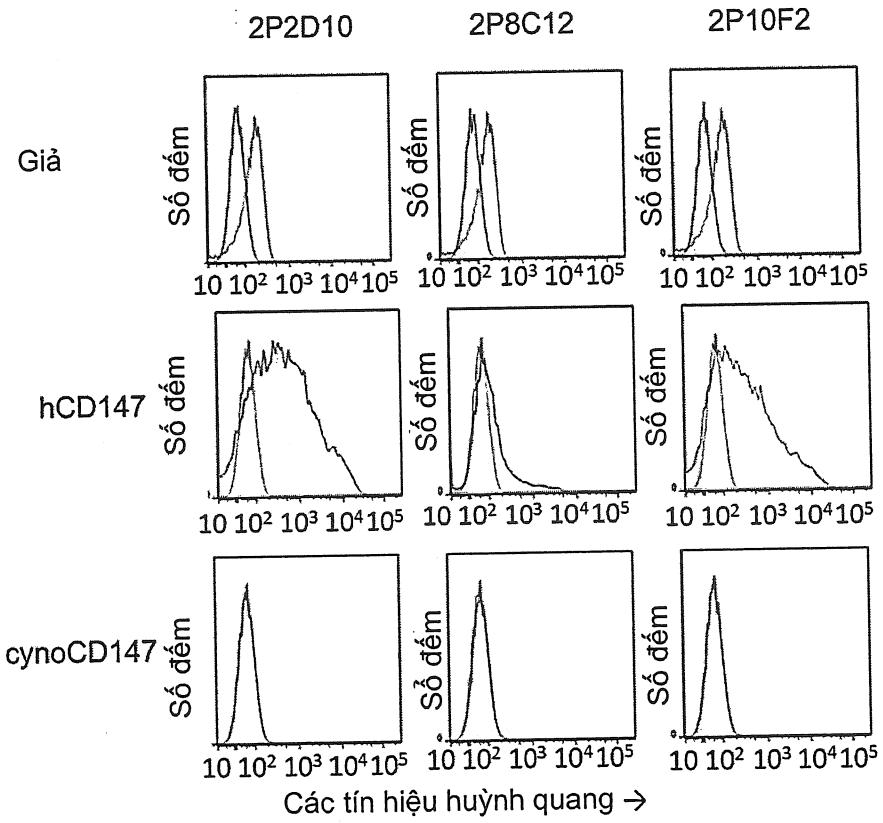

2P2D10
2P8C12
2P10F2
Giả
hCD147
cynoCD147
Số đếm
10 10² 10³ 10⁴ 10⁵
Các tín hiệu huỳnh quang →

Fig.3

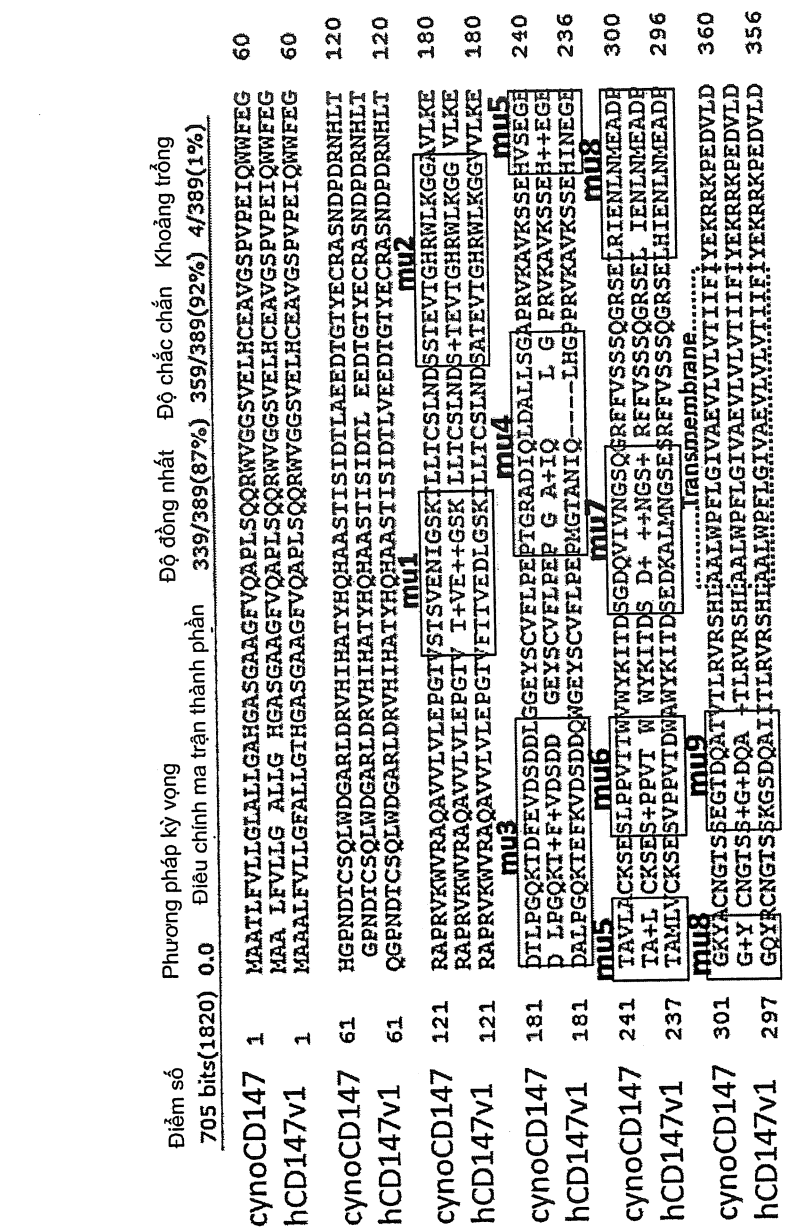

Điểm số
Phương pháp kỳ vọng
Độ đồng nhất
Độ chắc chắn
Khoảng trống
705 bits(1820)
0.0
Điều chỉnh ma trận thành phần
339/389(87%)
359/389(92%)
4/389(1%)
cynoCD147
hCD147v1
mu1
mu2
mu3
mu4
mu5
mu6
mu7
mu8
mu9
transmembrane

Fig.4-1

SEQ ID NO: 7: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của LN22R8
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCTTATCTGCCTCTCTGGGAGAAAGAGTCAGTCTCACTTGTCGGGCAAGTCTGGAAATT
AGTGGTTTCTTAAGTTGGCTTCAGCAGAAACCAGATGGAACTATTAAACGCCTGATCTACGCCGCATCCATTTTAGATTCTGGTGTC
CCAAAAAGGTTCAGTGGCAGTAGGTCTGGGTCAGATTATTCTCTCACCATCAGCAGCCTTGAGTCTGAAGATTTTGCAGACTATTAC
TGTCTACAATATGCTAGTTATCCGTGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAACGG

SEQ ID NO: 8: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của LN22R8 (mỗi vùng CDR được gạch chân)
DIQMTQSPSSLSASLGERVSLTCRASLEISGFLSWLQQKPDGTIKRLIYAASILDSGVPKRFSGSRSGSDYSLTISSLESEDFADYY
CLQYASYPWTFGGGTKLEIKR

SEQ ID NO: 11: Trình tự axit amin của CDRL1 của LN22R8
RASLEISGFLS

SEQ ID NO: 12: Trình tự axit amin của CDRL2 của LN22R8
AASILDS

SEQ ID NO: 13: Trình tự axit amin của CDRL3 của LN22R8
LQYASYPWT

Fig.4-2

SEQ ID NO: 9: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nặng của LN22R8
CAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGGTATACCTTC
ACAAACTATGGAATGAACTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCA
ACATATGCTGATGACTTCAAGGGACGGTTTGCCTTCTCTTTGGAAACCTCTGCCAGCACTGCCTATTTGCAGATCAACAACCTCAAA
AATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCAAGAGGGGGGTATGGTAACTACGGGGCGGGGGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGTACC
TCAGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 10: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của LN22R8 (mỗi vùng CDR được gạch chân)
QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLK
NEDTATYFCARGGYGNYGAGAMDYWGQGTSVTVSS

SEQ ID NO: 14: Trình tự axit amin của CDRH1 của LN22R8
GYTFTNYGMN

SEQ ID NO: 15: Trình tự axit amin của CDRH2 của LN22R8
WINTYTGEPT

SEQ ID NO: 16: Trình tự axit amin của CDRH3 của LN22R8
GGYGNYGAGAMDY

Fig.5-1

SEQ ID NO: 17: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của 2P10F2
GACATCCAGATGACACAGTCTCCAGCTTCCCTGTCTGCATCTCTGGGAGAAACTGTCTCCATCGAATGTCTTGCAAGTGAGGGCATT
TCCAATAGTTTAGCGTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGAAATCTCCTCAGCTCCTGATCTATGGTGCAAGTAGCTTGCAAGACGGGGTC
CCATCACGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGCACACAGTATTCTCTCAAGATCAGCGGCATGCAACCTGAAGATGAAGGGGTTTATTAC
TGTCAACAGGGTTACAAGTATCCATTCACGTTCGGCTCAGGGACGAAGTTGGAAATAAAACGG

SEQ ID NO: 18: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của 2P10F2 (mỗi vùng CDR được gạch chân)
DIQMTQSPASLSASLGETVSIECLASEGISNSLAWYQQKPGKSPQLLIYGASSLQDGVPSRFSGSGSGTQYSLKISGMQPEDEGVYY
CQQGYKYPFTFGSGTKLEIKR

SEQ ID NO: 21: Trình tự axit amin của CDRL1 của 2P10F2
LASEGISNSLA

SEQ ID NO: 22: Trình tự axit amin của CDRL2 của 2P10F2
GASSLQD

SEQ ID NO: 23: Trình tự axit amin của CDRL3 của 2P10F2
QQGYKYPFT

Fig.5-2

SEQ ID NO: 19: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nặng của 2P10F2
GAGGTGCAGCTTCAGGAGTCAGGACCTGGCCTTGTGAAACCCTCACAGTCACTCTCCCTCACCTGTTCTGTCACTGGTTACTCCATC
ACTAGTAATTACTGGGGCTGGATCCGGAAGTTCCCAGGAAATAAAATGGAGTGGATGGGATGCATAACCTACAGTGGTGGCACTAGC
TACAACCCATCTCTCAAAAGTCGAATCTCCATTACTAGAGACACATCAAAGAATCAGTTCTTCCTGCAGTTGAACTCTGTAACTACT
GAGGACACAGCCACATATTACTGTGCAAGTTCCTATACCAGTGGTGACGTCGATTACTGGGGCCAAGGAGTCATGGTCACAGTCTCC
TCA

SEQ ID NO: 20: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của 2P10F2 (mỗi vùng CDR được gạch chân)
EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSNYWGWIRKFPGNKMEWMGCITYSGGTSYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTT
EDTATYYCASSYTSGDVDYWGQGVMVTVSS

SEQ ID NO: 24: Trình tự axit amin của CDRH1 của 2P10F2
GYSITSNYWG

SEQ ID NO: 25: Trình tự axit amin của CDRH2 của 2P10F2
CITYSGGTS

SEQ ID NO: 26: Trình tự axit amin của CDRH3 của 2P10F2
SYTSGDVDY

Fig.6

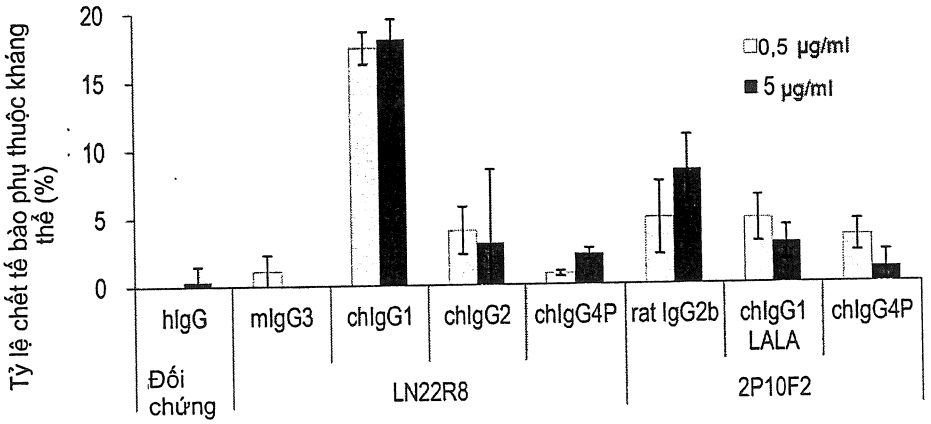

Tỷ lệ chết tế bào phụ thuộc kháng thể (%)
20
15
10
5
0
□0,5 µg/ml
■5 µg/ml
hIgG
mIgG3
chIgG1
chIgG2
chIgG4P
rat IgG2b
chIgG1 LALA
chIgG4P
Đối chứng
LN22R8
2P10F2

Fig.7

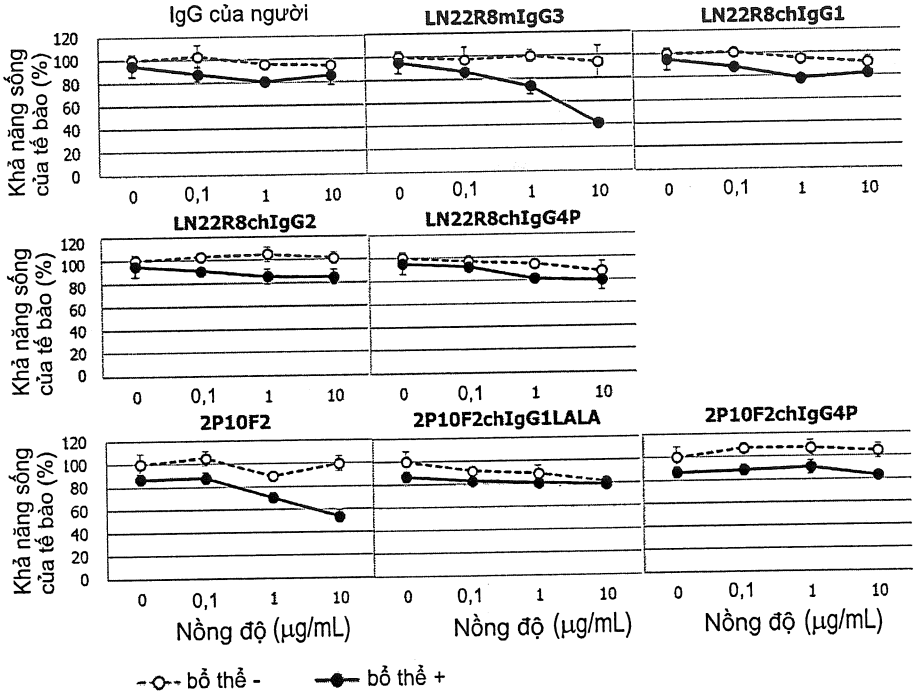
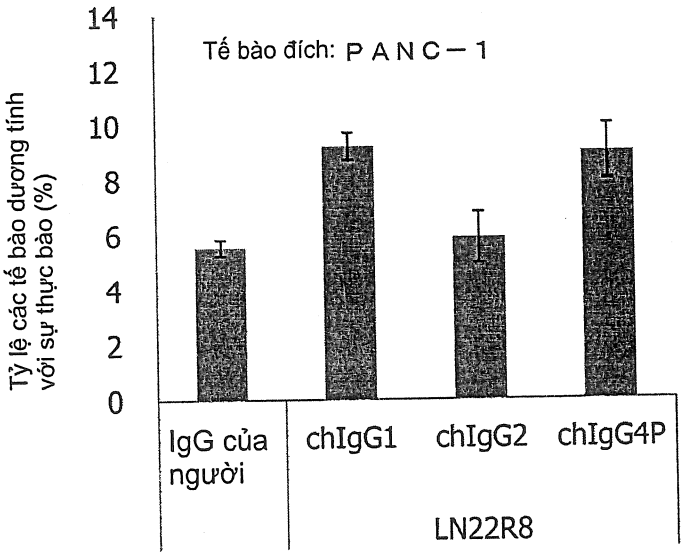

IgG của người
LN22R8mIgG3
LN22R8chIgG1
LN22R8chIgG2
LN22R8chIgG4P
2P10F2
2P10F2chIgG1LALA
2P10F2chIgG4P
Khả năng sống của tế bào (%)
120
100
80
60
40
20
0
0
0,1
1
10
Nồng độ (µg/mL)
bổ thể -
bổ thể +

Fig.8

(a)


Tế bào đích: PANC−1
Tỷ lệ các tế bào dương tính với sự thực bào (%)
14
12
10
8
6
4
2
0
IgG của người
chIgG1
chIgG2
chIgG4P
LN22R8

(b)

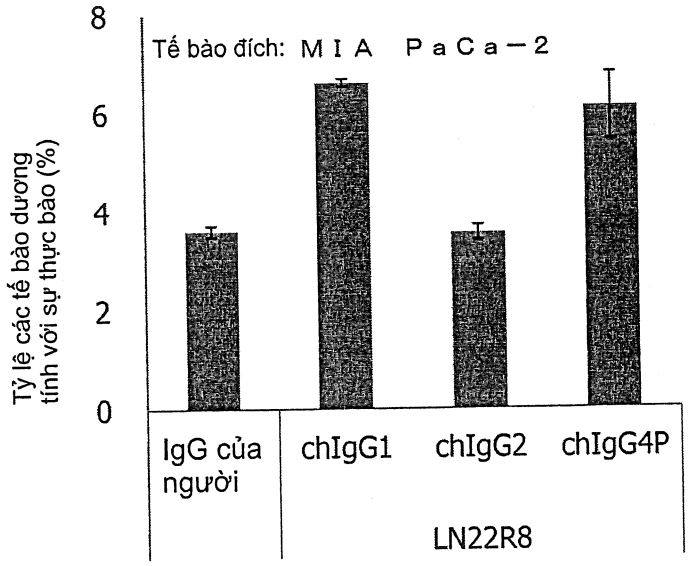

Tế bào đích: MIA PaCa−2
Tỷ lệ các tế bào dương tính với sự thực bào (%)
8
6
4
2
0
IgG của người
chIgG1
chIgG2
chIgG4P
LN22R8

Fig.9-1

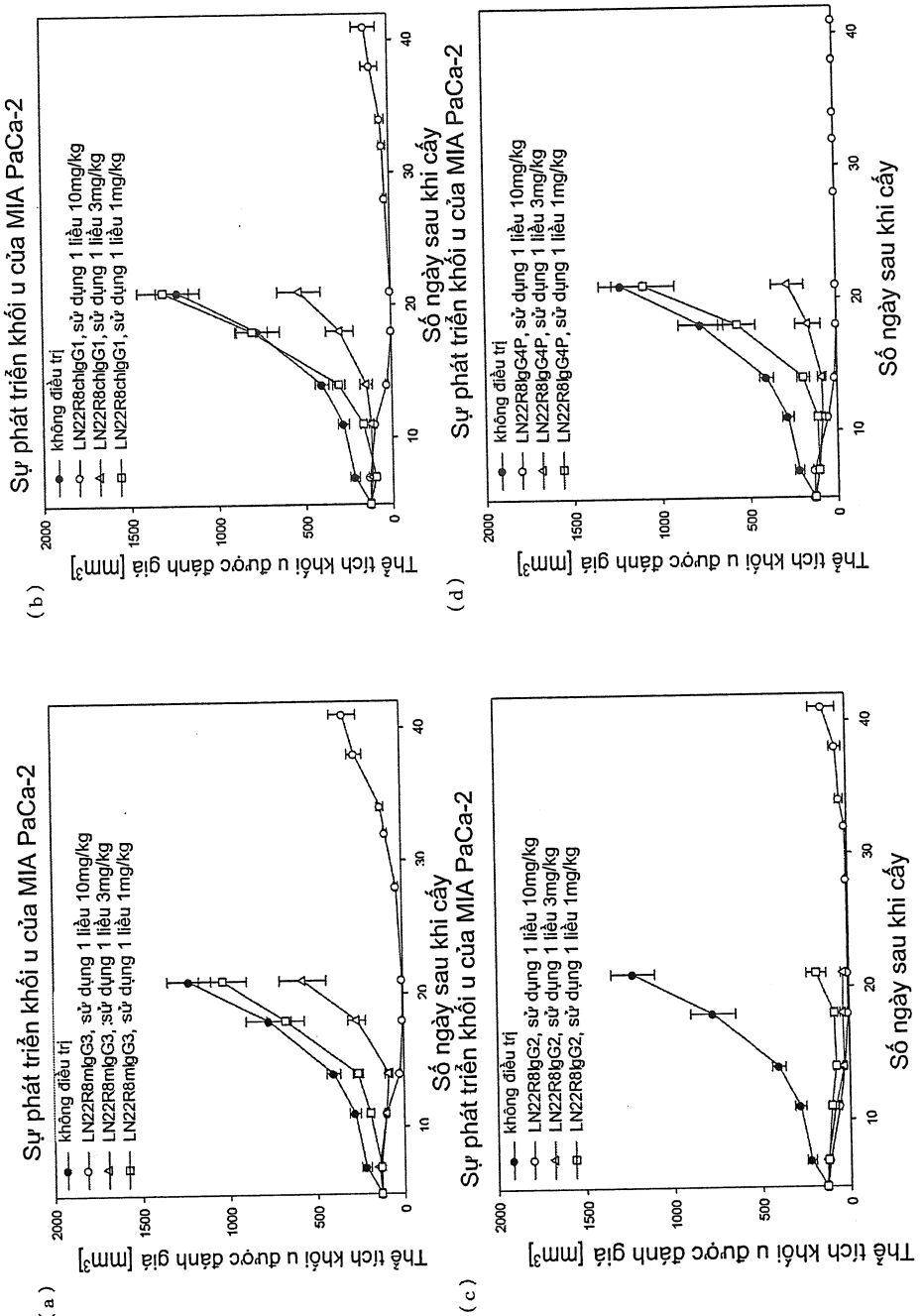

(a)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
LN22R8mIgG3, sử dụng 1 liều 10mg/kg
LN22R8mIgG3, sử dụng 1 liều 3mg/kg
LN22R8mIgG3, sử dụng 1 liều 1mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
(b)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
LN22R8chIgG1, sử dụng 1 liều 10mg/kg
LN22R8chIgG1, sử dụng 1 liều 3mg/kg
LN22R8chIgG1, sử dụng 1 liều 1mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
(c)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
LN22R8IgG2, sử dụng 1 liều 10mg/kg
LN22R8IgG2, sử dụng 1 liều 3mg/kg
LN22R8IgG2, sử dụng 1 liều 1mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
(d)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
LN22R8IgG4P, sử dụng 1 liều 10mg/kg
LN22R8IgG4P, sử dụng 1 liều 3mg/kg
LN22R8IgG4P, sử dụng 1 liều 1mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy

Fig.9-2

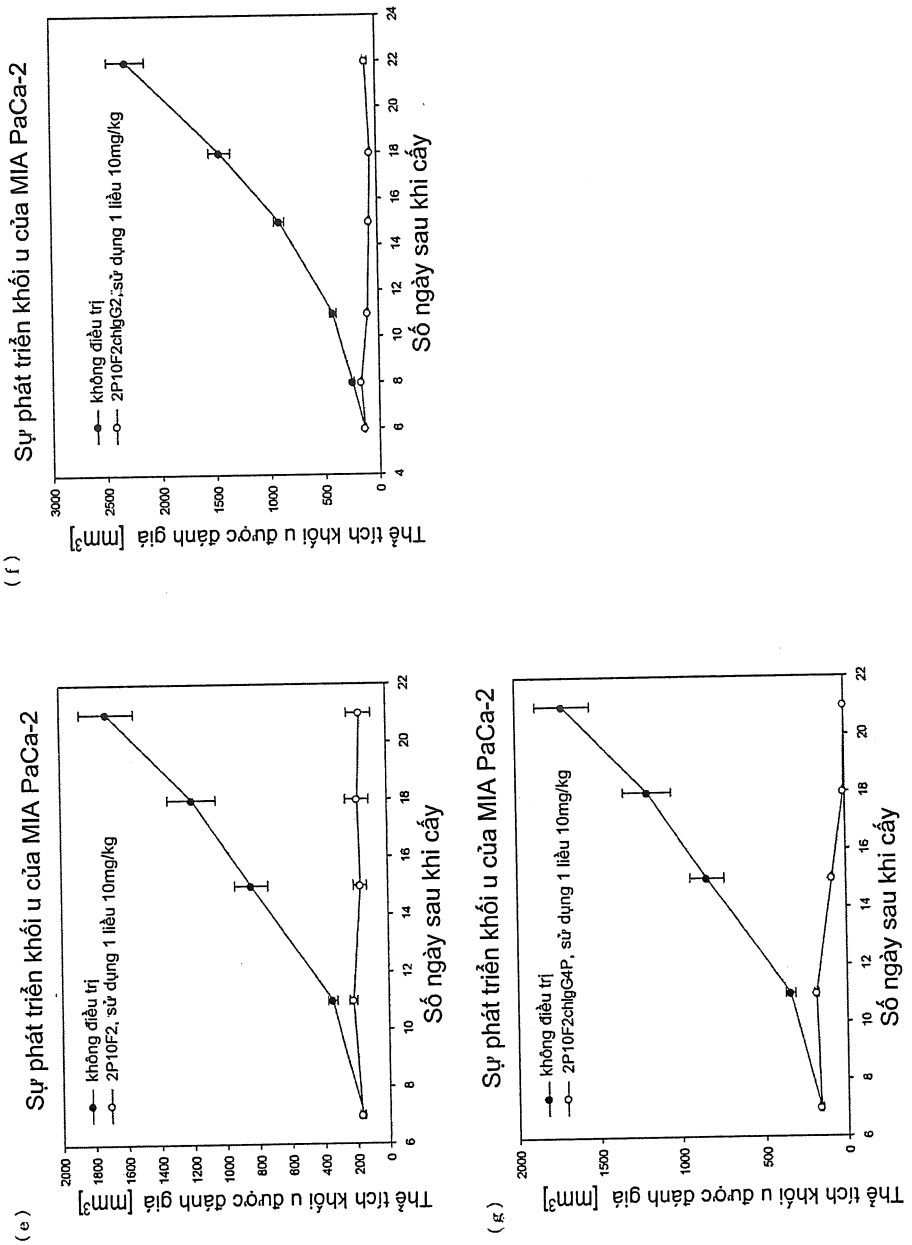

(e)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
2P10F2, sử dụng 1 liều 10mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
(f)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
2P10F2chIgG2, sử dụng 1 liều 10mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
(g)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
2P10F2chIgG4P, sử dụng 1 liều 10mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy

Fig.10

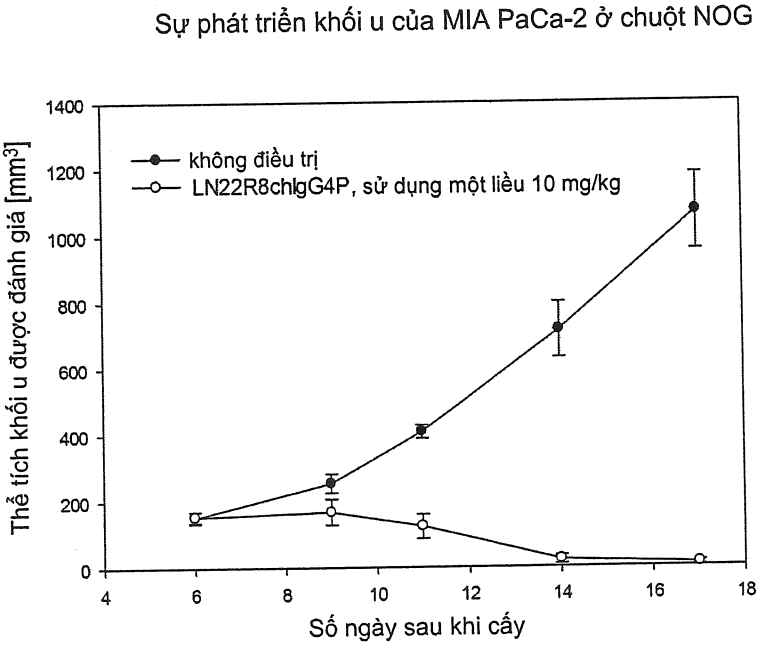

Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2 ở chuột NOG
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
4
6
8
10
12
14
16
18
Số ngày sau khi cấy
không điều trị
LN22R8chIgG4P, sử dụng một liều 10 mg/kg

Fig.11

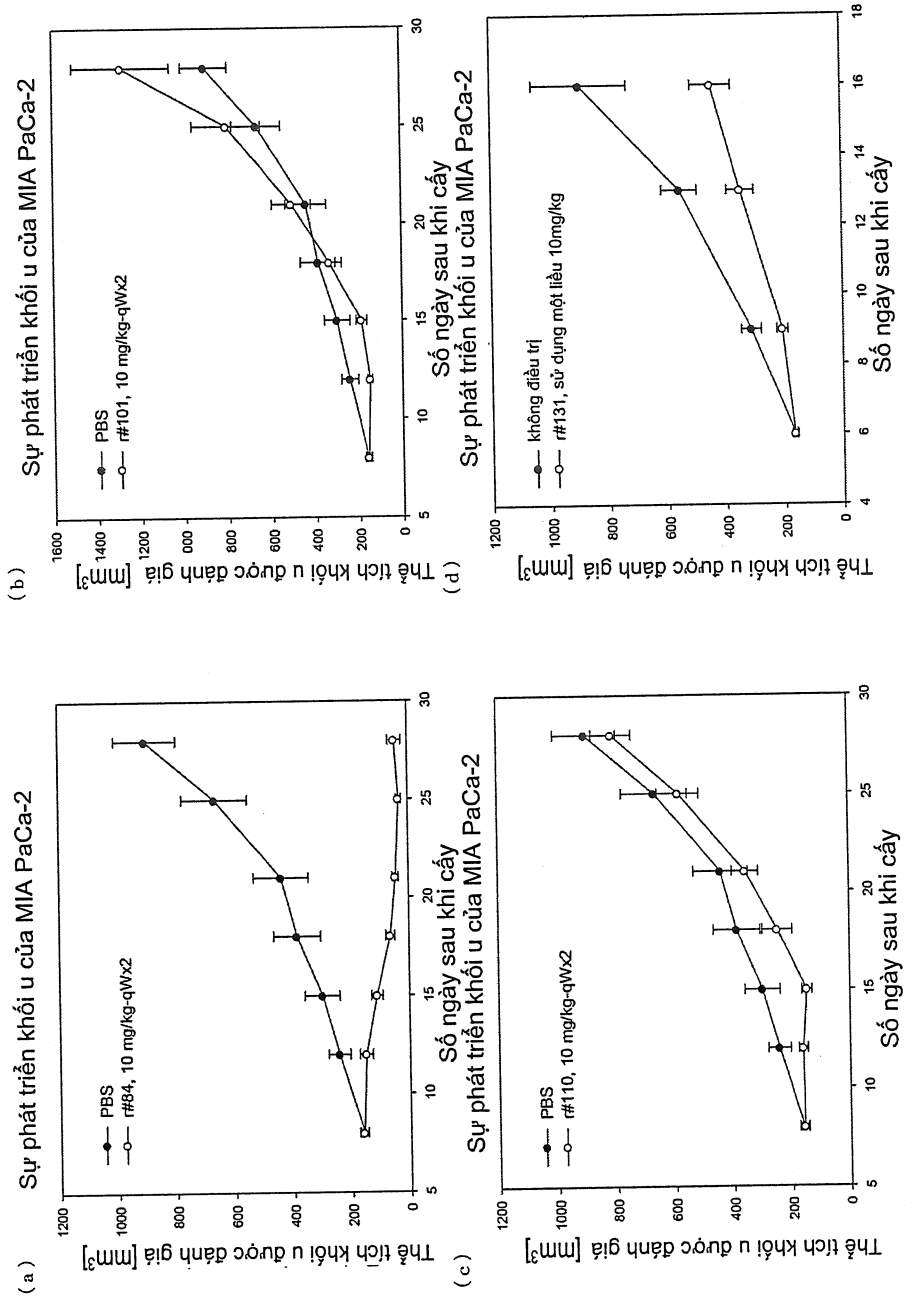

(a)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
PBS
r#84, 10 mg/kg-qWx2
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
(b)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
PBS
r#101, 10 mg/kg-qWx2
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
(c)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
PBS
r#110, 10 mg/kg-qWx2
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
(d)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
r#131, sử dụng một liều 10mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy

Fig.12

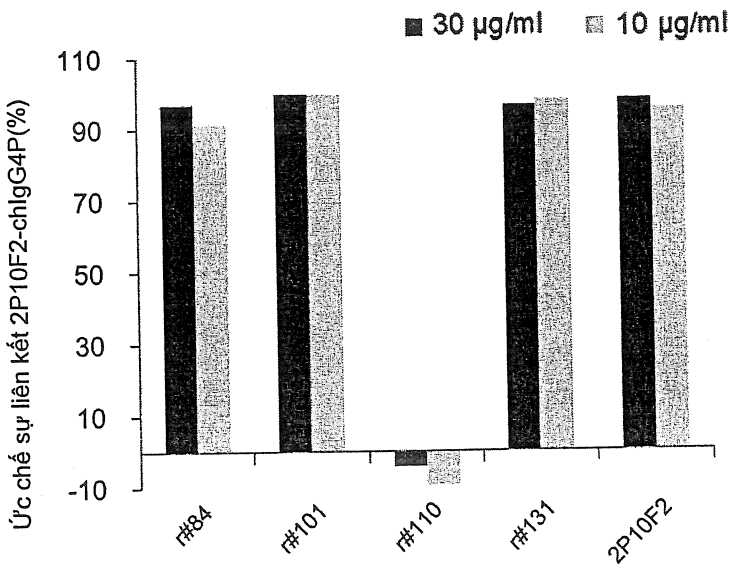

30 µg/ml
10 µg/ml
Ức chế sự liên kết 2P10F2-chIgG4P(%)
110
90
70
50
30
10
-10
r#84
r#101
r#110
r#131
2P10F2

Fig.13-1

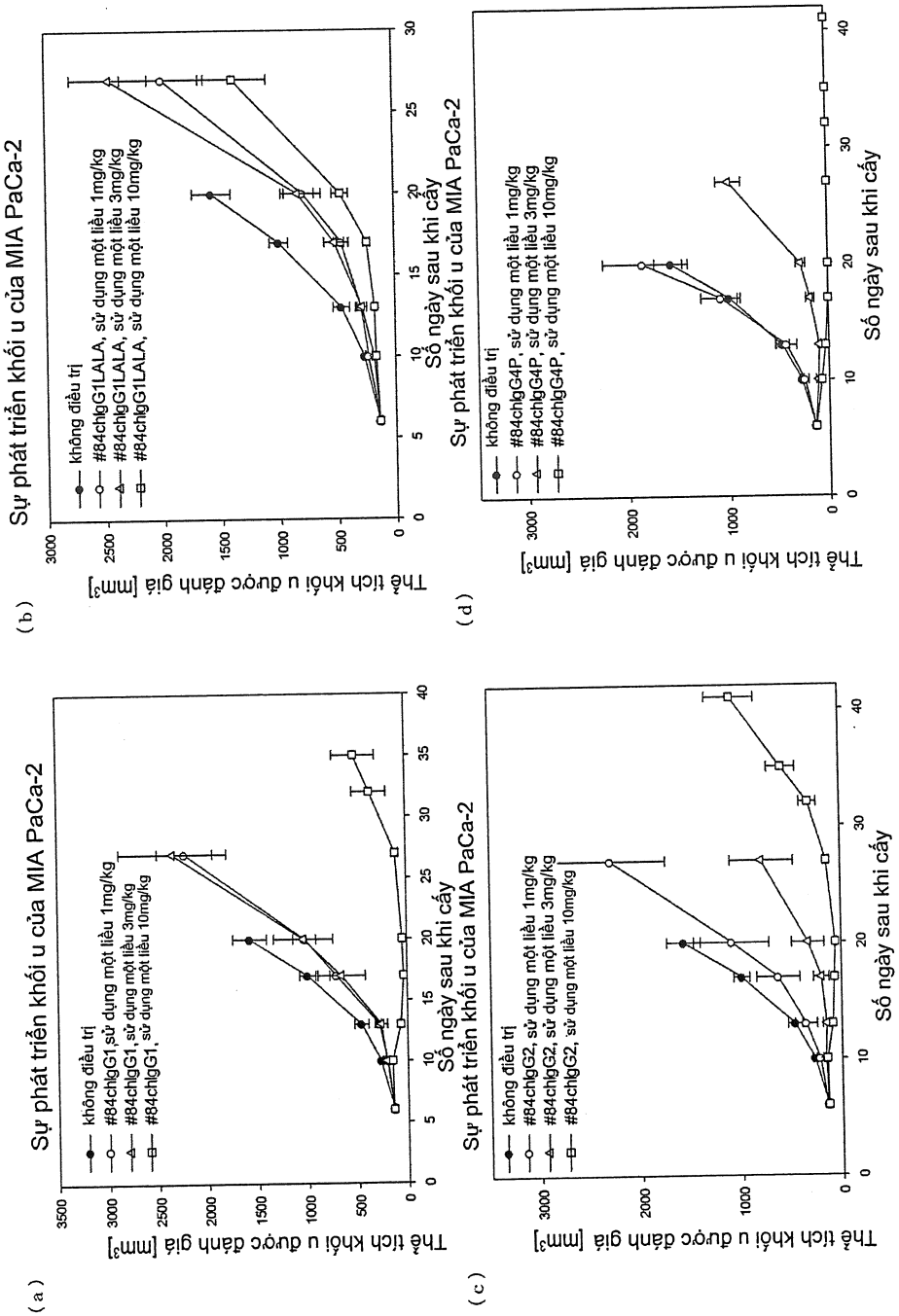

(a)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
#84chIgG1,sử dụng một liều 1mg/kg
#84chIgG1, sử dụng một liều 3mg/kg
#84chIgG1, sử dụng một liều 10mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
(b)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
#84chIgG1LALA, sử dụng một liều 1mg/kg
#84chIgG1LALA, sử dụng một liều 3mg/kg
#84chIgG1LALA, sử dụng một liều 10mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
(c)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
#84chIgG2, sử dụng một liều 1mg/kg
#84chIgG2, sử dụng một liều 3mg/kg
#84chIgG2, sử dụng một liều 10mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
(d)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
#84chIgG4P, sử dụng một liều 1mg/kg
#84chIgG4P, sử dụng một liều 3mg/kg
#84chIgG4P, sử dụng một liều 10mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy

Fig.13-2

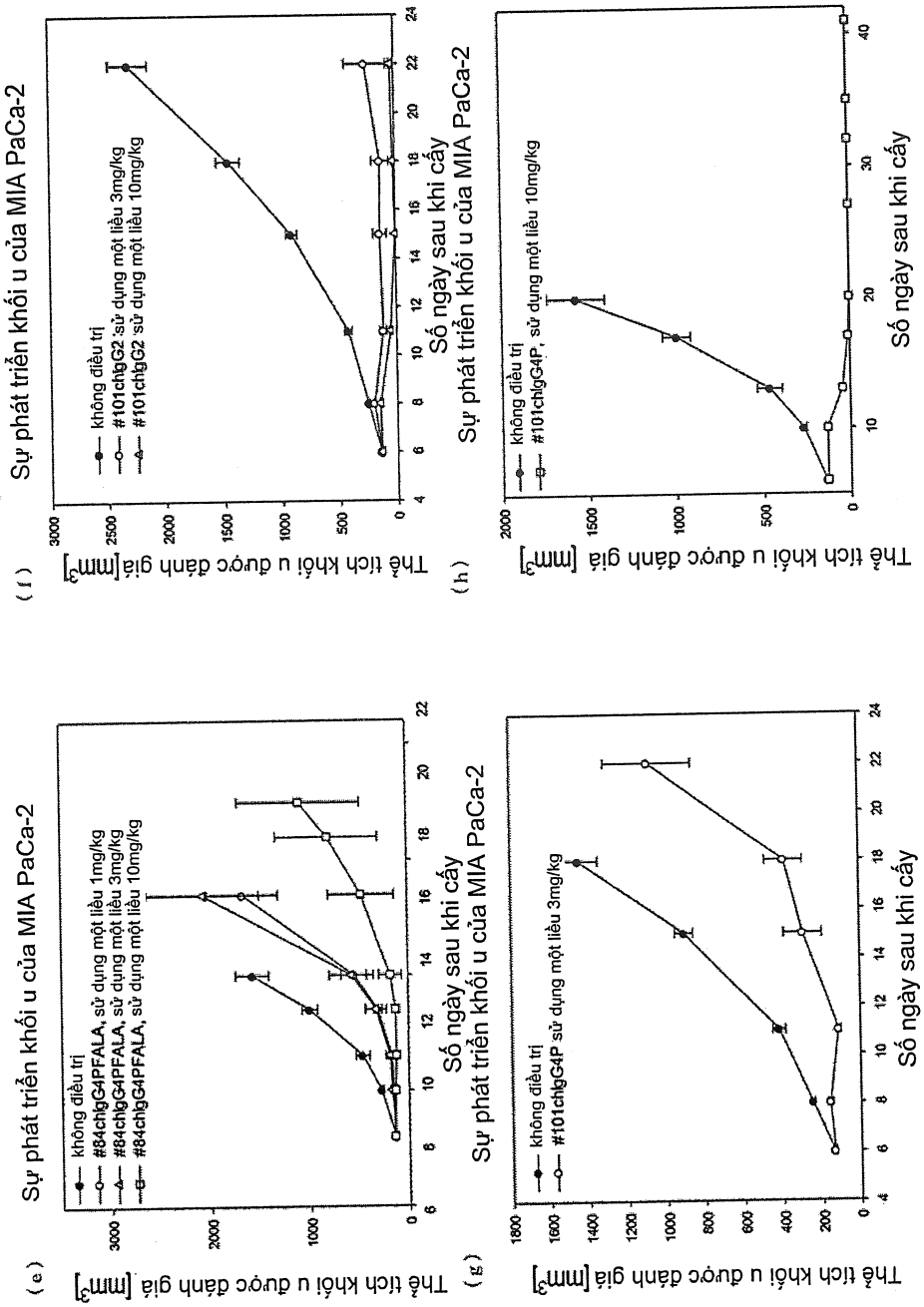

(e)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
#84chIgG4PFALA, sử dụng một liều 1mg/kg
#84chIgG4PFALA, sử dụng một liều 3mg/kg
#84chIgG4PFALA, sử dụng một liều 10mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
(f)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
#101chIgG2, sử dụng một liều 3mg/kg
#101chIgG2, sử dụng một liều 10mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
(g)
không điều trị
#101chIgG4P sử dụng một liều 3mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
(h)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
#101chIgG4P, sử dụng một liều 10mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy

Fig.13-3

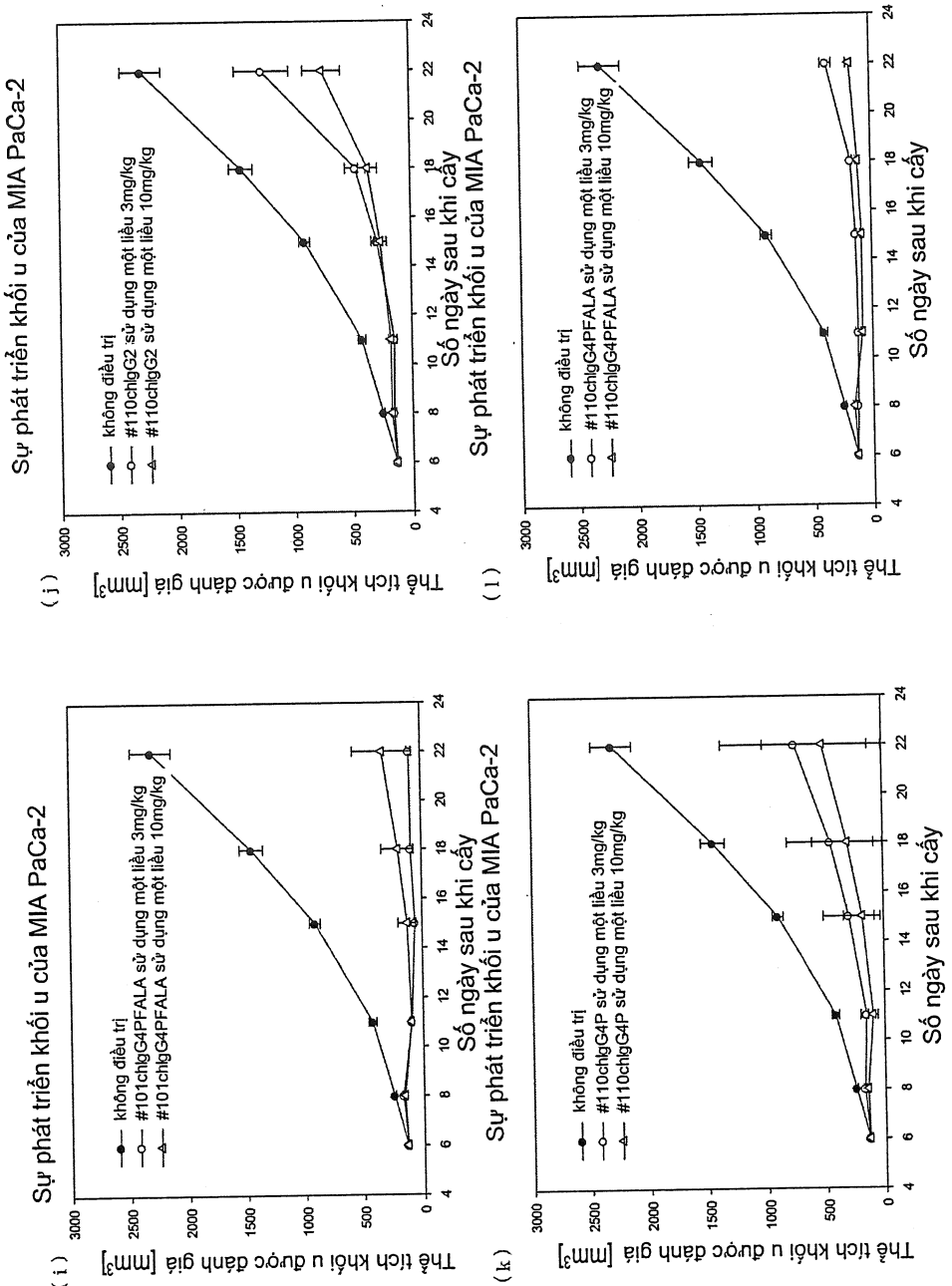
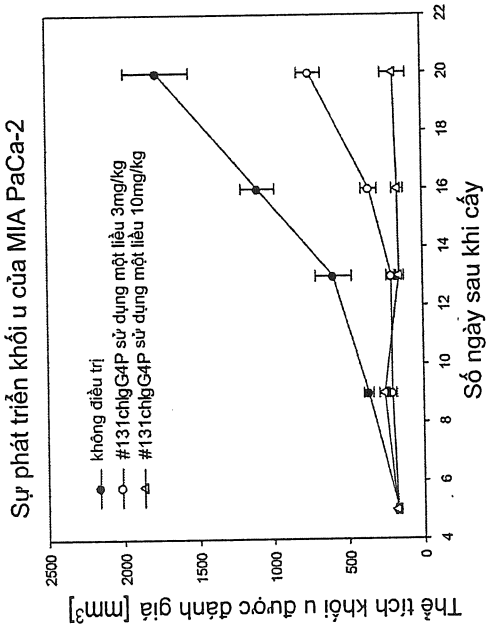

(i)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
Thể tích khối u được đánh giá [mm³]
Số ngày sau khi cấy
không điều trị
#101chIgG4PFALA sử dụng một liều 3mg/kg
#101chIgG4PFALA sử dụng một liều 10mg/kg
(j)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
Thể tích khối u được đánh giá [mm³]
Số ngày sau khi cấy
không điều trị
#110chIgG2 sử dụng một liều 3mg/kg
#110chIgG2 sử dụng một liều 10mg/kg
(k)
Thể tích khối u được đánh giá [mm³]
Số ngày sau khi cấy
không điều trị
#110chIgG4P sử dụng một liều 3mg/kg
#110chIgG4P sử dụng một liều 10mg/kg
(l)
Thể tích khối u được đánh giá [mm³]
Số ngày sau khi cấy
không điều trị
#110chIgG4PFALA sử dụng một liều 3mg/kg
#110chIgG4PFALA sử dụng một liều 10mg/kg

Fig.13-4

(n)


Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
#131chIgG4P sử dụng một liều 3mg/kg
#131chIgG4P sử dụng một liều 10mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
0
500
1000
1500
2000
2500
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22

(m)

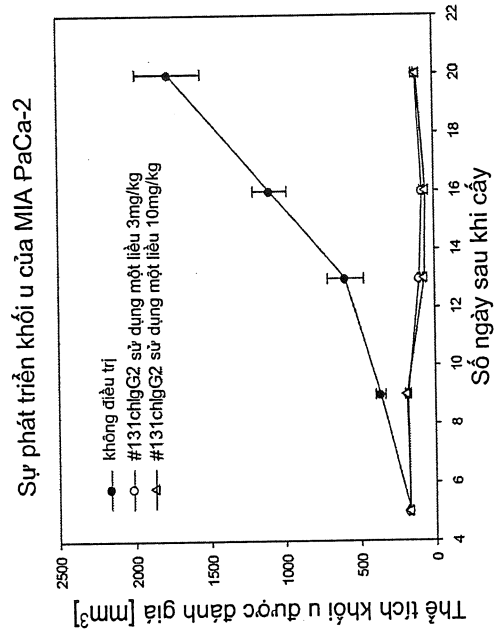

Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
#131chIgG2 sử dụng một liều 3mg/kg
#131chIgG2 sử dụng một liều 10mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
0
500
1000
1500
2000
2500
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22

Fig.14

(a) Thiết kế của vùng biến đổi của #84H1h

```
rat_CD147_#84 HC   1 EVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPKKGLEWVATITTSGSRPYY 60
#84H1h             1 ..............G..R.....................G......S..........  60

rat_CD147_#84 HC  61 PDSVKGRFTISRDNAKSSLYLQMNSLKSEDTATYYCARHIYYYDGYPFAYWGQGTLVTVS 120
#84H1h            61 A............S.NT........RA....V.........................  120

rat_CD147_#84 HC 121 S                                                         121
#84H1h           121 .                                                         121
```

(b) Thiết kế của vùng biến đổi của #84L2h

```
rat_CD147_#84 LC   1 DVQMTQSPSYLAASPGESVSISCKASKSISNNLAWYQEKPGKANKLLIHSGSTLQSGTPS 60
#84L2h             1 .........S.S..V.DR.T.T..............Q.....................  60

rat_CD147_#84 LC  61 RFSGSGSGTDFTLTIRSLEFEDFAVYYCQQYNEYPLTFGSGTKLEIKR              108
#84L2h            61 ..............S..QP....T..............Q...V....              108
```

Fig.15

(a) Thiết kế của vùng biến đổi của #101H1h

```
rat_CD147_#101 HC   1 EVQLVESDGGLVQPGRSLKLSCAASGFTFSDYYMAWVRQAPTKGLEWVATISYDGSNTYY 60
#101H1h             1 .......G..........R.....................G.................  60

rat_CD147_#101 HC  61 RDSVKGRFTISRDNAKSTLYLQMDSLRSGDTATYYCARFYNNYYFDYWGQGVMVTVSS   118
#101H1h            61 .............S........N...A....V..................TL.....   118
```

(b) Thiết kế của vùng biến đổi của #101L2h

```
rat_CD147_#101 LC   1 DIQMTQSPSLLSASVGGRITLNCKASQNLYKNLAWYQQKLGEAPKLLIDNANSLQTGIPS 60
#101L2h             1 .........S......D.V.I.................P.K.................  60

rat_CD147_#101 LC  61 RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYFCQQYYSGSYTFGAGTKLELKR              108
#101L2h            61 .....................F..............Q...V.I..              108
```

Fig.16

(a) Thiết kế của vùng biến đổi của #110H1h

```
rat_CD147_#110 HC   1 QVQLQQSGAELVKPGSSVKISCKASGYTFTSDFMHWIKQQPGNGLEWIGWIYPGDGDTEY 60
#110H1h             1 ....V.....VK...A...V.................VR.A..Q....M..... 60

rat_CD147_#110 HC  61 NQKFNGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGRGYVMDAWGQGASVTVSS 117
#110H1h            61 ....Q.RV...R.T.I.....E..R.R.D.T...Y..............TT..... 117
```

(b) Thiết kế của vùng biến đổi của #110H13h

```
rat_CD147_#110 HC   1 QVQLQQSGAELVKPGSSVKISCKASGYTFTSDFMHWIKQQPGNGLEWIGWIYPGDGDTEY 60
#110H13h            1 ....V.....VK...A...V.................VR.A..Q....M..... 60

rat_CD147_#110 HC  61 NQKFNGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGRGYVMDAWGQGASVTVSS 117
#110H13h           61 A...Q.RV.M.R.T.I.....E..R.R.D.T...Y..............TT..... 117
```

(c) Thiết kế của vùng biến đổi của #110L4h

```
rat_CD147_#110 LC   1 DIQMTQTPSSMPASLGERVTISCRASQGISNYLNWYQQKPDGTIKPLIYYTSNLQSGVPS 60
#110L4h             1 ......S...LS..V.D....T.................GKA..................... 60

rat_CD147_#110 LC  61 RFSGSGSGTDYSLTISSLEPEDFAMYFCQQYDSSPRTFGGGTKLELKR 108
#110L4h            61 ...........T......Q.....T.....................V.I.. 108
```

(d)Thiết kế của vùng biến đổi của #110L2h

```
rat_CD147_#110 LC   1 DIQMTQTPSSMPASLGERVTISCRASQGISNYLNWYQQKPDGTIKPLIYYTSNLQSGVPS 60
#110L2h             1 ......S...LS..V.D....T.................GKAP.................... 60

rat_CD147_#110 LC  61 RFSGSGSGTDYSLTISSLEPEDFAMYFCQQYDSSPRTFGGGTKLELKR 108
#110L2h            61 ...........T......Q.....T.Y.....................V.I.. 108
```

(e) Thiết kế của vùng biến đổi của #110L12h

```
rat_CD147_#110 LC   1 DIQMTQTPSSMPASLGERVTISCRASQGISNYLNWYQQKPDGTIKPLIYYTSNLQSGVPS 60
#110L12h            1 ......S...LS..V.D....T.................GKAP.................... 60

rat_CD147_#110 LC  61 RFSGSGSGTDYSLTISSLEPEDFAMYFCQQYDSSPRTFGGGTKLELKR 108
#110L12h           61 ...........FT......Q.....T.Y.....................V.I.. 108
```

Fig.17

(a) Thiết kế của vùng biến đổi của #131H2h

```
rat_CD147_#131 HC   1 EVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCGASGFTFNNYWMTWVRQAPGKGLEWVASITKAGGSTYY 60
#131H2h             1 Q.........V.......R...A..................................... 60

rat_CD147_#131 HC  61 RDSVKGRFTISRDNAKSTLYLQMNSLRSEDTATYYCTRELGEFYVMDAWGQGASVTVSS 119
#131H2h            61 A............S...........A.G..V..................TT..... 119
```

(b) Thiết kế của vùng biến đổi của #131L2h

```
rat_CD147_#131 LC   1 DVQMTQSPSYLAASPGESVSISCKASKSINTYLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGTPS 60
#131L2h             1 .........S.S..V.DR.T.T..................................... 60

rat_CD147_#131 LC  61 RFSGSGSGTDFTLTIRSLEPEDFAVYYCQQHNEYPFTFGSGTKLEIKR 108
#131L2h            61 ..............S..Q.....T.............Q........ 108
```

Fig.18

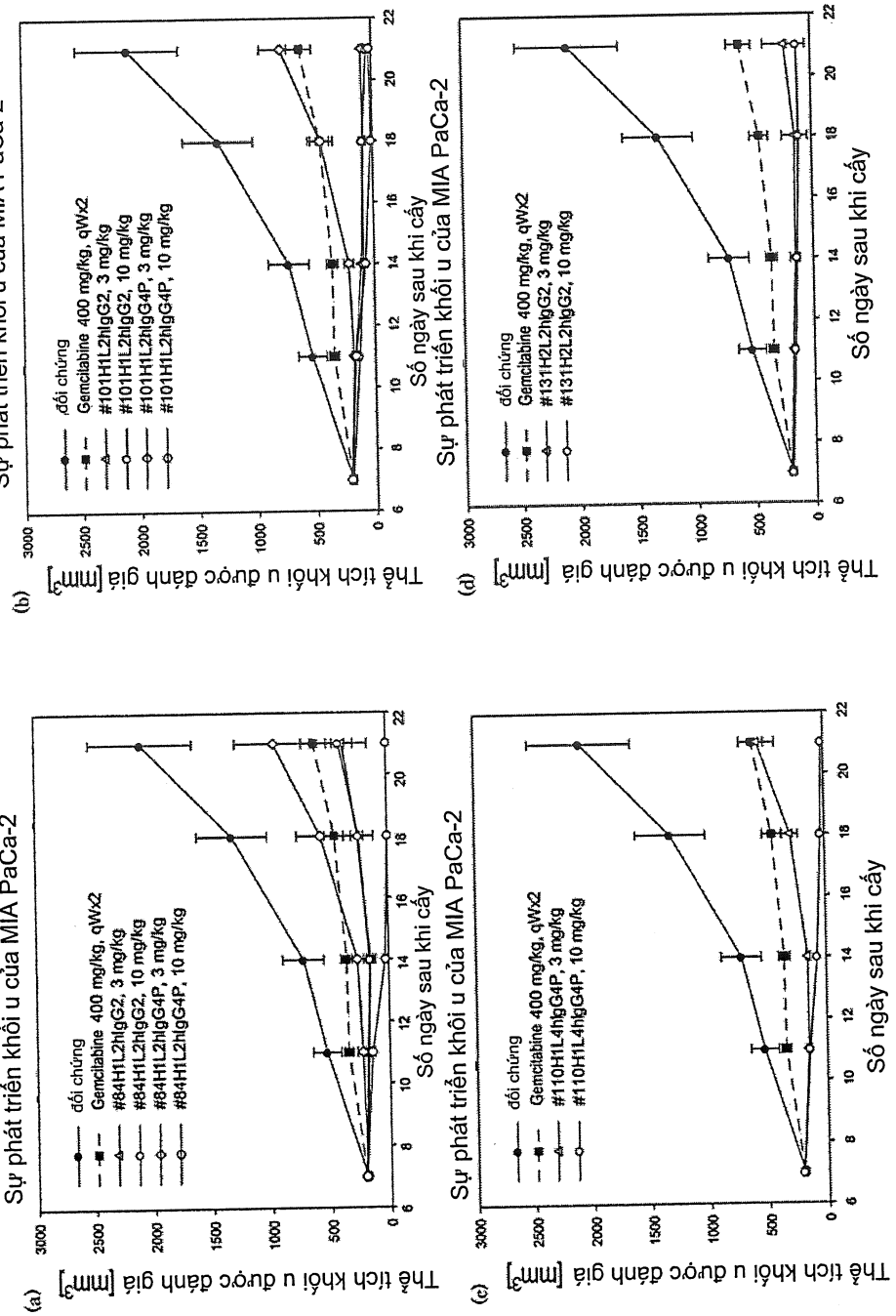

(a)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
Thể tích khối u được đánh giá [mm³]
Số ngày sau khi cấy
đối chứng
Gemcitabine 400 mg/kg, qWx2
#84H1L2hlgG2, 3 mg/kg
#84H1L2hlgG2, 10 mg/kg
#84H1L2hlgG4P, 3 mg/kg
#84H1L2hlgG4P, 10 mg/kg
(b)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
Thể tích khối u được đánh giá [mm³]
Số ngày sau khi cấy
đối chứng
Gemcitabine 400 mg/kg, qWx2
#101H1L2hlgG2, 3 mg/kg
#101H1L2hlgG2, 10 mg/kg
#101H1L2hlgG4P, 3 mg/kg
#101H1L2hlgG4P, 10 mg/kg
(c)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
Thể tích khối u được đánh giá [mm³]
Số ngày sau khi cấy
đối chứng
Gemcitabine 400 mg/kg, qWx2
#110H1L4hlgG4P, 3 mg/kg
#110H1L4hlgG4P, 10 mg/kg
(d)
Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
Thể tích khối u được đánh giá [mm³]
Số ngày sau khi cấy
đối chứng
Gemcitabine 400 mg/kg, qWx2
#131H2L2hlgG2, 3 mg/kg
#131H2L2hlgG2, 10 mg/kg

Fig.19

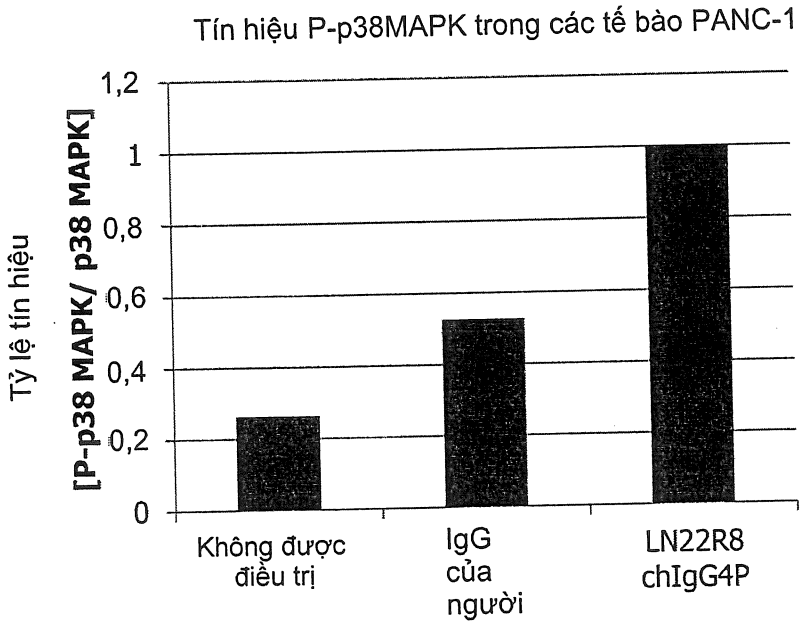

Tín hiệu P-p38MAPK trong các tế bào PANC-1
Tỷ lệ tín hiệu
[P-p38 MAPK/ p38 MAPK]
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
Không được điều trị
IgG của người
LN22R8 chIgG4P

Fig.20

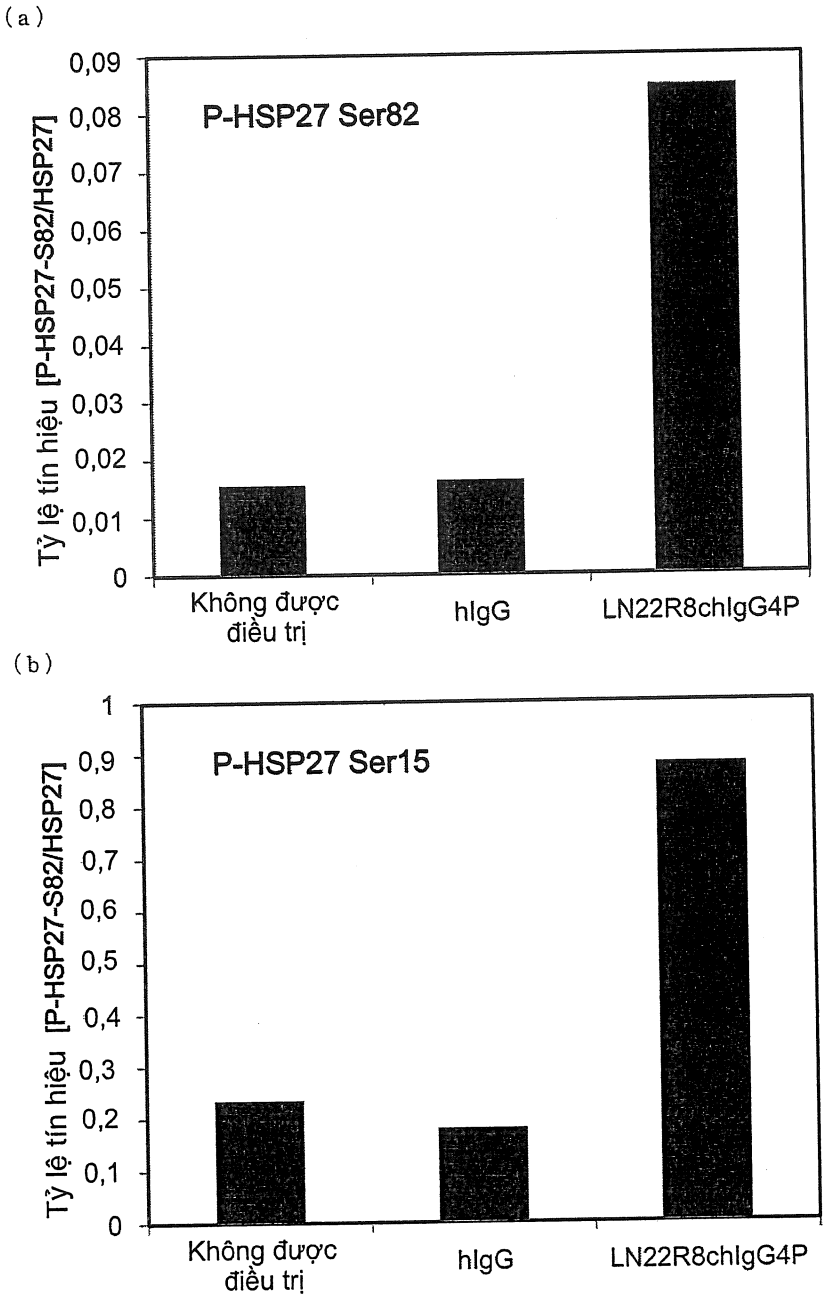

(a)
P-HSP27 Ser82
Tỷ lệ tín hiệu [P-HSP27-S82/HSP27]
0,09
0,08
0,07
0,06
0,05
0,04
0,03
0,02
0,01
0
Không được điều trị
hIgG
LN22R8chIgG4P
(b)
P-HSP27 Ser15
Tỷ lệ tín hiệu [P-HSP27-S82/HSP27]
1
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
Không được điều trị
hIgG
LN22R8chIgG4P

Fig.21

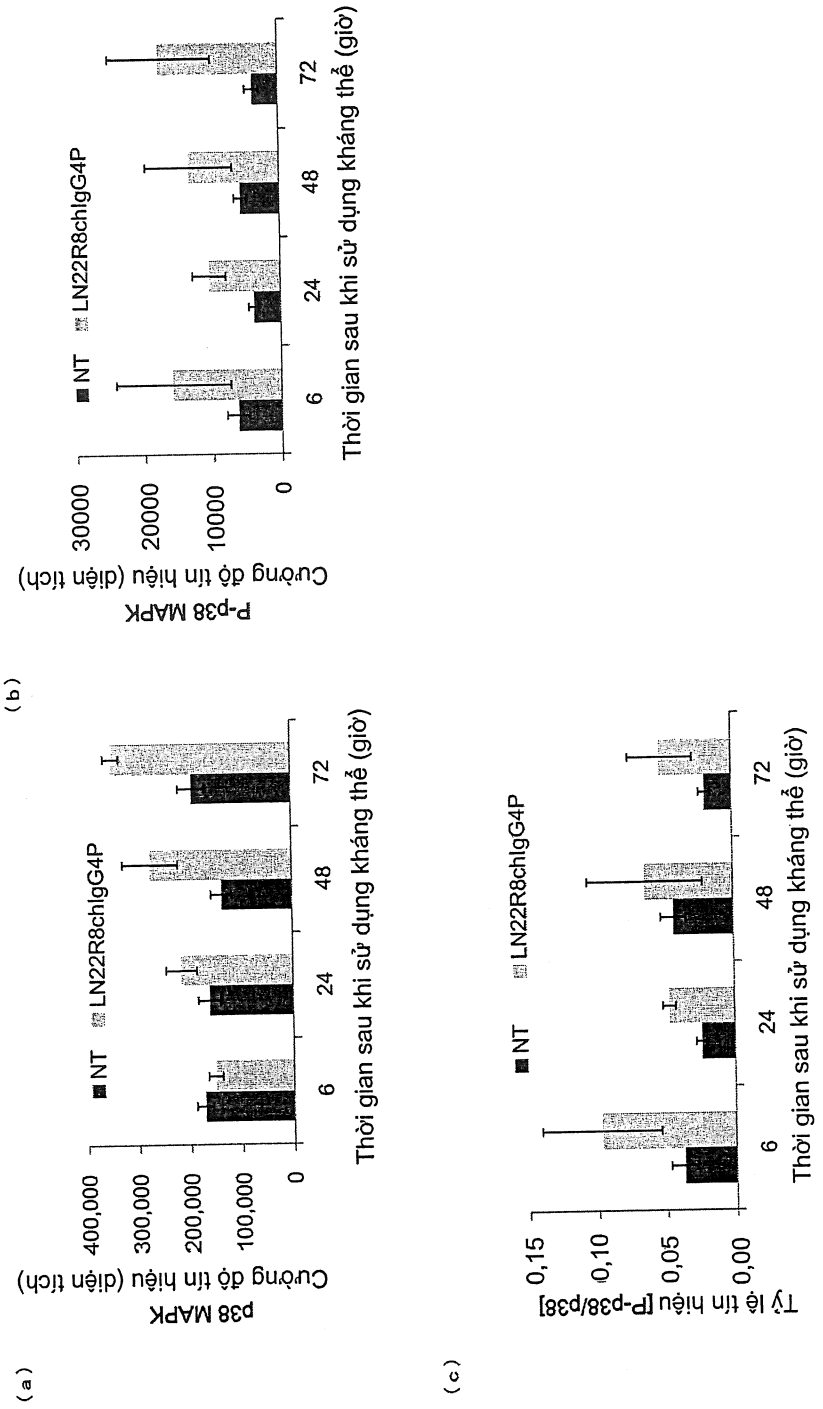
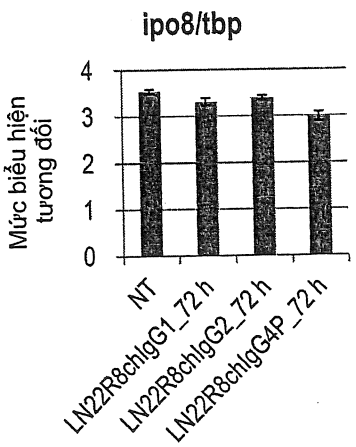
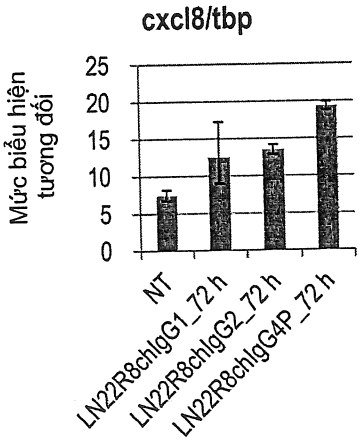

(a)
p38 MAPK
Cường độ tín hiệu (diện tích)
400,000
300,000
200,000
100,000
0
NT
LN22R8chIgG4P
6
24
48
72
Thời gian sau khi sử dụng kháng thể (giờ)
(b)
P-p38 MAPK
Cường độ tín hiệu (diện tích)
30000
20000
10000
0
NT
LN22R8chIgG4P
6
24
48
72
Thời gian sau khi sử dụng kháng thể (giờ)
(c)
Tỷ lệ tín hiệu [P-p38/p38]
0,15
0,10
0,05
0,00
NT
LN22R8chIgG4P
6
24
48
72
Thời gian sau khi sử dụng kháng thể (giờ)

Fig.22

(a)


ipo8/tbp
Mức biểu hiện tương đối
4
3
2
1
0
NT
LN22R8chIgG1_72 h
LN22R8chIgG2_72 h
LN22R8chIgG4P_72 h

(b)


cxcl8/tbp
Mức biểu hiện tương đối
25
20
15
10
5
0
NT
LN22R8chIgG1_72 h
LN22R8chIgG2_72 h
LN22R8chIgG4P_72 h

(c)

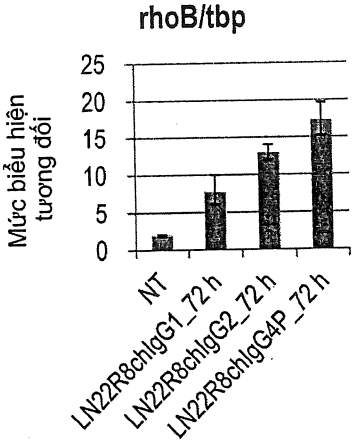

rhoB/tbp
Mức biểu hiện tương đối
25
20
15
10
5
0
NT
LN22R8chIgG1_72 h
LN22R8chIgG2_72 h
LN22R8chIgG4P_72 h

Fig.23

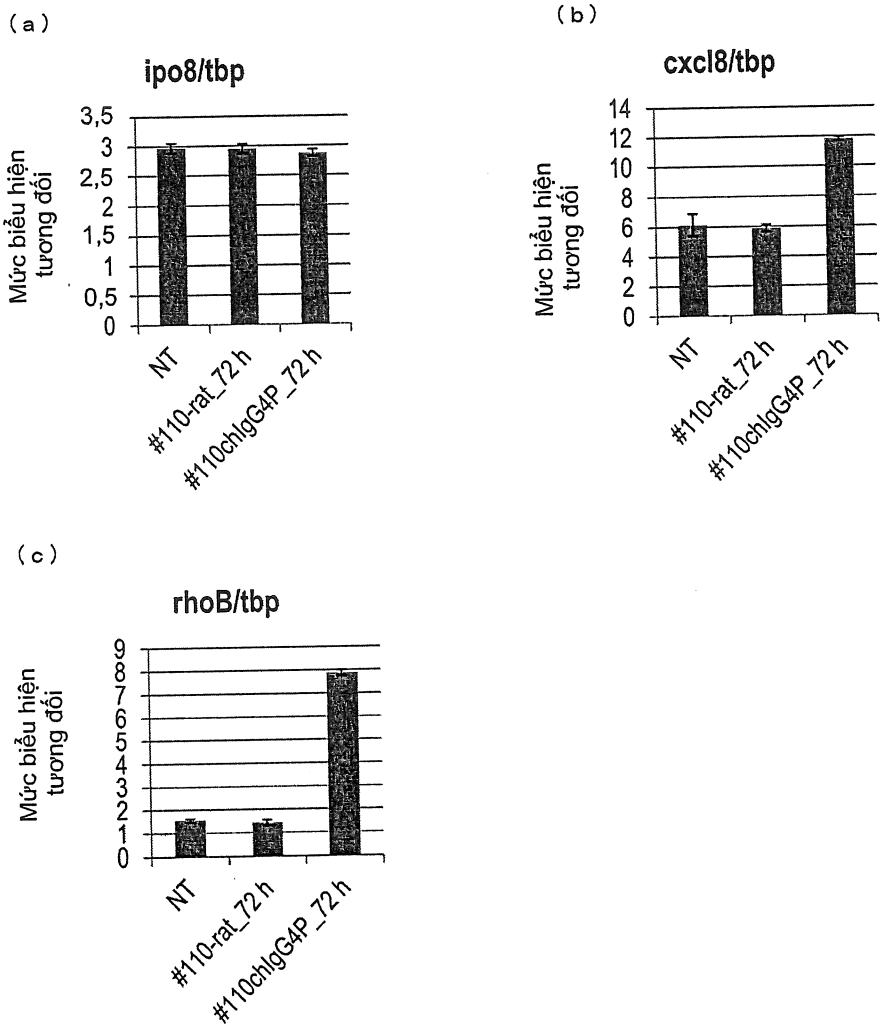

(a)
ipo8/tbp
Mức biểu hiện tương đối
3,5
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
NT
#110-rat_72 h
#110chIgG4P_72 h
(b)
cxcl8/tbp
Mức biểu hiện tương đối
14
12
10
8
6
4
2
0
NT
#110-rat_72 h
#110chIgG4P_72 h
(c)
rhoB/tbp
Mức biểu hiện tương đối
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
NT
#110-rat_72 h
#110chIgG4P_72 h

Fig.24

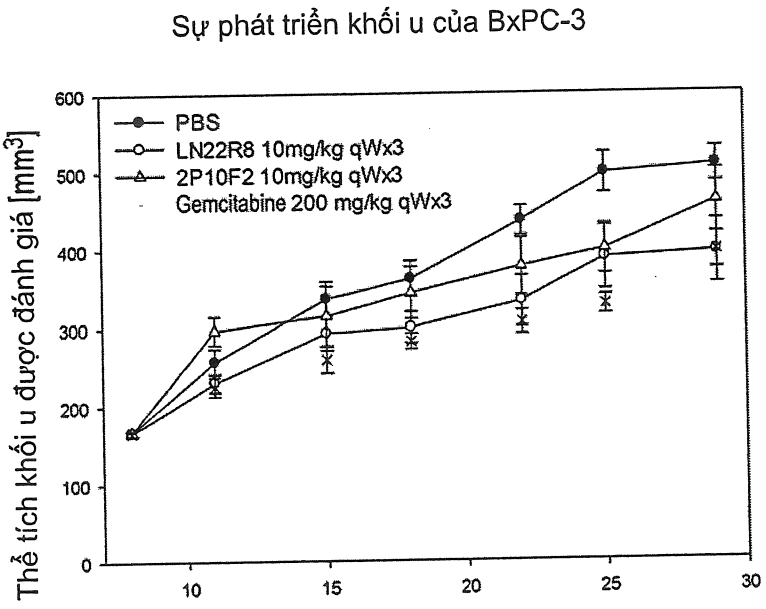
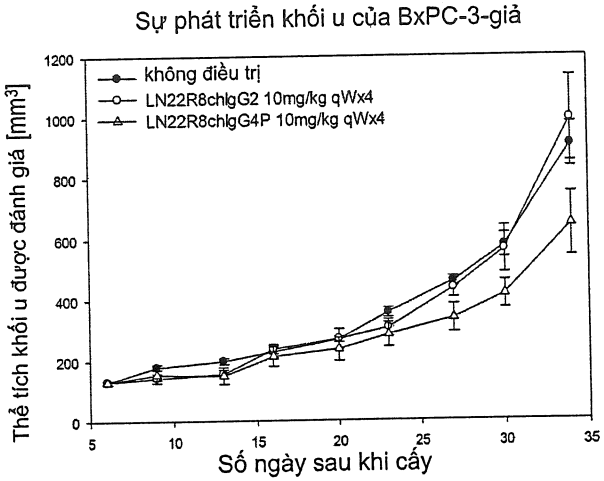

Sự phát triển khối u của BxPC-3
PBS
LN22R8 10mg/kg qWx3
2P10F2 10mg/kg qWx3
Gemcitabine 200 mg/kg qWx3
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
600
500
400
300
200
100
0
10
15
20
25
30

Fig.25

(a)


MIA PaCa-2
BxPC-3
BxPC-3-giả (lô 1)
BxPC-3-giả (lô 2)
BxPC-3-SMAD4 (lô 1)
BxPC-3-SMAD4 (lô 2)
SMAD4
CD147
GAPDH

(b)


Sự phát triển khối u của BxPC-3-giả
không điều trị
LN22R8chIgG2 10mg/kg qWx4
LN22R8chIgG4P 10mg/kg qWx4
Thể tích khối u được đánh giá [mm³]
Số ngày sau khi cấy

(c)

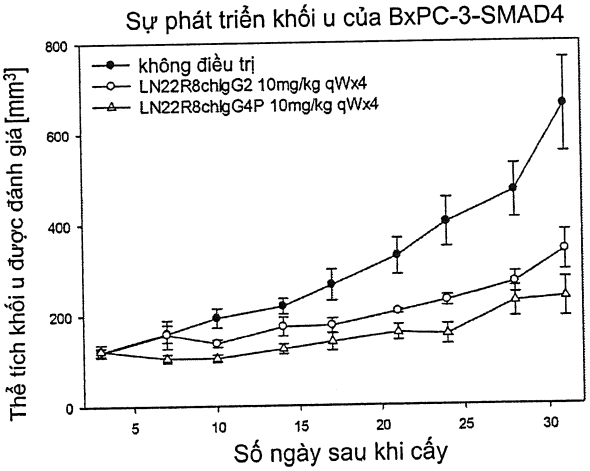
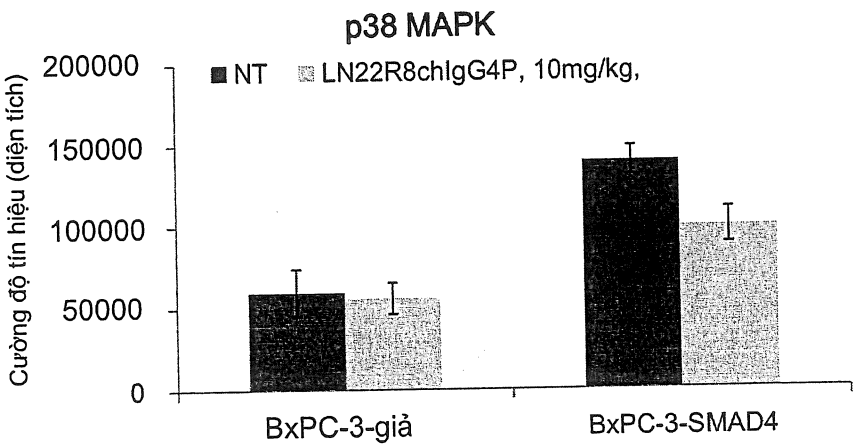

Sự phát triển khối u của BxPC-3-SMAD4
không điều trị
LN22R8chIgG2 10mg/kg qWx4
LN22R8chIgG4P 10mg/kg qWx4
Thể tích khối u được đánh giá [mm³]
Số ngày sau khi cấy

Fig.26

(a)


p38 MAPK
NT
LN22R8chIgG4P, 10mg/kg,
Cường độ tín hiệu (diện tích)
200000
150000
100000
50000
0
BxPC-3-giả
BxPC-3-SMAD4

(b)

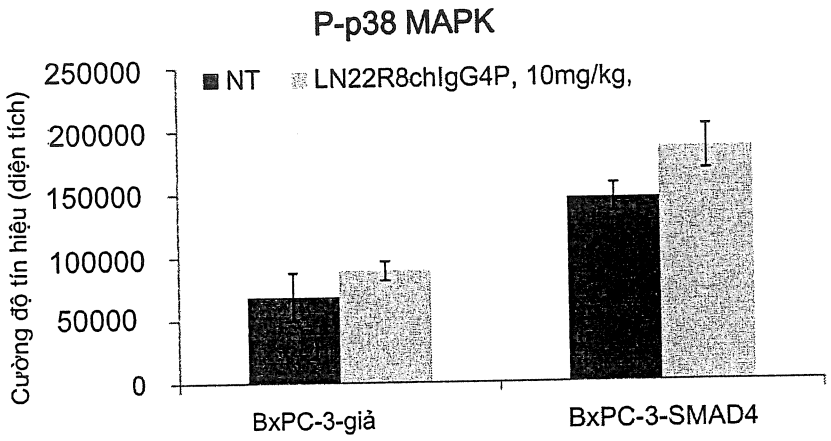

P-p38 MAPK
NT
LN22R8chIgG4P, 10mg/kg,
Cường độ tín hiệu (diện tích)
250000
200000
150000
100000
50000
0
BxPC-3-giả
BxPC-3-SMAD4

Fig.27

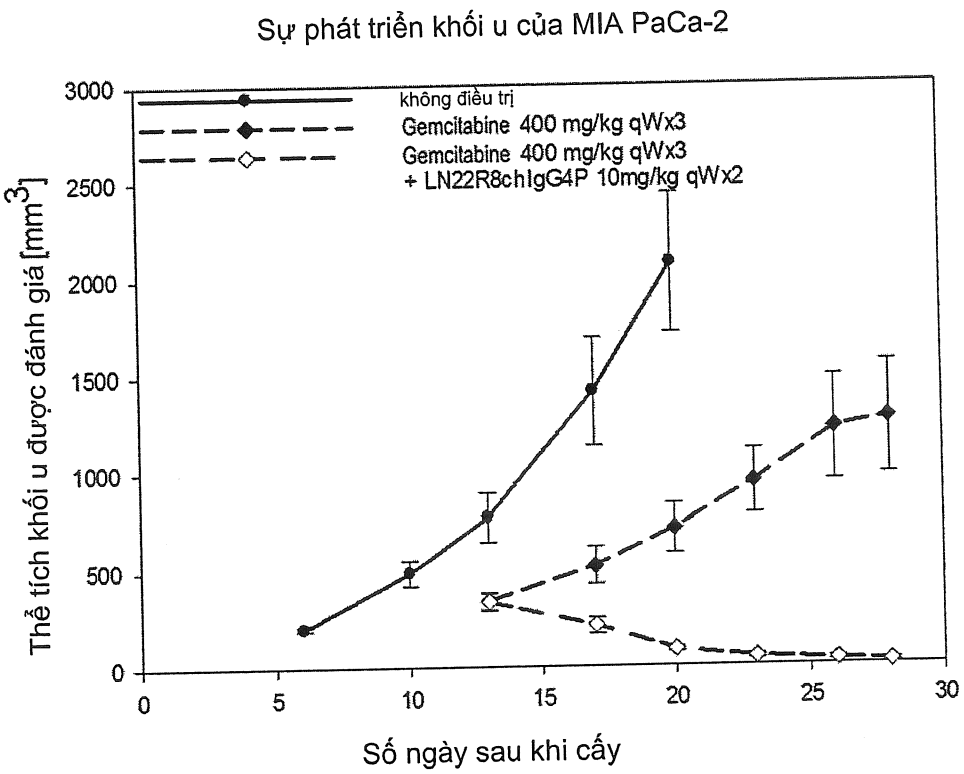
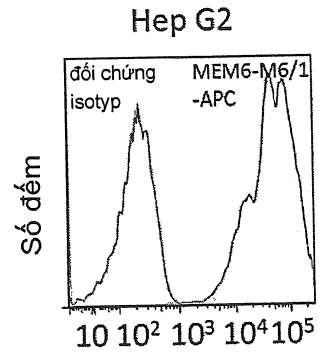

Sự phát triển khối u của MIA PaCa-2
không điều trị
Gemcitabine 400 mg/kg qWx3
Gemcitabine 400 mg/kg qWx3
+ LN22R8chIgG4P 10mg/kg qWx2
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
0
500
1000
1500
2000
2500
3000
0
5
10
15
20
25
30

Fig.28

(a)


Hep G2
đối chứng isotyp
MEM6-M6/1 -APC
Số đếm
10 10² 10³ 10⁴ 10⁵
Tín hiệu huỳnh quang →

(b)

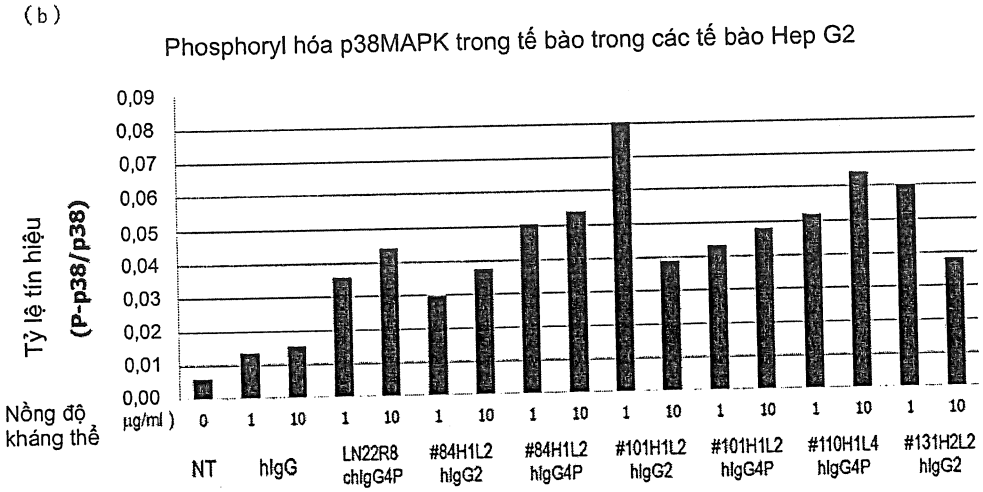

Phosphoryl hóa p38MAPK trong tế bào trong các tế bào Hep G2
Tỷ lệ tín hiệu (P-p38/p38)
0,09
0,08
0,07
0,06
0,05
0,04
0,03
0,02
0,01
0,00
Nồng độ kháng thể
µg/ml )
0 1 10 1 10 1 10 1 10 1 10 1 10 1 10 1 10
NT
hIgG
LN22R8 chIgG4P
#84H1L2 hIgG2
#84H1L2 hIgG4P
#101H1L2 hIgG2
#101H1L2 hIgG4P
#110H1L4 hIgG4P
#131H2L2 hIgG2

Fig.29

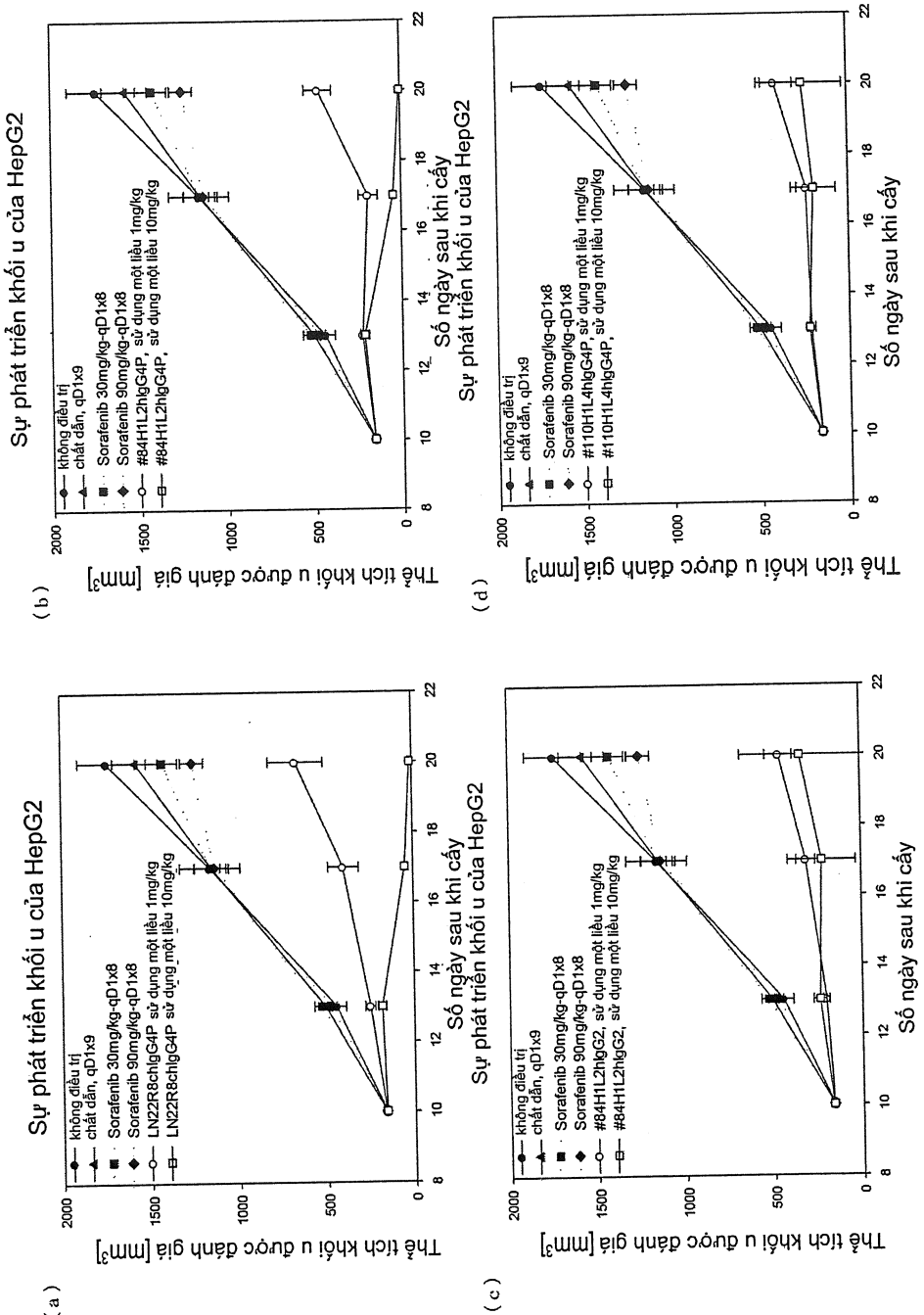

(a)
Sự phát triển khối u của HepG2
không điều trị
chất dẫn, qD1x9
Sorafenib 30mg/kg-qD1x8
Sorafenib 90mg/kg-qD1x8
LN22R8chIgG4P sử dụng một liều 1mg/kg
LN22R8chIgG4P sử dụng một liều 10mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
(b)
Sự phát triển khối u của HepG2
không điều trị
chất dẫn, qD1x9
Sorafenib 30mg/kg-qD1x8
Sorafenib 90mg/kg-qD1x8
#84H1L2hIgG4P, sử dụng một liều 1mg/kg
#84H1L2hIgG4P, sử dụng một liều 10mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
(c)
Sự phát triển khối u của HepG2
không điều trị
chất dẫn, qD1x9
Sorafenib 30mg/kg-qD1x8
Sorafenib 90mg/kg-qD1x8
#84H1L2hIgG2, sử dụng một liều 1mg/kg
#84H1L2hIgG2, sử dụng một liều 10mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
(d)
Sự phát triển khối u của HepG2
không điều trị
chất dẫn, qD1x9
Sorafenib 30mg/kg-qD1x8
Sorafenib 90mg/kg-qD1x8
#110H1L4hIgG4P, sử dụng một liều 1mg/kg
#110H1L4hIgG4P, sử dụng một liều 10mg/kg
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy

Fig.30

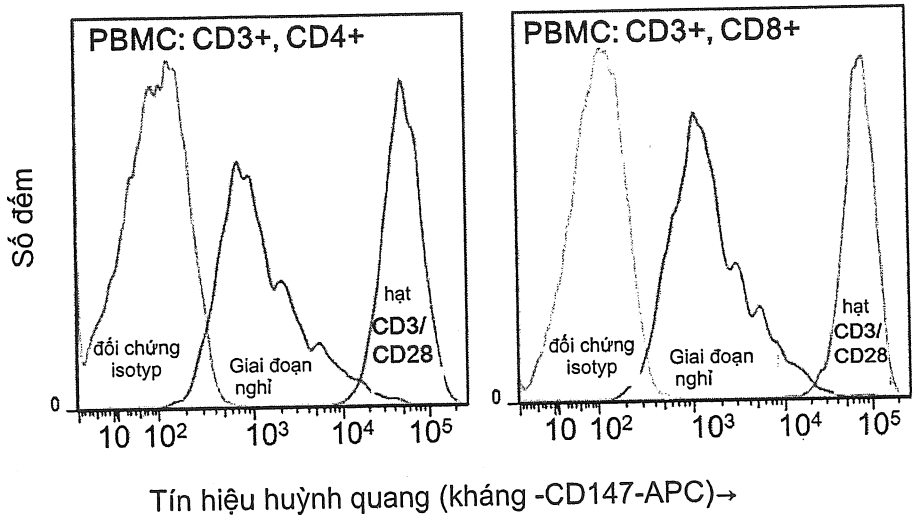

PBMC: CD3+, CD4+
PBMC: CD3+, CD8+
Số đếm
đối chứng isotyp
Giai đoạn nghỉ
hạt CD3/ CD28
0
10 10² 10³ 10⁴ 10⁵
Tín hiệu huỳnh quang (kháng -CD147-APC)→

Fig.31

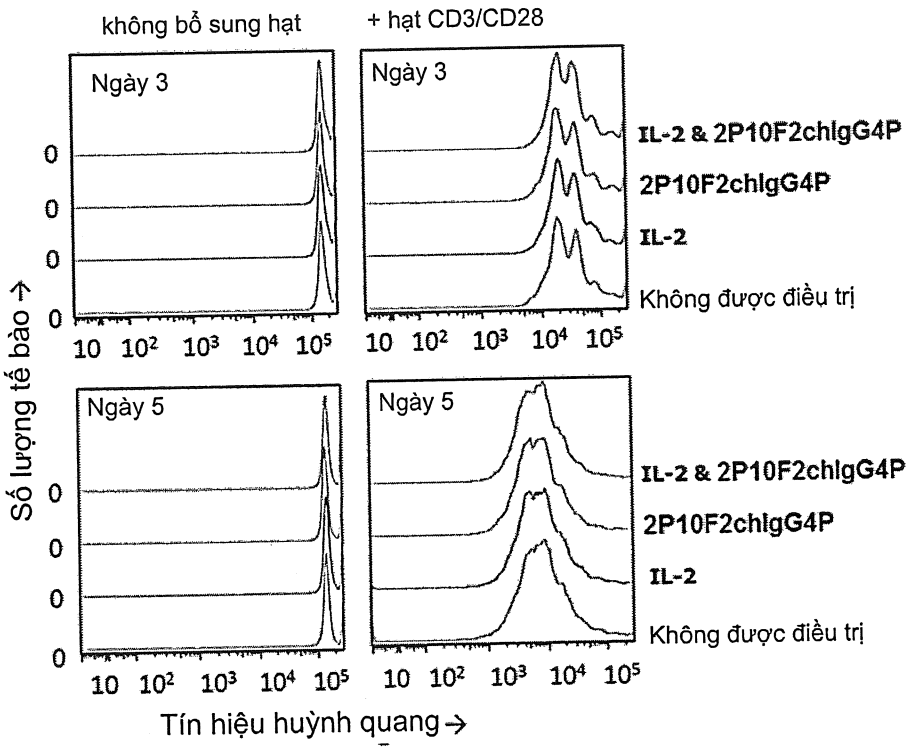

không bổ sung hạt
+ hạt CD3/CD28
Ngày 3
Ngày 5
IL-2 & 2P10F2chIgG4P
2P10F2chIgG4P
IL-2
Không được điều trị
Số lượng tế bào →
0
10 10² 10³ 10⁴ 10⁵
Tín hiệu huỳnh quang →

Fig.32

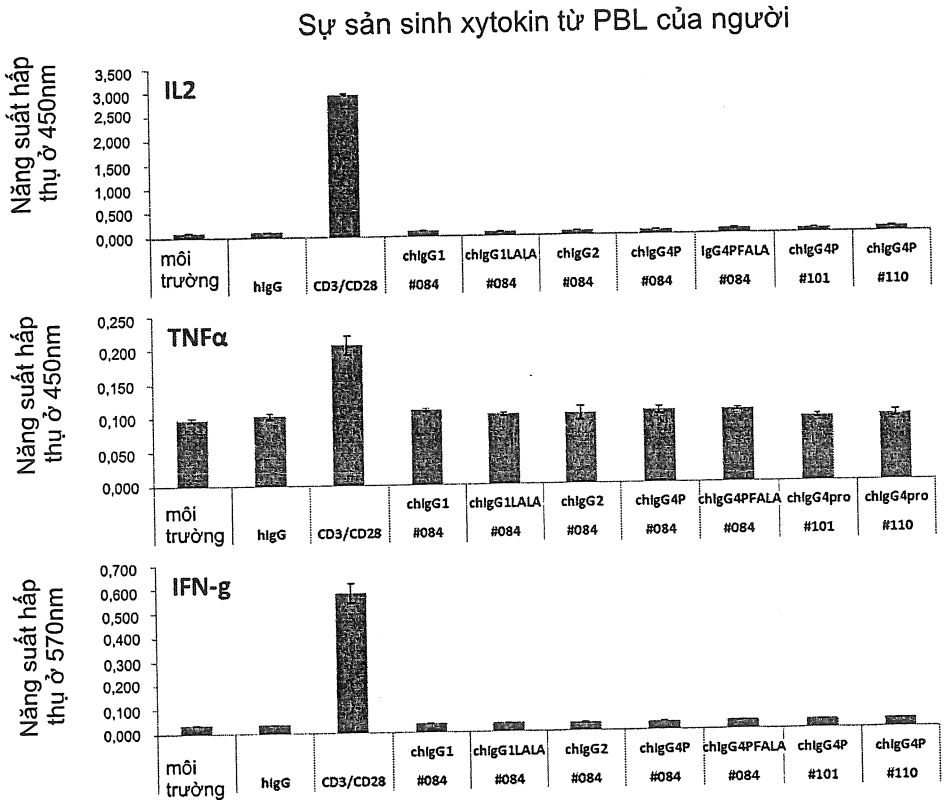



Fig.33-1

SEQ ID NO: 48:Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột

GATGTCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTATCTTGCTGCGTCTCCTGGAGAAAGTGTTTCCATCAGTTGCAAGGCAAGTAAGAGCATTAGCAATAA
TTTAGCCTGGTATCAGGAGAAACCTGGGAAAGCAAATAAGCTTCTTATTCACTCTGGGTCAACTTTGCAATCTGGAACTCCATCGAGGTTCAGTG
GCAGTGGATCTGGTACAGATTTCACGCTCACCATCAGAAGCCTGGAGTTTGAAGATTTTGCAGTCTATTACTGTCAACAGTATAATGAATACCCA
CTCACGTTCGGTTCTGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGG

SEQ ID NO: 49: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột (mỗi vùng CDR được gạch chân)

DVQMTQSPSYLAASPGESVSISCKASKSISNNLAWYQEKPGKANKLLIHSGSTLQSGTPSRFSGSGSGTDFTLTIRSLEFEDFAVYYCQQYNEYP
LTFGSGTKLEIKR

SEQ ID NO: 52: Trình tự axit amin của CDRL1 của CD147_#84 của chuột

KASKSISNNLA

SEQ ID NO: 53: Trình tự axit amin của CDRL2 của CD147_#84 của chuột

SGSTLQS

SEQ ID NO: 54: Trình tự axit amin của CDRL3 của CD147_#84 của chuột

QQYNEYPLT

Fig.33-2

SEQ ID NO: 50: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#84 của chuột
GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTAGTGCAGCCTGGAAGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTCAGGATTCACTTTCAGTAACTA
TTACATGGCCTGGGTCCGCCAGGCTCCAAAGAAGGGTCTGGAGTGGGTCGCAACCATTACTACCAGTGGTAGCAGACCTTACTATCCAGACTCCG
TGAAAGGCCGATTCACTATCTCCAGAGATAATGCAAAAAGCAGCCTATACCTGCAAATGAACAGTCTGAAGTCTGAGGACACGGCCACTTATTAC
TGTGCAAGACATATTTATTACTATGATGGTTACCCCTTTGCTTACTGGGGCCAAGGCACTCTGGTCACTGTCTCTTCA

SEQ ID NO: 51: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#84 của chuột (mỗi vùng CDR được gạch chân)
EVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPKKGLEWVATITTSGSRPYYPDSVKGRFTISRDNAKSSLYLQMNSLKSEDTATYY
CARHIYYYDGYPFAYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 55: Trình tự axit amin của CDRH1 của CD147_#84 của chuột
GFTFSNYYMA

SEQ ID NO: 56: Trình tự axit amin của CDRH2 của CD147_#84 của chuột
TITTSGSRPY

SEQ ID NO: 57: Trình tự axit amin của CDRH3 của CD147_#84 của chuột
HIYYYDGYPFAY

Fig.34-1

SEQ ID NO: 58: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCACTCCTGTCTGCATCTGTGGGAGGCAGAATCACTCTCAACTGCAAAGCAAGTCAGAATCTCTATAAGAA
CTTAGCCTGGTATCAGCAGAAGCTTGGAGAAGCTCCCAAACTCCTGATTGATAATGCAAACAGTTTGCAAACGGGCATCCCATCAAGGTTCAGTG
GCAGTGGATCTGGTACAGATTTCACACTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCCACATATTTCTGCCAGCAGTATTATAGCGGGTCG
TACACGTTTGGAGCTGGGACCAAGCTGGAACTGAAACGG

SEQ ID NO: 59: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột (mỗi vùng CDR được gạch chân)
DIQMTQSPSLLSASVGGRITLNCKASQNLYKNLAWYQQKLGEAPKLLIDNANSLQTGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYFCQQYYSGS
YTFGAGTKLELKR

SEQ ID NO: 62: Trình tự axit amin của CDRL1 của CD147_#101 của chuột
KASQNLYKNLA

SEQ ID NO: 63: Trình tự axit amin của CDRL3 của CD147_#101 của chuột
NANSLQT

SEQ ID NO: 64: Trình tự axit amin của CDRL3 của CD147_#101 của chuột
QQYYSGSYT

Fig.34-2

SEQ ID NO: 60: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#101 của chuột
GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGATGGAGGCTTAGTGCAGCCTGGAAGGTCCCTAAAACTCTCCTGTGCAGCCTCAGGATTCACTTTCAGTGACTA
TTACATGGCCTGGGTCCGCCAGGCTCCAACGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGCAACCATTAGTTATGATGGTAGTAACACTTACTATCGAGACTCCG
TGAAGGGCCGATTCACTATCTCCAGAGATAATGCAAAAAGCACCCTATACCTGCAAATGGACAGTCTGAGGTCTGGGGACACGGCCACTTATTAC
TGTGCAAGATTTTACAACAACTACTACTTTGATTACTGGGGCCAAGGAGTCATGGTCACAGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 61: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#101 của chuột (mỗi vùng CDR được gạch chân)
EVQLVESDGGLVQPGRSLKLSCAASGFTFSDYYMAWVRQAPTKGLEWVATISYDGSNTYYRDSVKGRFTISRDNAKSTLYLQMDSLRSGDTATYY
CARFYNNYYFDYWGQGVMVTVSS

SEQ ID NO: 65: Trình tự axit amin của CDRH1 của CD147_#101 của chuột
GFTFSDYYMA

SEQ ID NO: 66: Trình tự axit amin của CDRH2 của CD147_#101 của chuột
TISYDGSNTY

SEQ ID NO: 67: Trình tự axit amin của CDRH3 của CD147_#101 của chuột
FYNNYYFDY

Fig.35-1

SEQ ID NO: 68: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột
GACATCCAGATGACCCAGACTCCATCCTCCATGCCTGCATCTCTGGGAGAGAGAGTCACCATCAGTTGCAGAGCAAGTCAGGGTATTAGCAATTA
TCTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACGATTAAACCCCTGATCTACTACACATCCAATTTACAATCTGGTGTCCCATCAAGGTTCAGTG
GCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAATGTATTTCTGCCAACAGTATGATAGTTCTCCT
CGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAATTGAAACGG

SEQ ID NO: 69: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột (mỗi vùng CDR được gạch chân)
DIQMTQTPSSMPASLGERVTISCRASQGISNYLNWYQQKPDGTIKPLIYYTSNLQSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISSLEPEDFAMYFCQQYDSSP
RTFGGGTKLELKR

SEQ ID NO: 72: Trình tự axit amin của CDRL1 của CD147_#110 của chuột
RASQGISNYLN

SEQ ID NO: 73: Trình tự axit amin của CDRL2 của CD147_#110 của chuột
YTSNLQS

SEQ ID NO: 74: Trình tự axit amin của CDRL3 của CD147_#110 của chuột
QQYDSSPRT

Fig.35-1

SEQ ID NO: 70: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#110 của chuột
CAGGTACAGCTGCAGCAATCTGGGGCTGAACTGGTGAAGCCTGGGTCCTCAGTGAAAATTTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGTGA
CTTTATGCACTGGATAAAACAGCAGCCTGGAAATGGCCTTGAGTGGATTGGGTGGATTTATCCTGGAGATGGTGATACAGAGTACAATCAAAAGT
TCAATGGGAAGGCAACACTCACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTATATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTTC
TGTGCAAGGGGACGGGGGTATGTTATGGATGCCTGGGGTCAAGGAGCTTCAGTCACTGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 71: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#110 của chuột (mỗi vùng CDR được gạch chân)
QVQLQQSGAELVKPGSSVKISCKASGYTFTSDFMHWIKQQPGNGLEWIGWIYPGDGDTEYNQKFNGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYF
CARGRGYVMDAWGQGASVTVSS

SEQ ID NO: 75: Trình tự axit amin của CDRH1 của CD147_#110 của chuột
GYTFTSDFMH

SEQ ID NO: 76: Trình tự axit amin của CDRH2 của CD147_#110 của chuột
WIYPGDGDTE

SEQ ID NO: 77: Trình tự axit amin của CDRH3 của CD147_#110 của chuột
GRGYVMDA

Fig.36-1

SEQ ID NO: 78: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột
GATGTCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTATCTTGCTGCGTCTCCTGGAGAAAGTGTTTCCATCAGTTGCAAGGCAAGTAAAAGCATTAACACATA
CTTAGCCTGGTATCAGGAGAAACCTGGGAAAACGAATAAGCTTCTTATCTACTCTGGGTCAACTTTGCAATCTGGAACTCCATCGAGATTCAGTG
GCAGTGGATCTGGTACAGATTTCACGCTCACCATCAGAAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTCTACTACTGTCAACAGCATAATGAATACCCC
TTCACGTTCGGCTCAGGGACGAAGTTGGAAATAAAACGG

SEQ ID NO: 79: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột (mỗi vùng CDR được gạch chân)
DVQMTQSPSYLAASPGESVSISCKASKSINTYLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGTPSRFSGSGSGTDFTLTIRSLEPEDFAVYYCQQHNEYP
FTFGSGTKLEIKR

SEQ ID NO: 82: Trình tự axit amin của CDRL1 của CD147_#131 của chuột
KASKSINTYLA

SEQ ID NO: 83: Trình tự axit amin của CDRL2 của CD147_#131 của chuột
SGSTLQS

SEQ ID NO: 84: Trình tự axit amin của CDRL3 của CD147_#131 của chuột
QQHNEYPFT

Fig.36-2

SEQ ID NO: 80: Trình tự nucleotit của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#131 của chuột
GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTAGTGCAGCCTGGAAGGTCTCTGAAACTATCCTGTGGAGCCTCTGGATTCACATTCAATAACTA
CTGGATGACCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTGCATCCATTACTAAAGCTGGTGGTAGCACTTACTATCGAGACTCTG
TGAAGGGCCGATTCACTATCTCCAGAGATAATGCAAAAAGCACCCTATATCTGCAAATGAACAGTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCACTTATTAC
TGTACAAGAGAACTGGGAGAGTTCTATGTTATGGATGCCTGGGGTCAAGGAGCTTCAGTCACTGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 81: Trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng của CD147_#131 của chuột (mỗi vùng CDR được gạch chân)
EVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCGASGFTFNNYWMTWVRQAPGKGLEWVASITKAGGSTYYRDSVKGRFTISRDNAKSTLYLQMNSLRSEDTATYY
CTRELGEFYVMDAWGQGASVTVSS

SEQ ID NO: 85: Trình tự axit amin của CDRH1 của CD147_#131 của chuột
GFTFNNYWMT

SEQ ID NO: 86: Trình tự axit amin của CDRH2 của CD147_#131 của chuột
SITKAGGSTY

SEQ ID NO: 87: Trình tự axit amin của CDRH3 của CD147_#131 của chuột
ELGEFYVMDA

Fig.37-1

SEQ ID NO: 123: Trình tự axit amin của #84H1hIgG2 (mỗi vùng CDR được gạch chân)
MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPGKGLEWVSTITTSGSRPYYADSVKGRFTISRDNSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHIYYYDGYPFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Trình tự tín hiệu 1-19, vùng biến đổi 20-140, vùng hằng định 141-466

SEQ ID NO: 124: Trình tự nucleotit của #84H1hIgG2
ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTTGAGTCTGGCGGAGGACTGGTTCA
ACCTGGCGGAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACTACTATATGGCCTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGAC
TTGAATGGGTGTCCACCATCACCACCAGCGGCAGCAGACCTTACTACGCCGATAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAG
AACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCGCCAGACACATCTACTACTACGACGGCTACCCCTT
CGCCTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTCACAGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGTAGCCGTTCCACCA
GCGAGTCCACCGCCGCCCTTGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGAGCTGGAACTCCGGAGCCCTTACCAGCGGCGTG
CACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCAGCGGCCTTTACTCCCTGAGCTCCGTGGTGACCGTGCCTAGCTCCAACTTCGGCACCCAAACCTACAC
CTGTAACGTGGACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGCGTAAGTGTTGTGTGGAGTGTCCTCCTTGTCCTGCCCCTCCTG
TGGCCGGACCTTCCGTGTTCCTTTTCCCTCCTAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCCGTACCCCTGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTG
TCCCACGAGGACCCTGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGTGAGGAGCAATTCAACAG
CACCTTCCGTGTGGTGTCCGTGCTTACCGTGGTGCACCAAGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGAGCAACAAGGGACTTCCTG
CCCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGACCAAGGGCCAACCTCGTGAGCCTCAAGTGTACACCCTTCCTCCTAGCCGTGAGGAGATGACCAAGAAC
CAAGTGTCCCTTACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGACAACCTGAGAACAACTACAAGAC
CACCCCTCCTATGCTTGACAGCGACGGCTCCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTgACCGTGGACAAGTCCCGTTGGCAACAAGGCAACGTGTTCAGCT
GTTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAAAAGAGCCTTTCCCTGAGCCCTGGAAAG
Trình tự tín hiệu 1-57, vùng biến đổi 58-420, vùng hằng định 421-1398

Fig.37-2

SEQ ID NO: 125: Trình tự axit amin của #84H1hIgG4P (mỗi vùng CDR được gạch chân)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPGKGLEWVSTITTSGSRPYYADSVKGRFTISRDNSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHIYYYDGYPFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

Trình tự tín hiệu 1-19, vùng biến đổi 20-140, vùng hằng định 141-467

SEQ ID NO: 126: Trình tự nucleotit của #84H1hIgG4P

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTTGAGTCTGGCGGAGGACTGGTTCA
ACCTGGCGGAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACTACTATATGGCCTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGAC
TTGAATGGGTGTCCACCATCACCACCAGCGGCAGCAGACCTTACTACGCCGATAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAG
AACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCGCCAGACACATCTACTACTACGACGGCTACCCCTT
CGCCTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTCACAGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGTAGCAGAAGCACCA
GCGAGTCTACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCGGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTG
CACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGTCCAGCGTCGTGACTGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCAAGACCTACAC
CTGTAACGTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGCCCAGCCCCTGAAT
TTCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGAT
GTGTCCCAGGAAGATCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTTCAA
CAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGC
CCAGCTCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCTCCAAGCCAGGAAGAGATGACCAAG
AATCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAA
GACCACCCCCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAGACTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTGTTCA
GCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTCTGAGCCTGGGCAAA

Trình tự tín hiệu 1-57, vùng biến đổi 58-420, vùng hằng định 421-1401

Fig.37-3

SEQ ID NO: 127: Trình tự axit amin của #84L2h (mỗi vùng CDR được gạch chân)

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDVQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASKSISNNLAWYQQKPGKANKLLIHSGSTLQSGTPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYCQQYNEYPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Trình tự tín hiệu 1-20, vùng biến đổi 21-128, vùng hằng định 129-234

SEQ ID NO: 128: Trình tự nucleotit của #84L2h

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGACGTTCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTC
TGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACATGCAAGGCCAGCAAGAGCATCAGCAACAACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGAAAGGCCA
ACAAGCTGCTGATCCACAGCGGCAGCACACTGCAGTCTGGCACCCCTAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGATTTCACCCTGACCATA
TCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAACGAGTACCCTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAA
GCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACT
TCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGAC
AGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAG
CTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT

Trình tự tín hiệu 1-60, vùng biến đổi 61-384, vùng hằng định 385-702

Fig.38-1

SEQ ID NO: 129: Trình tự axit amin của #101H1hIgG2 (mỗi vùng CDR được gạch chân)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYYMAWVRQAPGKGLEWVATISYDGSNTYYRDSVKGRFTISRDNSK
STLYLQMNSLRAGDTAVYYCARFYNNYYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự tín hiệu 1-19, vùng biến đổi 20-137, vùng hằng định 138-463

SEQ ID NO: 130:Trình tự nucleotit của #101H1hIgG2

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTTGAGTCTGGCGGAGGACTGGTTCA
GCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTATATGGCCTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGAC
TTGAATGGGTCGCCACCATCAGCTACGACGGCAGCAACACCTACTACCGGGACAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCTCCAGAGACAACAGCAAG
AGCACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGGCGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGATTCTACAACAACTACTACTTCGACTACTG
GGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGTAGCCGTTCCACCAGCGAGTCCA
CCGCCGCCCTTGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGAGCTGGAACTCCGGAGCCCTTACCAGCGGCGTGCACACCTTC
CCTGCCGTGCTGCAGTCCAGCGGCCTTTACTCCCTGAGCTCCGTGGTGACCGTGCCTAGCTCCAACTTCGGCACCCAAACCTACACCTGTAACGT
GGACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGCGTAAGTGTTGTGTGGAGTGTCCTCCTTGTCCTGCCCCTCCTGTGGCCGGAC
CTTCCGTGTTCCTTTTCCCTCCTAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCCGTACCCCTGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAG
GACCCTGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGTGAGGAGCAATTCAACAGCACCTTCCG
TGTGGTGTCCGTGCTTACCGTGGTGCACCAAGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGAGCAACAAGGGACTTCCTGCCCCTATCG
AGAAGACCATCTCCAAGACCAAGGGCCAACCTCGTGAGCCTCAAGTGTACACCCTTCCTCCTAGCCGTGAGGAGATGACCAAGAACCAAGTGTCC
CTTACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGACAACCTGAGAACAACTACAAGACCACCCCTCC
TATGCTTGACAGCGACGGCTCCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTgACCGTGGACAAGTCCCGTTGGCAACAAGGCAACGTGTTCAGCTGTTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAAAAGAGCCTTTCCCTGAGCCCTGGAAAG

Trình tự tín hiệu 1-57, vùng biến đổi 58-411, vùng hằng định 412-1389

Fig.38-2

SEQ ID NO: 131:Trình tự axit amin của #101H1hIgG4P (mỗi vùng CDR được gạch chân)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYYMAWVRQAPGKGLEWVATISYDGSNTYYRDSVKGRFTISRDNSK
STLYLQMNSLRAGDTAVYYCARFYNNYYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

Trình tự tín hiệu 1-19, vùng biến đổi 20-137, vùng hằng định 138-464

SEQ ID NO: 132: Trình tự nucleotit của #101H1hIgG4P

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTTGAGTCTGGCGGAGGACTGGTTCA
GCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTATATGGCCTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGAC
TTGAATGGGTCGCCACCATCAGCTACGACGGCAGCAACACCTACTACCGGGACAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCTCCAGAGACAACAGCAAG
AGCACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGGCGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGATTCTACAACAACTACTACTTCGACTACTG
GGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGTAGCAGAAGCACCAGCGAGTCTA
CAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTT
CCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGTCCAGCGTCGTGACTGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCAAGACCTACACCTGTAACGT
GGACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGCCCAGCCCCTGAATTTCTGGGCG
GACCCTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCAG
GAAGATCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTTCAACAGCACCTA
CCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCTCCA
TCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCTCCAAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCC
CCCTGTGCTGGACTCCGATGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAGACTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCG
TGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTCTGAGCCTGGGCAAA

Trình tự tín hiệu 1-57, vùng biến đổi 58-411, vùng hằng định 412-1392

Fig.38-3

SEQ ID NO: 133:Trình tự axit amin của #101L2h (mỗi vùng CDR được gạch chân)

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTINCKASQNLYKNLAWYQQKPGKAPKLLIDNANSLQTGIPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYFCQQYYSGSYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Trình tự tín hiệu 1-20, vùng biến đổi 21-128, vùng hằng định 129-234

SEQ ID NO: 134: Trình tự nucleotit của #101L2h

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTC
TGCCAGCGTGGGAGATAGAGTGACCATCAACTGCAAGGCCAGCCAGAACCTGTACAAGAACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCTC
CTAAGCTGCTGATCGACAACGCCAACAGCCTGCAGACCGGCATTCCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGATTTCACCCTGACCATA
TCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTTTTGCCAGCAGTACTACAGCGGCAGCTACACCTTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAA
GCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACT
TCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGAC
AGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAG
CTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT

Trình tự tín hiệu 1-60, vùng biến đổi 61-384, vùng hằng định 385-702

Fig.39-1

SEQ ID NO: 135: Trình tự axit amin của #110H1hIgG4P (mỗi vùng CDR được gạch chân)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSDFMHWVRQAPGQGLEWMGWIYPGDGDTEYNQKFQGRVTLTRDTSI
STAYMELSRLRSDDTAVYYCARGRGYVMDAWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQE
DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

Trình tự tín hiệu 1-19, vùng biến đổi 20-136, vùng hằng định 137-463

SEQ ID NO: 136:Trình tự nucleotit của #110H1hIgG4P

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTTCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAA
ACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTTACCAGCGACTTCATGCACTGGGTCCGACAGGCTCCAGGACAGGGAC
TTGAATGGATGGGCTGGATCTATCCCGGCGACGGCGACACCGAGTACAACCAGAAATTCCAGGGCAGAGTGACCCTGACCAGAGACACCAGCATC
AGCACCGCCTACATGGAACTGAGCCGGCTGAGATCCGATGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGGCAGAGGCTATGTGATGGATGCTTGGGG
CCAGGGCACCACCGTTACAGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGTAGCAGAAGCACCAGCGAGTCTACAG
CCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCA
GCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGTCCAGCGTCGTGACTGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGA
CCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGCCCAGCCCCTGAATTTCTGGGCGGAC
CCTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCAGGAA
GATCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTTCAACAGCACCTACCG
GGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCTCCATCG
AGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCTCCAAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAGGTGTCC
CTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCC
TGTGCTGGACTCCGATGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAGACTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTCTGAGCCTGGGCAAA

Trình tự tín hiệu 1-57, vùng biến đổi 58-408, vùng hằng định 409-1389

Fig.39-2

SEQ ID NO: 147:Trình tự axit amin của #110H13hIgG4P (mỗi vùng CDR được gạch chân)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSDFMHWVRQAPGQGLEWMGWIYPGDGDTEYAQKFQGRVTMTRDTSI
STAYMELSRLRSDDTAVYYCARGRGYVMDAWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQE
DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

Trình tự tín hiệu 1-19, vùng biến đổi 20-136, vùng hằng định 137-463

SEQ ID NO: 148: Trình tự nucleotit của #110H13hIgG4P

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTTCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAA
ACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGGTACACCTTTACCAGCGACTTCATGCACTGGGTCCGACAGGCTCCAGGACAGGGAC
TTGAATGGATGGGCTGGATCTATCCCGGCGACGGCGATACAGAGTACGCCCAGAAATTCCAGGGCAGAGTGACCATGACCAGAGACACCAGCATC
AGCACCGCCTACATGGAACTGAGCCGGCTGAGATCCGATGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGGCAGAGGCTATGTGATGGATGCTTGGGG
CCAGGGCACCACCGTTACAGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGTAGCAGAAGCACCAGCGAGTCTACAG
CCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCA
GCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGTCCAGCGTCGTGACTGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGA
CCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGCCCAGCCCCTGAATTTCTGGGCGGAC
CCTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCAGGAA
GATCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTTCAACAGCACCTACCG
GGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCTCCATCG
AGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCTCCAAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAGGTGTCC
CTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCC
TGTGCTGGACTCCGATGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAGACTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTCTGAGCCTGGGCAAA

Trình tự tín hiệu 1-57, vùng biến đổi 58-408, vùng hằng định 409-1389

Fig.39-3

SEQ ID NO: 137: Trình tự axit amin của #110L4h (mỗi vùng CDR được gạch chân)

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAIKPLIYYTSNLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTI
SSLQPEDFATYFCQQYDSSPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Trình tự tín hiệu 1-20, vùng biến đổi 21-128, vùng hằng định 129-234

SEQ ID NO: 138: Trình tự nucleotit của #110L4h

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTC
TGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCA
TCAAGCCCCTGATCTACTACACCAGCAACCTGCAGAGCGGCGTGCCCAGCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTACACCCTGACCATA
TCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTTTTGCCAGCAGTACGACAGCAGCCCCAGAACCTTTGGCGGCGGAACAAAGGTGGAAATCAA
GCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACT
TCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGAC
AGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAG
CTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT

Trình tự tín hiệu 1-60, vùng biến đổi 61-384, vùng hằng định 385-702

Fig.39-4

SEQ ID NO: 149:Trình tự axit amin của #110L2h (mỗi vùng CDR được gạch chân)

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYYTSNLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTI
SSLQPEDFATYYCQQYDSSPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Trình tự tín hiệu 1-20, vùng biến đổi 21-128, vùng hằng định 129-234

SEQ ID NO: 150: Trình tự nucleotit của #110L2h

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTC
TGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCC
CTAAGCCTCTGATCTACTACACCAGCAACCTGCAGAGCGGCGTGCCCAGCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTACACCCTGACCATA
TCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACGACAGCAGCCCCAGAACATTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAA
GCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACT
TCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGAC
AGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAG
CTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT

Trình tự tín hiệu 1-60, vùng biến đổi 61-384, vùng hằng định 385-702

Fig.39-5

SEQ ID NO: 151:Trình tự axit amin của #110L12h (mỗi vùng CDR được gạch chân)

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYYTSNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYCQQYDSSPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Trình tự tín hiệu 1-20, vùng biến đổi 21-128, vùng hằng định 129-234

SEQ ID NO: 152:Trình tự nucleotit của #110L12h

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTC
TGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCC
CTAAGCCTCTGATCTACTACACCAGCAACCTGCAGAGCGGCGTGCCCAGCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATA
TCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACGACAGCAGCCCCAGAACATTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAA
GCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACT
TCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGAC
AGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAG
CTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT

Trình tự tín hiệu 1-60, vùng biến đổi 61-384, vùng hằng định 385-702

Fig.40-1

SEQ ID NO: 139: Trình tự axit amin của #131H2hIgG2 (mỗi vùng CDR được gạch chân)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFNNYWMTWVRQAPGKGLEWVASITKAGGSTYYADSVKGRFTISRDNSK
STLYLQMNSLRAEGTAVYYCTRELGEFYVMDAWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Trình tự tín hiệu 1-19, vùng biến đổi 20-138, vùng hằng định 139-464

SEQ ID NO: 140: Trình tự nucleotit của #131H2hIgG2

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTTCAGCTGGTTGAATCTGGTGGCGGAGTGGTGCA
GCCTGGCAGATCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAACAAGTACTGGATGACCTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGAC
TTGAATGGGTCGCCAGCATCACCAAGGCTGGCGGCTCTACCTACTACGCCGATAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAG
AGCACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGGCACAGCCGTGTACTACTGTACAAGAGAGCTGGGCGAGTTCTACGTGATGGATGC
CTGGGGCCAGGGCACCACAGTTACAGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGTAGCCGTTCCACCAGCGAGT
CCACCGCCGCCCTTGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGAGCTGGAACTCCGGAGCCCTTACCAGCGGCGTGCACACC
TTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCAGCGGCCTTTACTCCCTGAGCTCCGTGGTGACCGTGCCTAGCTCCAACTTCGGCACCCAAACCTACACCTGTAA
CGTGGACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGCGTAAGTGTTGTGTGGAGTGTCCTCCTTGTCCTGCCCCTCCTGTGGCCG
GACCTTCCGTGTTCCTTTTCCCTCCTAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCCGTACCCCTGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAC
GAGGACCCTGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGTGAGGAGCAATTCAACAGCACCTT
CCGTGTGGTGTCCGTGCTTACCGTGGTGCACCAAGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGAGCAACAAGGGACTTCCTGCCCCTA
TCGAGAAGACCATCTCCAAGACCAAGGGCCAACCTCGTGAGCCTCAAGTGTACACCCTTCCTCCTAGCCGTGAGGAGATGACCAAGAACCAAGTG
TCCCTTACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGACAACCTGAGAACAACTACAAGACCACCCC
TCCTATGCTTGACAGCGACGGCTCCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTgACCGTGGACAAGTCCCGTTGGCAACAAGGCAACGTGTTCAGCTGTTCCG
TGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAAAAGAGCCTTTCCCTGAGCCCTGGAAAG

Trình tự tín hiệu 1-57, vùng biến đổi 58-414, vùng hằng định 415-1392

Fig.40-2

SEQ ID NO: 141:Trình tự axit amin của #131L2h (mỗi vùng CDR được gạch chân)

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDVQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASKSINTYLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGTPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYCQQHNEYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Trình tự tín hiệu 1-20, vùng biến đổi 21-128, vùng hằng định 129-234

SEQ ID NO: 142: Trình tự nucleotit của #131L2h

ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGACGTTCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTC
TGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACATGCAAGGCCAGCAAGAGCATCAACACCTACCTGGCCTGGTATCAAGAGAAGCCCGGCAAGACCA
ACAAGCTGCTGATCTACAGCGGCAGCACACTGCAGAGCGGCACCCCTTCTAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATA
TCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGCACAACGAGTACCCCTTCACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAA
GCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACT
TCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGAC
AGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAG
CTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT

Trình tự tín hiệu 1-60, vùng biến đổi 61-384, vùng hằng định 385-702

Fig.41

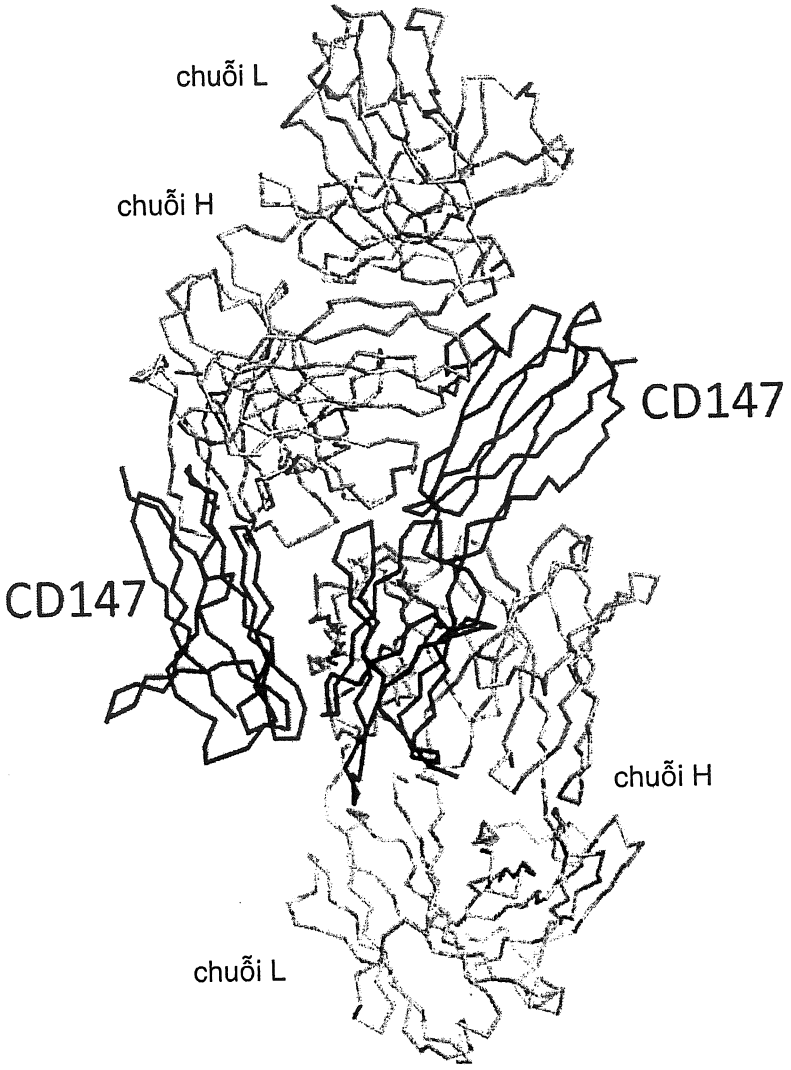


Fig.42

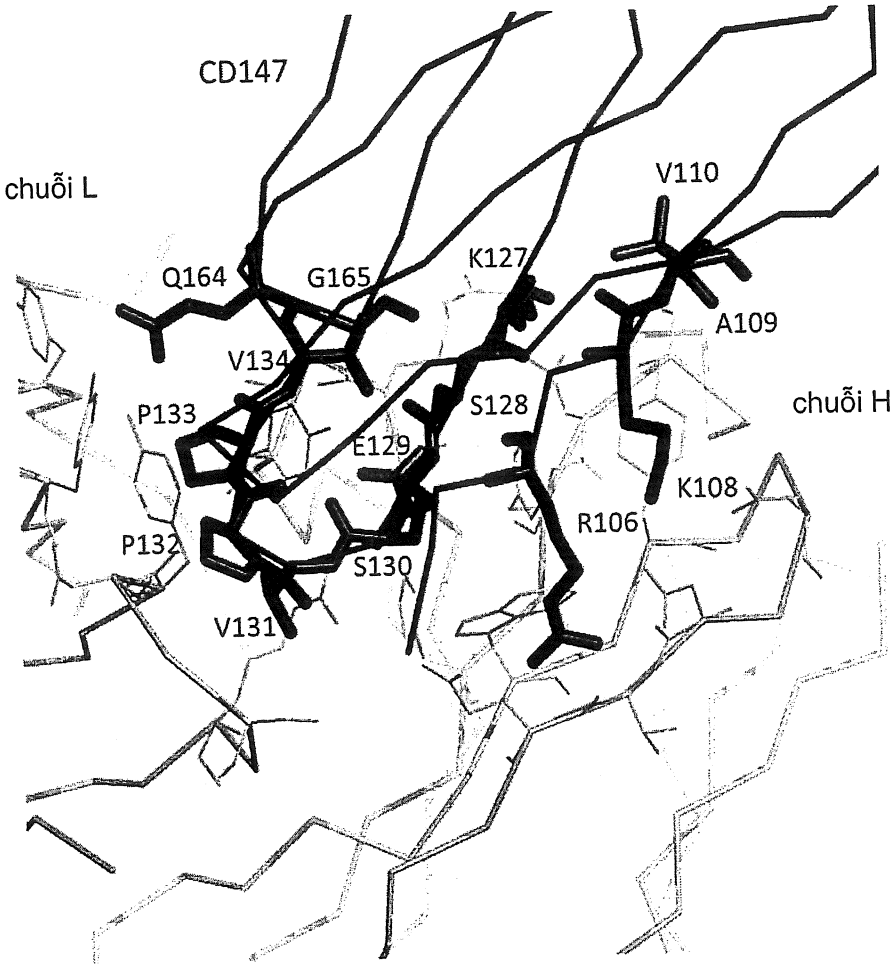

CD147
chuỗi L
V110
Q164
G165
K127
A109
V134
P133
S128
chuỗi H
E129
K108
R106
P132
S130
V131

Fig.43

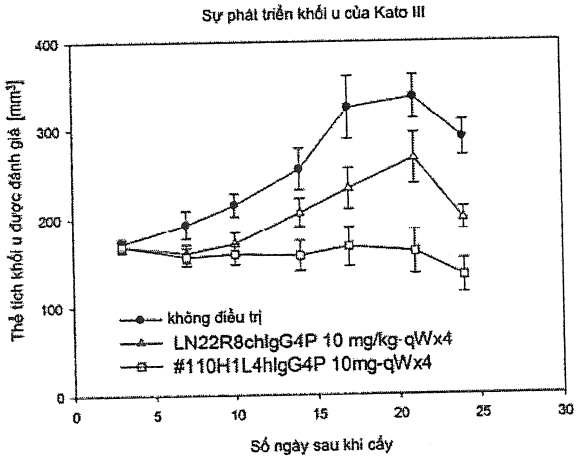

Sự phát triển khối u của Kato III
Thể tích khối u được đánh giá [mm³]
Số ngày sau khi cấy
không điều trị
LN22R8chIgG4P 10 mg/kg qWx4
#110H1L4hIgG4P 10mg-qWx4

Fig.44

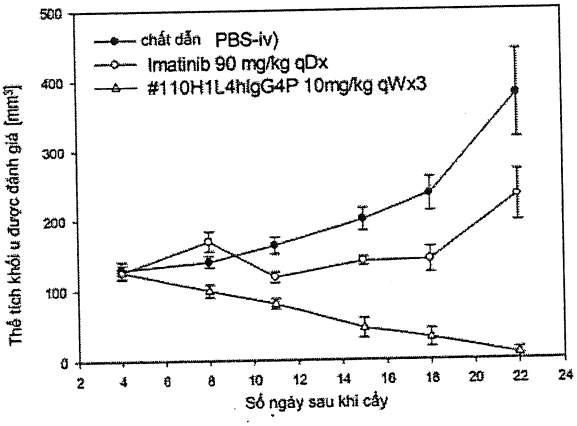

chất dẫn PBS-iv)
Imatinib 90 mg/kg qDx
#110H1L4hIgG4P 10mg/kg qWx3
Thể tích khối u được đánh giá [mm³]
Số ngày sau khi cấy

Fig.45

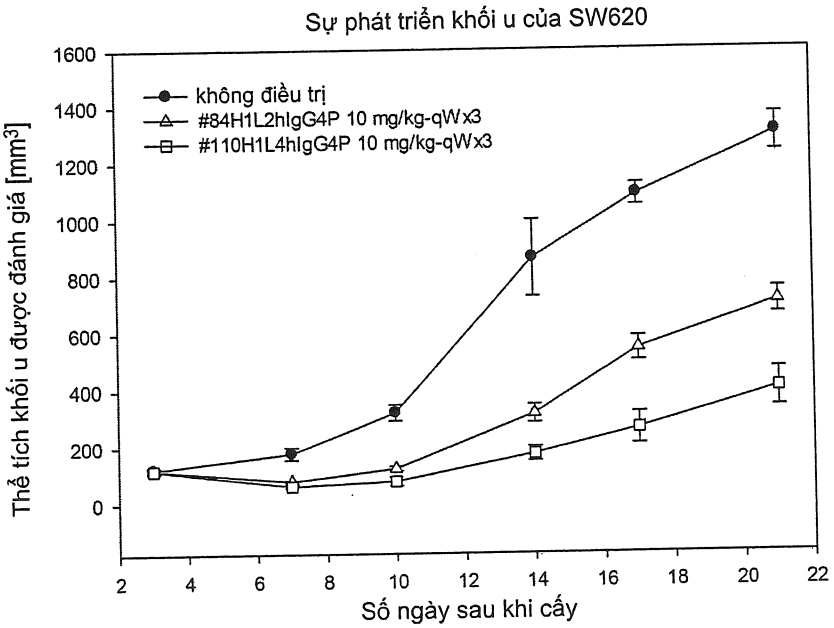

Sự phát triển khối u của SW620
không điều trị
#84H1L2hIgG4P 10 mg/kg-qWx3
#110H1L4hIgG4P 10 mg/kg-qWx3
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy

Fig.46

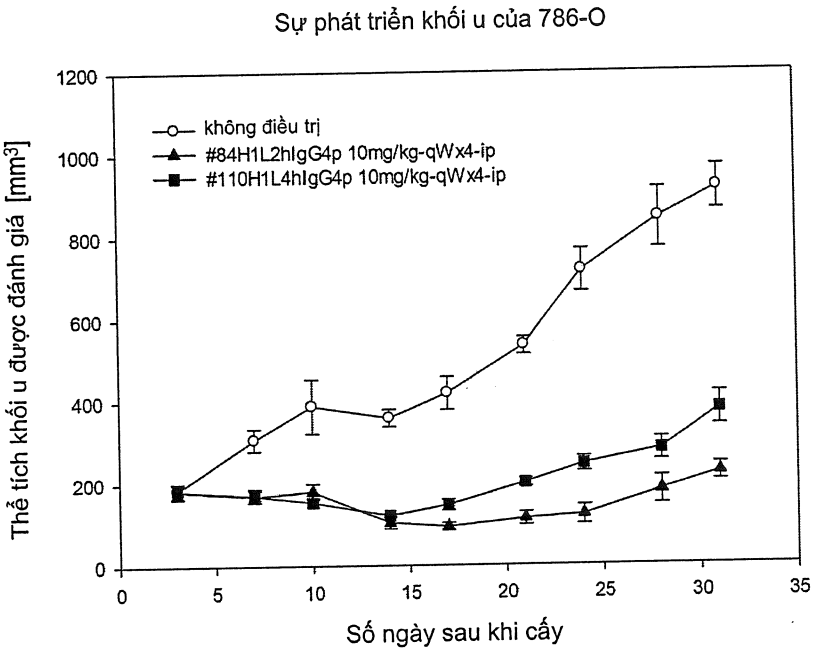

Sự phát triển khối u của 786-O
không điều trị
#84H1L2hIgG4p 10mg/kg-qWx4-ip
#110H1L4hIgG4p 10mg/kg-qWx4-ip
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy

Fig.47

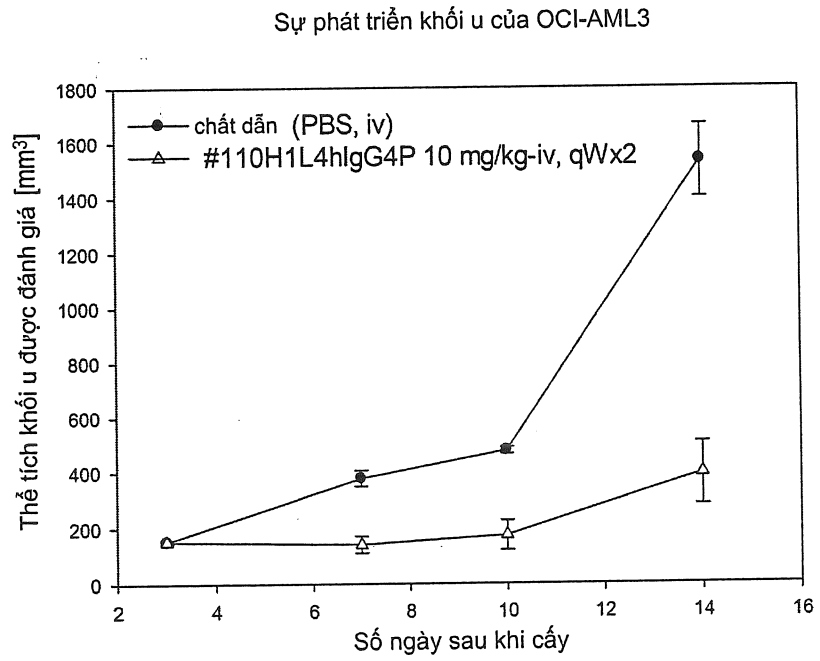

Sự phát triển khối u của OCI-AML3
chất dẫn (PBS, iv)
#110H1L4hIgG4P 10 mg/kg-iv, qWx2
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
2
4
6
8
10
12
14
16

Fig.48

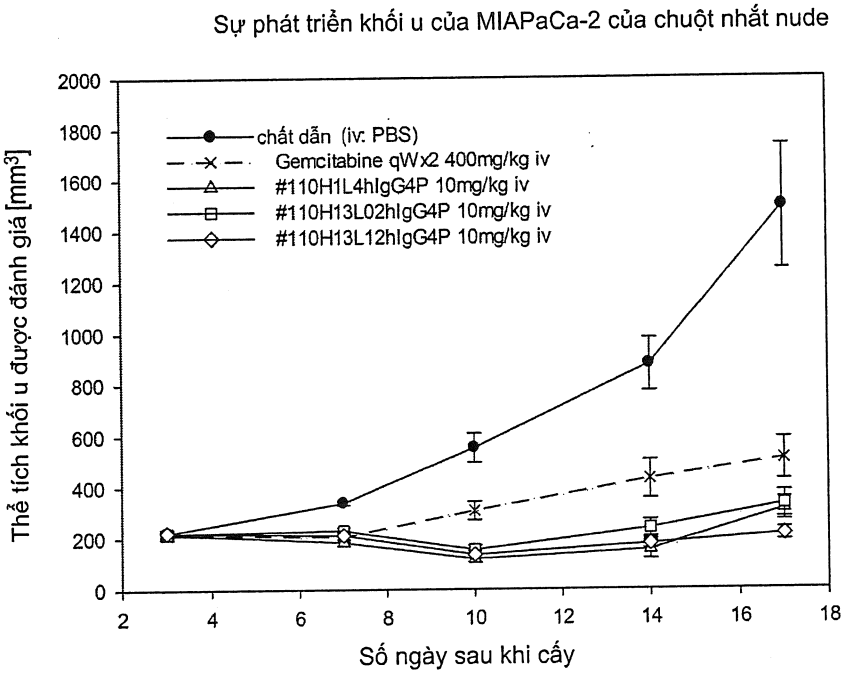
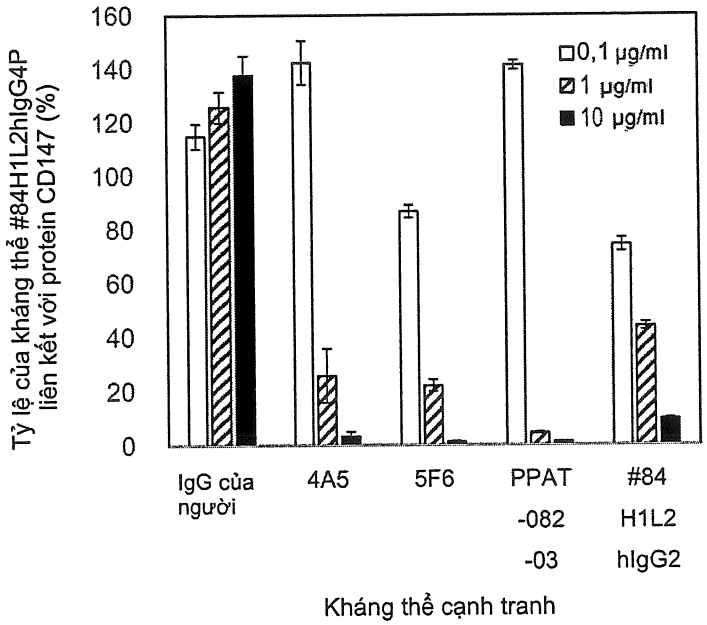

Sự phát triển khối u của MIAPaCa-2 của chuột nhắt nude
chất dẫn (iv: PBS)
Gemcitabine qWx2 400mg/kg iv
#110H1L4hIgG4P 10mg/kg iv
#110H13L02hIgG4P 10mg/kg iv
#110H13L12hIgG4P 10mg/kg iv
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
Số ngày sau khi cấy
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
2000
2
4
6
8
10
12
14
16
18

Fig.49

(a)


Tỷ lệ của kháng thể #84H1L2hIgG4P liên kết với protein CD147 (%)
160
140
120
100
80
60
40
20
0
0,1 µg/ml
1 µg/ml
10 µg/ml
IgG của người
4A5
5F6
PPAT -082 -03
#84 H1L2 hIgG2
Kháng thể cạnh tranh

(b)

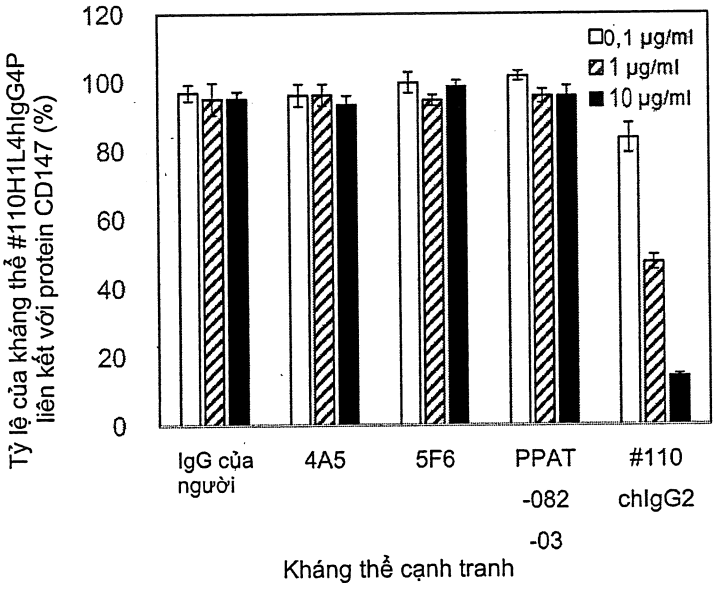
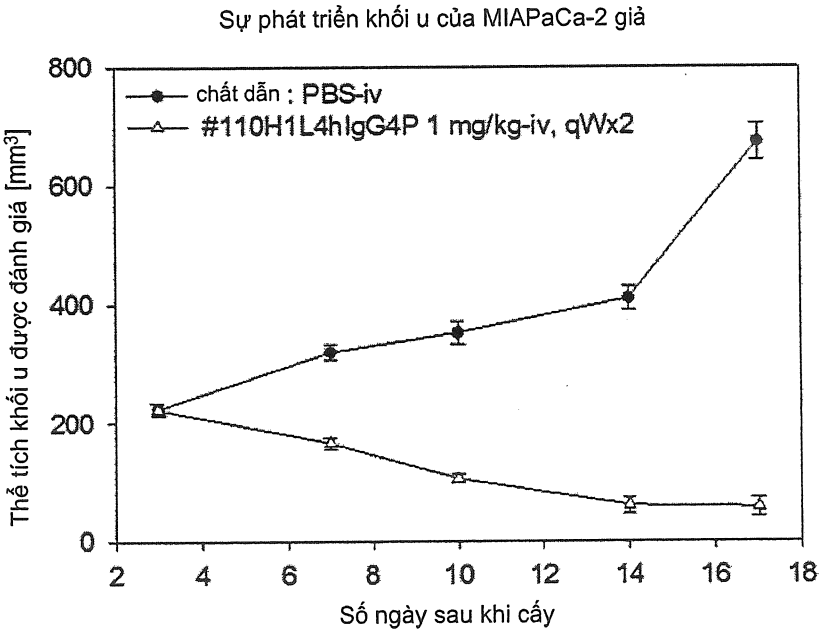
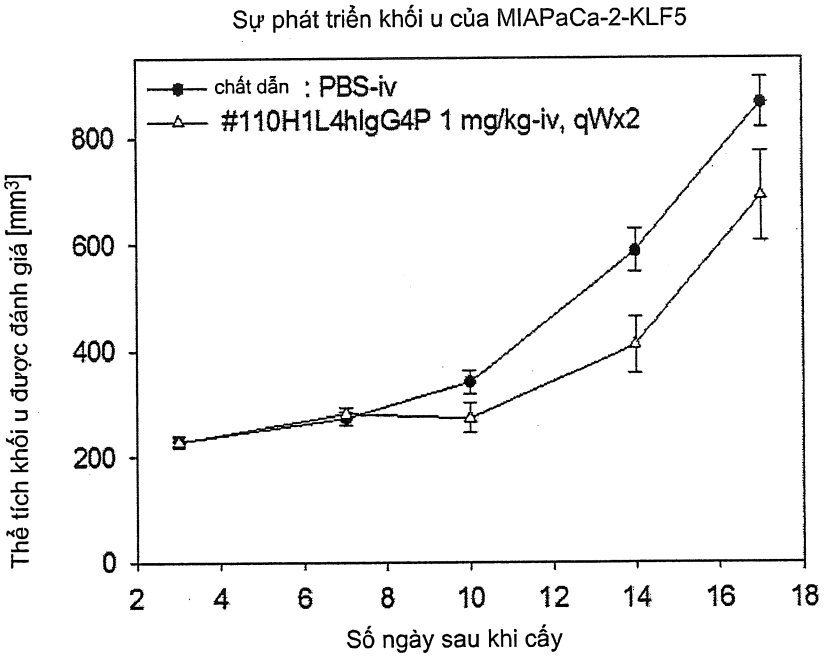

Tỷ lệ của kháng thể #110H1L4hIgG4P liên kết với protein CD147 (%)
120
100
80
60
40
20
0
0,1 µg/ml
1 µg/ml
10 µg/ml
IgG của người
4A5
5F6
PPAT -082 -03
#110 chIgG2
Kháng thể cạnh tranh

Fig.50

(a)


Sự phát triển khối u của MIAPaCa-2 giả
chất dẫn : PBS-iv
#110H1L4hIgG4P 1 mg/kg-iv, qWx2
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
800
600
400
200
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
Số ngày sau khi cấy

(b)


Sự phát triển khối u của MIAPaCa-2-KLF5
chất dẫn : PBS-iv
#110H1L4hIgG4P 1 mg/kg-iv, qWx2
Thể tích khối u được đánh giá [mm3]
800
600
400
200
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
Số ngày sau khi cấy

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED

<120> Kháng thể kháng CD147

<130> DSPCT-FP1821

<150> JP2017-145701
<151> 2017-07-27

<160> 152

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1
<211> 385
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 1

Met Ala Ala Ala Leu Phe Val Leu Leu Gly Phe Ala Leu Leu Gly Thr
1 5 10 15

His Gly Ala Ser Gly Ala Ala Gly Phe Val Gln Ala Pro Leu Ser Gln
20 25 30

Gln Arg Trp Val Gly Gly Ser Val Glu Leu His Cys Glu Ala Val Gly
35 40 45

Ser Pro Val Pro Glu Ile Gln Trp Trp Phe Glu Gly Gln Gly Pro Asn
50 55 60

Asp Thr Cys Ser Gln Leu Trp Asp Gly Ala Arg Leu Asp Arg Val His
65 70 75 80

Ile His Ala Thr Tyr His Gln His Ala Ala Ser Thr Ile Ser Ile Asp
85 90 95

Thr Leu Val Glu Glu Asp Thr Gly Thr Tyr Glu Cys Arg Ala Ser Asn
100 105 110

Asp Pro Asp Arg Asn His Leu Thr Arg Ala Pro Arg Val Lys Trp Val
115 120 125

Arg Ala Gln Ala Val Val Leu Val Leu Glu Pro Gly Thr Val Phe Thr
130 135 140

Thr Val Glu Asp Leu Gly Ser Lys Ile Leu Leu Thr Cys Ser Leu Asn
145 150 155 160

Asp Ser Ala Thr Glu Val Thr Gly His Arg Trp Leu Lys Gly Gly Val
165 170 175

Val Leu Lys Glu Asp Ala Leu Pro Gly Gln Lys Thr Glu Phe Lys Val
180 185 190

Asp Ser Asp Asp Gln Trp Gly Glu Tyr Ser Cys Val Phe Leu Pro Glu
195 200 205

Pro Met Gly Thr Ala Asn Ile Gln Leu His Gly Pro Pro Arg Val Lys
210 215 220

Ala Val Lys Ser Ser Glu His Ile Asn Glu Gly Glu Thr Ala Met Leu
225 230 235 240

Val Cys Lys Ser Glu Ser Val Pro Pro Val Thr Asp Trp Ala Trp Tyr
245 250 255

Lys Ile Thr Asp Ser Glu Asp Lys Ala Leu Met Asn Gly Ser Glu Ser
260 265 270

Arg Phe Phe Val Ser Ser Ser Gln Gly Arg Ser Glu Leu His Ile Glu
275 280 285

Asn Leu Asn Met Glu Ala Asp Pro Gly Gln Tyr Arg Cys Asn Gly Thr
290 295 300

Ser Ser Lys Gly Ser Asp Gln Ala Ile Ile Thr Leu Arg Val Arg Ser
305 310 315 320

His Leu Ala Ala Leu Trp Pro Phe Leu Gly Ile Val Ala Glu Val Leu
325 330 335

Val Leu Val Thr Ile Ile Phe Ile Tyr Glu Lys Arg Arg Lys Pro Glu
340 345 350

Asp Val Leu Asp Asp Asp Asp Ala Gly Ser Ala Pro Leu Lys Ser Ser
355 360 365

Gly Gln His Gln Asn Asp Lys Gly Lys Asn Val Arg Gln Arg Asn Ser
370 375 380

Ser
385

<210> 2
<211> 1158
<212> ADN
<213> Người hiện đại

<400> 2
atggcggctg cgctgttcgt gctgctggga ttcgcgctgc tgggcaccca cggagcctcc 60

ggggctgccg gcttcgtcca ggcgccgctg tcccagcaga ggtgggtggg gggcagtgtg 120

gagctgcact gcgaggccgt gggcagcccg gtgcccgaga tccagtggtg gtttgaaggg 180

cagggtccca acgacacctg ctcccagctc tgggacggcg cccggctgga ccgcgtccac 240

atccacgcca cctaccacca gcacgcggcc agcaccatct ccatcgacac gctcgtggag 300

gaggacacgg gcacttacga gtgccgggcc agcaacgacc cggatcgcaa ccacctgacc 360

cgggcgccca gggtcaagtg ggtccgcgcc caggcagtcg tgctagtcct ggaacccggc 420

acagtcttca ctaccgtaga agaccttggc tccaagatac tcctcacctg ctccttgaat 480

gacagcgcca cagaggtcac agggcaccgc tggctgaagg ggggcgtggt gctgaaggag 540

gacgcgctgc ccggccagaa aacggagttc aaggtggact ccgacgacca gtggggagag 600

tactcctgcg tcttcctccc cgagcccatg ggcacggcca acatccagct ccacgggcct 660

cccagagtga aggctgtgaa gtcgtcagaa cacatcaacg agggggagac ggccatgctg 720

gtctgcaagt cagagtccgt gccacctgtc actgactggg cctggtacaa gatcactgac 780

tctgaggaca aggccctcat gaacggctcc gagagcaggt tcttcgtgag ttcctcgcag 840

ggccggtcag agctacacat tgagaacctg aacatggagg ccgaccccgg ccagtaccgg 900

tgcaacggca ccagctccaa gggctccgac caggccatca tcacgctccg cgtgcgcagc 960

cacctggccg ccctctggcc cttcctgggc atcgtggctg aggtgctggt gctggtcacc 1020

atcatcttca tctacgagaa gcgccggaag cccgaggacg tcctggatga tgacgacgcc 1080

ggctctgcac ccctgaagag cagcgggcag caccagaatg acaaaggcaa gaacgtccgc 1140

cagaggaact cttcctga 1158

<210> 3
<211> 269
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 3

Met Ala Ala Ala Leu Phe Val Leu Leu Gly Phe Ala Leu Leu Gly Thr
1 5 10 15

His Gly Ala Ser Gly Ala Ala Gly Thr Val Phe Thr Thr Val Glu Asp
20 25 30

Leu Gly Ser Lys Ile Leu Leu Thr Cys Ser Leu Asn Asp Ser Ala Thr
35 40 45

Glu Val Thr Gly His Arg Trp Leu Lys Gly Gly Val Val Leu Lys Glu
50 55 60

Asp Ala Leu Pro Gly Gln Lys Thr Glu Phe Lys Val Asp Ser Asp Asp
65 70 75 80

Gln Trp Gly Glu Tyr Ser Cys Val Phe Leu Pro Glu Pro Met Gly Thr
85 90 95

Ala Asn Ile Gln Leu His Gly Pro Pro Arg Val Lys Ala Val Lys Ser
100 105 110

Ser Glu His Ile Asn Glu Gly Glu Thr Ala Met Leu Val Cys Lys Ser
115 120 125

Glu Ser Val Pro Pro Val Thr Asp Trp Ala Trp Tyr Lys Ile Thr Asp
130 135 140

Ser Glu Asp Lys Ala Leu Met Asn Gly Ser Glu Ser Arg Phe Phe Val
145 150 155 160

Ser Ser Ser Gln Gly Arg Ser Glu Leu His Ile Glu Asn Leu Asn Met
165 170 175

Glu Ala Asp Pro Gly Gln Tyr Arg Cys Asn Gly Thr Ser Ser Lys Gly
180 185 190

Ser Asp Gln Ala Ile Ile Thr Leu Arg Val Arg Ser His Leu Ala Ala
195 200 205

Leu Trp Pro Phe Leu Gly Ile Val Ala Glu Val Leu Val Leu Val Thr
210 215 220

Ile Ile Phe Ile Tyr Glu Lys Arg Arg Lys Pro Glu Asp Val Leu Asp
225 230 235 240

Asp Asp Asp Ala Gly Ser Ala Pro Leu Lys Ser Ser Gly Gln His Gln
245 250 255

Asn Asp Lys Gly Lys Asn Val Arg Gln Arg Asn Ser Ser
260 265

<210> 4
<211> 810
<212> ADN
<213> Người hiện đại

<400> 4
atggcggctg cgctgttcgt gctgctggga ttcgcgctgc tgggcaccca cggagcctcc 60

ggggctgccg gcacagtctt cactaccgta gaagaccttg gctccaagat actcctcacc 120

tgctccttga atgacagcgc cacagaggtc acagggcacc gctggctgaa ggggggcgtg 180

gtgctgaagg aggacgcgct gcccggccag aaaacggagt tcaaggtgga ctccgacgac 240

cagtggggag agtactcctg cgtcttcctc cccgagccca tgggcacggc caacatccag 300

ctccacgggc ctcccagagt gaaggctgtg aagtcgtcag aacacatcaa cgagggggag 360

acggccatgc tggtctgcaa gtcagagtcc gtgccacctg tcactgactg ggcctggtac 420

aagatcactg actctgagga caaggccctc atgaacggct ccgagagcag gttcttcgtg 480

agttcctcgc agggccggtc agagctacac attgagaacc tgaacatgga ggccgacccc 540

ggccagtacc ggtgcaacgg caccagctcc aagggctccg accaggccat catcacgctc 600

cgcgtgcgca gccacctggc cgccctctgg cccttcctgg gcatcgtggc tgaggtgctg 660

gtgctggtca ccatcatctt catctacgag aagcgccgga agcccgagga cgtcctggat 720

gatgacgacg ccggctctgc acccctgaag agcagcgggc agcaccagaa tgacaaaggc 780

aagaacgtcc gccagaggaa ctcttcctga 810

<210> 5
<211> 552
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 5

```
Met Asp Asn Met Ser Ile Thr Asn Thr Pro Thr Ser Asn Asp Ala Cys
1               5                  10                  15

Leu Ser Ile Val His Ser Leu Met Cys His Arg Gln Gly Gly Glu Ser
            20                  25                  30

Glu Thr Phe Ala Lys Arg Ala Ile Glu Ser Leu Val Lys Lys Leu Lys
        35                  40                  45

Glu Lys Lys Asp Glu Leu Asp Ser Leu Ile Thr Ala Ile Thr Thr Asn
    50                  55                  60

Gly Ala His Pro Ser Lys Cys Val Thr Ile Gln Arg Thr Leu Asp Gly
65                  70                  75                  80

Arg Leu Gln Val Ala Gly Arg Lys Gly Phe Pro His Val Ile Tyr Ala
                85                  90                  95

Arg Leu Trp Arg Trp Pro Asp Leu His Lys Asn Glu Leu Lys His Val
            100                 105                 110

Lys Tyr Cys Gln Tyr Ala Phe Asp Leu Lys Cys Asp Ser Val Cys Val
        115                 120                 125

Asn Pro Tyr His Tyr Glu Arg Val Val Ser Pro Gly Ile Asp Leu Ser
    130                 135                 140

Gly Leu Thr Leu Gln Ser Asn Ala Pro Ser Ser Met Met Val Lys Asp
145                 150                 155                 160

Glu Tyr Val His Asp Phe Glu Gly Gln Pro Ser Leu Ser Thr Glu Gly
                165                 170                 175

His Ser Ile Gln Thr Ile Gln His Pro Pro Ser Asn Arg Ala Ser Thr
            180                 185                 190

Glu Thr Tyr Ser Thr Pro Ala Leu Leu Ala Pro Ser Glu Ser Asn Ala
        195                 200                 205

Thr Ser Thr Ala Asn Phe Pro Asn Ile Pro Val Ala Ser Thr Ser Gln
    210                 215                 220

Pro Ala Ser Ile Leu Gly Gly Ser His Ser Glu Gly Leu Leu Gln Ile
225                 230                 235                 240

Ala Ser Gly Pro Gln Pro Gly Gln Gln Gln Asn Gly Phe Thr Gly Gln
                245                 250                 255

Pro Ala Thr Tyr His His Asn Ser Thr Thr Thr Trp Thr Gly Ser Arg
            260                 265                 270

Thr Ala Pro Tyr Thr Pro Asn Leu Pro His His Gln Asn Gly His Leu
        275                 280                 285
```

Gln His His Pro Pro Met Pro Pro His Pro Gly His Tyr Trp Pro Val
290 295 300

His Asn Glu Leu Ala Phe Gln Pro Pro Ile Ser Asn His Pro Ala Pro
305 310 315 320

Glu Tyr Trp Cys Ser Ile Ala Tyr Phe Glu Met Asp Val Gln Val Gly
325 330 335

Glu Thr Phe Lys Val Pro Ser Ser Cys Pro Ile Val Thr Val Asp Gly
340 345 350

Tyr Val Asp Pro Ser Gly Gly Asp Arg Phe Cys Leu Gly Gln Leu Ser
355 360 365

Asn Val His Arg Thr Glu Ala Ile Glu Arg Ala Arg Leu His Ile Gly
370 375 380

Lys Gly Val Gln Leu Glu Cys Lys Gly Glu Gly Asp Val Trp Val Arg
385 390 395 400

Cys Leu Ser Asp His Ala Val Phe Val Gln Ser Tyr Tyr Leu Asp Arg
405 410 415

Glu Ala Gly Arg Ala Pro Gly Asp Ala Val His Lys Ile Tyr Pro Ser
420 425 430

Ala Tyr Ile Lys Val Phe Asp Leu Arg Gln Cys His Arg Gln Met Gln
435 440 445

Gln Gln Ala Ala Thr Ala Gln Ala Ala Ala Ala Ala Gln Ala Ala Ala
450 455 460

Val Ala Gly Asn Ile Pro Gly Pro Gly Ser Val Gly Gly Ile Ala Pro
465 470 475 480

Ala Ile Ser Leu Ser Ala Ala Ala Gly Ile Gly Val Asp Asp Leu Arg
485 490 495

Arg Leu Cys Ile Leu Arg Met Ser Phe Val Lys Gly Trp Gly Pro Asp
500 505 510

Tyr Pro Arg Gln Ser Ile Lys Glu Thr Pro Cys Trp Ile Glu Ile His
515 520 525

Leu His Arg Ala Leu Gln Leu Leu Asp Glu Val Leu His Thr Met Pro
530 535 540

Ile Ala Asp Pro Gln Pro Leu Asp
545 550

<210> 6
<211> 1659
<212> ADN
<213> Người hiện đại

<400> 6
atggacaata tgtctattac gaatacacca acaagtaatg atgcctgtct gagcattgtg 60
catagtttga tgtgccatag acaaggtgga gagagtgaaa catttgcaaa aagagcaatt 120
gaaagtttgg taaagaagct gaaggagaaa aaagatgaat tggattcttt aataacagct 180
ataactacaa atggagctca tcctagtaaa tgtgttacca tacagagaac attggatggg 240
aggcttcagg tggctggtcg gaaaggattt cctcatgtga tctatgcccg tctctggagg 300
tggcctgatc ttcacaaaaa tgaactaaaa catgttaaat attgtcagta tgcgtttgac 360
ttaaaatgtg atagtgtctg tgtgaatcca tatcactacg aacgagttgt atcacctgga 420
attgatctct caggattaac actgcagagt aatgctccat caagtatgat ggtgaaggat 480
gaatatgtgc atgactttga gggacagcca tcgttgtcca ctgaaggaca ttcaattcaa 540
accatccagc atccaccaag taatcgtgca tcgacagaga catacagcac cccagctctg 600
ttagccccat ctgagtctaa tgctaccagc actgccaact ttcccaacat tcctgtggct 660
tccacaagtc agcctgccag tatactgggg ggcagccata gtgaaggact gttgcagata 720
gcatcagggc ctcagccagg acagcagcag aatggattta ctggtcagcc agctacttac 780
catcataaca gcactaccac ctggactgga agtaggactg caccatacac acctaatttg 840
cctcaccacc aaaacggcca tcttcagcac cacccgccta tgccgcccca tcccggacat 900
tactggcctg ttcacaatga gcttgcattc cagcctccca tttccaatca tcctgctcct 960
gagtattggt gttccattgc ttactttgaa atggatgttc aggtaggaga gacatttaag 1020
gttccttcaa gctgccctat tgttactgtt gatggatacg tggacccttc tggaggagat 1080
cgcttttgtt tgggtcaact ctccaatgtc cacaggacag aagccattga gagagcaagg 1140
ttgcacatag gcaaaggtgt gcagttggaa tgtaaaggtg aaggtgatgt ttgggtcagg 1200
tgccttagtg accacgcggt ctttgtacag agttactact tagacagaga agctgggcgt 1260
gcacctggag atgctgttca taagatctac ccaagtgcat atataaaggt ctttgatttg 1320
cgtcagtgtc atcgacagat gcagcagcag gcggctactg cacaagctgc agcagctgcc 1380
caggcagcag ccgtggcagg aaacatccct ggcccaggat cagtaggtgg aatagctcca 1440
gctatcagtc tgtcagctgc tgctggaatt ggtgttgatg accttcgtcg cttatgcata 1500
ctcaggatga gttttgtgaa aggctgggga ccggattacc caagacagag catcaaagaa 1560
acaccttgct ggattgaaat tcacttacac cgggccctcc agctcctaga cgaagtactt 1620
cataccatgc cgattgcaga cccacaacct ttagactga 1659

<210> 7
<211> 324
<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 7
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ttatctgcct ctctgggaga aagagtcagt 60
ctcacttgtc gggcaagtct ggaaattagt ggtttcttaa gttggcttca gcagaaacca 120
gatggaacta ttaaacgcct gatctacgcc gcatccattt tagattctgg tgtcccaaaa 180
aggttcagtg gcagtaggtc tgggtcagat tattctctca ccatcagcag ccttgagtct 240

gaagattttg cagactatta ctgtctacaa tatgctagtt atccgtggac gttcggtgga 300

ggcaccaagc tggaaatcaa acgg 324

<210> 8
<211> 108
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 8

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

Glu Arg Val Ser Leu Thr Cys Arg Ala Ser Leu Glu Ile Ser Gly Phe
20 25 30

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Ile Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ile Leu Asp Ser Gly Val Pro Lys Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Ser Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ala Ser Tyr Pro Trp
85 90 95

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

<210> 9
<211> 366
<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 9
cagatccagt tggtgcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60

tcctgcaagg cttctgggta taccttcaca aactatggaa tgaactgggt gaagcaggct 120

ccaggaaagg gtttaaagtg gatgggctgg ataaacacct acactggaga gccaacatat 180

gctgatgact tcaagggacg gtttgccttc tctttggaaa cctctgccag cactgcctat 240

ttgcagatca acaacctcaa aaatgaggac acggctacat atttctgtgc aagaggggg 300

tatggtaact acggggcggg ggctatggac tactggggtc aaggtacctc agtcaccgtc 360

tcctca 366

<210> 10
<211> 122
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 10

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

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

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Gly Asn Tyr Gly Ala Gly Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 11
<211> 11
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 11

Arg Ala Ser Leu Glu Ile Ser Gly Phe Leu Ser
1 5 10

<210> 12
<211> 7
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 12

Ala Ala Ser Ile Leu Asp Ser
1 5

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 13

Leu Gln Tyr Ala Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 14
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 14

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn
1 5 10

<210> 15
<211> 10
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 15

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr
1 5 10

<210> 16
<211> 13
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 16

Gly Gly Tyr Gly Asn Tyr Gly Ala Gly Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 17
<211> 324
<212> ADN
<213> Rattus norvegicus

<400> 17
gacatccaga tgacacagtc tccagcttcc ctgtctgcat ctctgggaga aactgtctcc 60

atcgaatgtc ttgcaagtga gggcatttcc aatagtttag cgtggtatca gcagaagcca 120

gggaaatctc ctcagctcct gatctatggt gcaagtagct tgcaagacgg ggtcccatca 180

cggttcagtg gcagtggatc tggcacacag tattctctca agatcagcgg catgcaacct 240

gaagatgaag gggtttatta ctgtcaacag ggttacaagt atccattcac gttcggctca 300

gggacgaagt tggaaataaa acgg 324

<210> 18
<211> 108
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 18

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

Glu Thr Val Ser Ile Glu Cys Leu Ala Ser Glu Gly Ile Ser Asn Ser
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Ser Gly Met Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Glu Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Lys Tyr Pro Phe
85 90 95

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

<210> 19
<211> 351
<212> ADN
<213> Rattus norvegicus

<400> 19
gaggtgcagc ttcaggagtc aggacctggc cttgtgaaac cctcacagtc actctccctc 60

acctgttctg tcactggtta ctccatcact agtaattact ggggctggat ccggaagttc 120

ccaggaaata aaatggagtg gatgggatgc ataacctaca gtggtggcac tagctacaac 180

ccatctctca aaagtcgaat ctccattact agagacacat caaagaatca gttcttcctg 240

cagttgaact ctgtaactac tgaggacaca gccacatatt actgtgcaag ttcctatacc 300

agtggtgacg tcgattactg gggccaagga gtcatggtca cagtctcctc a 351

<210> 20
<211> 117
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 20

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

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Met Glu Trp Met
35 40 45

Gly Cys Ile Thr Tyr Ser Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

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

Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Tyr Thr Ser Gly Asp Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 21
<211> 11
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 21

Leu Ala Ser Glu Gly Ile Ser Asn Ser Leu Ala
1 5 10

<210> 22
<211> 7
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 22

Gly Ala Ser Ser Leu Gln Asp
1 5

<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 23

Gln Gln Gly Tyr Lys Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 24
<211> 10
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 24

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn Tyr Trp Gly
1 5 10

<210> 25
<211> 9
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 25

Cys Ile Thr Tyr Ser Gly Gly Thr Ser
1 5

<210> 26
<211> 9
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 26

Ser Tyr Thr Ser Gly Asp Val Asp Tyr
1 5

<210> 27
<211> 449
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> ADN chứa trình tự ADN mã hóa trình tự tín hiệu chuỗi nhẹ của người và vùng hằng định chuỗi kapa của người

<400> 27
gcctccggac tctagagcca ccatggtgct gcagacccag gtgttcatct ccctgctgct 60

gtggatctcc ggcgcgtacg gcgatatcgt gatgattaaa cgtacggtgg ccgccccctc 120

cgtgttcatc ttcccccccct ccgacgagca gctgaagtcc ggcaccgcct ccgtggtgtg 180

cctgctgaat aacttctacc ccagagaggc caaggtgcag tggaaggtgg acaacgccct 240

gcagtccggg aactcccagg agagcgtgac cgagcaggac agcaaggaca gcacctacag 300

cctgagcagc accctgaccc tgagcaaagc cgactacgag aagcacaagg tgtacgcctg 360

cgaggtgacc caccagggcc tgagctcccc cgtcaccaag agcttcaaca gggggggagtg 420

ttaggggccc gtttaaacgg gggaggcta 449

<210> 28
<211> 1132
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> ADN chứa trình tự ADN mã hóa axit amin của trình tự tín hiệu chuỗi nặng của người và vùng hằng định IgG1 của người

<400> 28
gcctccggac tctagagcca ccatgaaaca cctgtggttc ttcctcctgc tggtggcagc 60

tcccagatgg gtgctgagcc aggtgcaatt gtgcaggcgg ttagctcagc ctccaccaag 120

ggcccaagcg tcttcccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc 180

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaacccgtga ccgtgagctg gaactcaggc 240

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc 300

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 360

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac 420

aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tgggggggacc ctcagtcttc 480

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 540

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 600

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg 660

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 720

aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc 780

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg cccccatccc gggaggagat gaccaagaac 840

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 900

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac 960

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac 1020

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacaccca gaagagcctc 1080

tccctgtctc ccggcaaatg agatatcggg cccgtttaaa cgggggaggc ta 1132

<210> 29
<211> 1114
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> ADN chứa trình tự ADN mã hóa axit amin của trình tự tín hiệu chuỗi nặng của người và vùng hằng định IgG2 của người

<400> 29
ccagcctccg gactctagag ccaccatgaa acacctgtgg ttcttcctcc tgctggtggc 60

agctcccaga tgggtgctga gccaggtgca attgtgcagg cggttagctc agcctccacc 120
aagggccctt ccgtgttccc tctggcccct tgtagccgtt ccaccagcga gtccaccgcc 180
gcccttggct gtctggtgaa ggactacttc cctgagcctg tgaccgtgag ctggaactcc 240
ggagccctta ccagcggcgt gcacaccttc cctgccgtgc tgcagtccag cggcctttac 300
tccctgagct ccgtggtgac cgtgcctagc tccaacttcg gcacccaaac ctacacctgt 360
aacgtggacc acaagcctag caacaccaag gtggacaaga ccgtggagcg taagtgttgt 420
gtggagtgtc ctccttgtcc tgcccctcct gtggccggac cttccgtgtt ccttttccct 480
cctaagccta aggacaccct gatgatcagc cgtacccctg aggtgacctg tgtggtggtg 540
gacgtgtccc acgaggaccc tgaggtgcag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg 600
cacaacgcca agaccaagcc tcgtgaggag caattcaaca gcaccttccg tgtggtgtcc 660
gtgcttaccg tggtgcacca agactggctg aacggcaagg agtacaagtg taaggtgagc 720
aacaagggac ttcctgcccc tatcgagaag accatctcca agaccaaggg ccaacctcgt 780
gagcctcaag tgtacaccct tcctcctagc cgtgaggaga tgaccaagaa ccaagtgtcc 840
cttacctgtc tggtgaaggg cttctaccct agcgacatcg ccgtggagtg ggagtccaac 900
ggacaacctg agaacaacta caagaccacc cctcctatgc ttgacagcga cggctccttc 960
ttcctgtaca gcaagctgac cgtggacaag tcccgttggc aacaaggcaa cgtgttcagc 1020
tgttccgtga tgcacgaggc cctgcacaac cactacaccc aaaagagcct ttccctgagc 1080
cctggaaagt gagtttaaac gggggaggct aact 1114

<210> 30
<211> 702
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ của LN22R8 thể khảm của người

<400> 30
atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ttatctgcct ctctgggaga aagagtcagt 120
ctcacttgtc gggcaagtct ggaaattagt ggtttcttaa gttggcttca gcagaaacca 180
gatggaacta ttaaacgcct gatctacgcc gcatccattt tagattctgg tgtcccaaaa 240
aggttcagtg gcagtaggtc tgggtcagat tattctctca ccatcagcag ccttgagtct 300
gaagattttg cagactatta ctgtctacaa tatgctagtt atccgtggac gttcggtgga 360
ggcaccaagc tggaaatcaa acgggctgtg gccgcccct ccgtgttcat cttcccccc 420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gt 702

<210> 31
<211> 234
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ của LN22R8 thể khảm của người

<400> 31

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Ser Leu Thr Cys Arg Ala Ser Leu Glu
35 40 45

Ile Ser Gly Phe Leu Ser Trp Leu Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Ile
50 55 60

Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ile Leu Asp Ser Gly Val Pro Lys
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Ser Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ala
100 105 110

Ser Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Ala Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 32
<211> 1413

<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng loại IgG1 của LN22R8 thể khảm của người

<400> 32
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60

atccagttgg tgcagtctgg acctgagctg aagaagcctg gagagacagt caagatctcc 120

tgcaaggctt ctgggtatac cttcacaaac tatggaatga actgggtgaa gcaggctcca 180

ggaaagggtt taaagtggat gggctggata aacacctaca ctggagagcc aacatatgct 240

gatgacttca agggacggtt tgccttctct ttggaaacct ctgccagcac tgcctatttg 300

cagatcaaca acctcaaaaa tgaggacacg gctacatatt tctgtgcaag agggggtat 360

ggtaactacg gggcgggggc tatggactac tggggtcaag gtacctcagt caccgtcagc 420

tcagcctcca ccaagggccc aagcgtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 480

ggcggcacag ccgccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc cgtgaccgtg 540

agctggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tccccgctgt cctgcagtcc 600

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 660

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gagagttgag 720

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccctgcc cagcacctga actcctgggg 780

ggaccctcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 840

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 900

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccccggga ggagcagtac 960

aacagcacgt accgggtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 1020

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcccag cccccatcga gaaaaccatc 1080

tccaaagcca aaggccagcc ccgggaacca caggtgtaca ccctgccccc atcccgggag 1140

gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac 1200

atcgccgtgg agtgggagag caatggccag cccgagaaca actacaagac cacccctccc 1260

gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1320

tggcagcagg gcaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1380

acccagaaga gcctctccct gtctcccggc aaa 1413

<210> 33
<211> 471
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng loại IgG1 của LN22R8 thể khảm của người

<400> 33

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys

20 25 30

Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Gly Asn Tyr Gly Ala Gly Ala Met
115 120 125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
130 135 140

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
145 150 155 160

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
165 170 175

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
180 185 190

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
195 200 205

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
210 215 220

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
225 230 235 240

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
245 250 255

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
260 265 270

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
275 280 285

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
290 295 300

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

305 310 315 320

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
325 330 335

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
340 345 350

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
355 360 365

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
370 375 380

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
385 390 395 400

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
405 410 415

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
420 425 430

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
435 440 445

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
450 455 460

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 34
<211> 1401
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng loại IgG2 của LN22R8 thể khảm của người

<400> 34
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60

atccagttgg tgcagtctgg acctgagctg aagaagcctg gagagacagt caagatctcc 120

tgcaaggctt ctgggtatac cttcacaaac tatggaatga actgggtgaa gcaggctcca 180

ggaaagggtt taaagtggat gggctggata aacacctaca ctggagagcc aacatatgct 240

gatgacttca agggacggtt tgccttctct ttggaaacct ctgccagcac tgcctatttg 300

cagatcaaca acctcaaaaa tgaggacacg gctacatatt tctgtgcaag agggggtat 360

ggtaactacg gggcgggggc tatggactac tggggtcaag gtacctcagt caccgtcagc 420

tcagcctcca ccaagggccc ttccgtgttc cctctggccc cttgtagccg ttccaccagc 480

gagtccaccg ccgcccttgg ctgtctggtg aaggactact tccctgagcc tgtgaccgtg 540

agctggaact ccggagccct taccagcggc gtgcacacct tccctgccgt gctgcagtcc 600

agcggccttt actccctgag ctccgtggtg accgtgccta gctccaactt cggcacccaa 660

acctacacct gtaacgtgga ccacaagcct agcaacacca aggtggacaa gaccgtggag 720

cgtaagtgtt gtgtggagtg tcctccttgt cctgccctc ctgtggccgg accttccgtg 780

ttccttttcc ctcctaagcc taaggacacc ctgatgatca gccgtacccc tgaggtgacc 840

tgtgtggtgg tggacgtgtc ccacgaggac cctgaggtgc agttcaactg gtacgtggac 900

ggcgtggagg tgcacaacgc caagaccaag cctcgtgagg agcaattcaa cagcaccttc 960

cgtgtggtgt ccgtgcttac cgtggtgcac caagactggc tgaacggcaa ggagtacaag 1020

tgtaaggtga gcaacaaggg acttcctgcc cctatcgaga agaccatctc caagaccaag 1080

ggccaacctc gtgagcctca agtgtacacc cttcctccta gccgtgagga gatgaccaag 1140

aaccaagtgt cccttacctg tctggtgaag ggcttctacc ctagcgacat cgccgtggag 1200

tgggagtcca acggacaacc tgagaacaac tacaagacca cccctcctat gcttgacagc 1260

gacggctcct tcttcctgta cagcaagctg accgtggaca agtcccgttg gcaacaaggc 1320

aacgtgttca gctgttccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccaaaagagc 1380

ctttccctga gccctggaaa g 1401

<210> 35
<211> 467
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng loại IgG2 của LN22R8 thể khảm của người

<400> 35

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Gly Asn Tyr Gly Ala Gly Ala Met
115 120 125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr

130 135 140

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
145 150 155 160

Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
165 170 175

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
180 185 190

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
195 200 205

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys
210 215 220

Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu
225 230 235 240

Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala
245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

<210> 36
<211> 1454
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> ADN chứa trình tự ADN mã hóa trình tự axit amin của chuỗi nặng loại IgG4P của LN22R8 thể khảm của người

<400> 36
ccagcctccg gactctagag ccaccatgaa gcacctgtgg ttctttctgc tgctggtggc 60
cgctcccaga tgggtgctgt ctcagatcca gctggtgcag agcggccctg agctgaagaa 120
acccggcgag acagtgaaga tcagctgcaa ggccagcggc tacaccttca ccaactacgg 180
catgaactgg gtcaagcagg cccctggcaa gggcctgaag tggatgggct ggatcaacac 240
ctacaccggc gagcccacct acgccgacga cttcaagggc agattcgcct tcagcctgga 300
aaccagcgcc agcaccgcct acctgcagat caacaacctg aagaacgagg acaccgccac 360
ctacttttgc gccagaggcg gctacggcaa ttacggcgct ggcgccatgg attactgggg 420
ccagggaaca agcgtgaccg tgtccagcgc ctctaccaag ggccctagcg tgttccctct 480
ggcccccttgc agcagaagca ccagcgaatc tacagccgcc ctgggctgcc tcgtgaagga 540
ctactttccc gagcccgtga cagtgtcctg gaactctggc gccctgacaa gcggcgtgca 600
caccttttcca gccgtgctgc agagcagcgg cctgtactct ctgagcagcg tcgtgactgt 660
gcccagcagc tctctgggca ccaagaccta cacctgtaac gtggaccaca agcccagcaa 720
caccaaggtg gacaagcggg tggaatctaa gtacggccct ccctgccctc cttgcccagc 780
ccctgaattt ctgggcggac cctccgtgtt cctgttcccc ccaaagccca aggacaccct 840
gatgatcagc cggacccccg aagtgacctg cgtggtggtg gatgtgtccc aggaagatcc 900
cgaggtgcag ttcaattggt acgtggacgg cgtggaagtg cacaacgcca agaccaagcc 960
tagagaggaa cagttcaaca gcacctaccg ggtggtgtcc gtgctgacag tgctgcacca 1020
ggactggctg aacggcaaag agtacaagtg caaggtgtcc aacaagggac tgcccagctc 1080
catcgagaaa accatcagca aggccaaggg ccagccccgc gaaccccagg tgtacacact 1140
gcctccaagc caggaagaga tgaccaagaa ccaggtgtcc ctgacctgtc tcgtgaaagg 1200
cttctacccc tccgatatcg ccgtggaatg ggagagcaac ggccagcccg agaacaacta 1260
caagaccacc ccccctgtgc tggacagcga cggctcattc ttcctgtaca gcagactgac 1320
cgtggacaag agccggtggc aggaaggcaa cgtgttcagc tgcagcgtga tgcacgaggc 1380
cctgcacaac cactacaccc agaagtccct gtctctgagc ctgggcaaat gagtttaaac 1440

ggggggaggct aact 1454

<210> 37
<211> 468
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng loại IgG4P của LN22R8 thể khảm của người

<400> 37

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Gly Asn Tyr Gly Ala Gly Ala Met
115 120 125

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
130 135 140

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
145 150 155 160

Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
165 170 175

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
180 185 190

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
195 200 205

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys
210 215 220

Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
225 230 235 240

Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu
245 250 255

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
260 265 270

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
275 280 285

Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
290 295 300

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
305 310 315 320

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
325 330 335

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
340 345 350

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
355 360 365

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
370 375 380

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
385 390 395 400

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
405 410 415

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
420 425 430

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
435 440 445

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
450 455 460

Ser Leu Gly Lys
465

<210> 38
<211> 1137
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> ADN chứa trình tự ADN mã hóa axit amin của trình tự tín hiệu chuỗi nặng của người và vùng hằng định của IgG1LALA của người

<400> 38

ccagcctccg gactctagag ccaccatgaa acacctgtgg ttcttcctcc tgctggtggc 60
agctcccaga tgggtgctga gccaggtgca attgtgcagg cggttagctc agcctccacc 120
aagggcccaa gcgtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg cggcacagcc 180
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaacccg tgaccgtgag ctggaactca 240
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc cccgctgtcc tgcagtcctc aggactctac 300
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 360
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt 420
gacaaaactc acacatgccc accctgccca gcacctgaag ccgcgggggg accctcagtc 480
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 540
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 600
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccccgggagg agcagtacaa cagcacgtac 660
cgggtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 720
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 780
ggccagcccc gggaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 840
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 900
tgggagagca atggccagcc cgagaacaac tacaagacca cccctcccgt gctggactcc 960
gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggc 1020
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac ccagaagagc 1080
ctctccctgt ctcccggcaa atgagatatc gggcccgttt aaacggggga ggctaac 1137

<210> 39
<211> 1117
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> ADN chứa trình tự ADN mã hóa axit amin của trình tự tín hiệu chuỗi nặng của người và vùng hằng định IgG4P của người

<400> 39
ccagcctccg gactctagag ccaccatgaa acacctgtgg ttcttcctcc tgctggtggc 60
agctcccaga tgggtgctga gccaggtgca attgtgcagg cggttagctc agcctccacc 120
aagggcccta gcgtgttccc tctggccct tgtagcagaa gcaccagcga gtctacagcc 180
gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaactct 240
ggcgctctga caagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 300
tctctgtcca gcgtcgtgac tgtgcccagc agctctctgg gcaccaagac ctacacctgt 360
aacgtggacc acaagcccag caacaccaag gtggacaagc gggtggaatc taagtacggc 420
cctccctgcc ctccttgccc agcccctgaa tttctgggcg gaccctccgt gttcctgttc 480
cccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc agccggaccc ccgaagtgac ctgcgtggtg 540
gtggatgtgt cccaggaaga tcccgaggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa 600
gtgcacaacg ccaagaccaa gcctagagag gaacagttca acagcaccta ccgggtggtg 660
tccgtgctga cagtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtg 720

tccaacaagg gcctgcccag ctccatcgag aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc 780

cgcgaacccc aggtgtacac actgcctcca agccaggaag agatgaccaa gaatcaggtg 840

tccctgacct gtctcgtgaa aggcttctac ccctccgata tcgccgtgga atgggagagc 900

aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccccctg tgctggactc cgatggctca 960

ttcttcctgt acagcagact gaccgtggac aagagccggt ggcaggaagg caacgtgttc 1020

agctgctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgtctctg 1080

agcctgggca aatgagttta aacgggggag gctaact 1117

<210> 40
<211> 702
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ của 2P10F2 thể khảm của người

<400> 40
atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gacatccaga tgacacagtc tccagcttcc ctgtctgcat ctctgggaga aactgtctcc 120

atcgaatgtc ttgcaagtga gggcatttcc aatagtttag cgtggtatca gcagaagcca 180

gggaaatctc ctcagctcct gatctatggt gcaagtagct tgcaagacgg ggtcccatca 240

cggttcagtg gcagtggatc tggcacacag tattctctca agatcagcgg catgcaacct 300

gaagatgaag gggtttatta ctgtcaacag ggttacaagt atccattcac gttcggctca 360

gggacgaagt tggaaataaa acgggctgtg gccgcccccc ccgtgttcat cttccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gt 702

<210> 41
<211> 234
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ của 2P10F2 thể khảm của người

<400> 41

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Leu Gly Glu Thr Val Ser Ile Glu Cys Leu Ala Ser Glu Gly
35 40 45

Ile Ser Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro
50 55 60

Gln Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln Asp Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Ser
85 90 95

Gly Met Gln Pro Glu Asp Glu Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr
100 105 110

Lys Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Ala Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 42
<211> 1398
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng loại IgG1LALA của 2P10F2 thể khảm của người

<400> 42
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagcttc aggagtcagg acctggcctt gtgaaaccct cacagtcact ctccctcacc 120

tgttctgtca ctggttactc catcactagt aattactggg gctggatccg gaagttccca 180

ggaaataaaa tggagtggat gggatgcata acctacagtg gtggcactag ctacaaccca 240

tctctcaaaa gtcgaatctc cattactaga gacacatcaa agaatcagtt cttcctgcag 300

ttgaactctg taactactga ggacacagcc acatattact gtgcaagttc ctataccagt 360

ggtgacgtcg attactgggg ccaaggagtc atggtcacag tcagctcagc ctccaccaag 420

ggcccaagcg tcttcccccт ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc 480

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaacccgtga ccgtgagctg gaactcaggc 540

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc 600

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 660

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac 720

aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaagccg cgggggggacc ctcagtcttc 780

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 840

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 900

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg 960

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1020

aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc 1080

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg cccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac 1260

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac 1320

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacaccca gaagagcctc 1380

tccctgtctc ccggcaaa 1398

<210> 43
<211> 466
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng loại IgG1LALA của 2P10F2 thể khảm của người

<400> 43

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
20 25 30

Pro Ser Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile
35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Met
50 55 60

Glu Trp Met Gly Cys Ile Thr Tyr Ser Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Pro
65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln
85 90 95

Phe Phe Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr
100 105 110

```
Tyr Cys Ala Ser Ser Tyr Thr Ser Gly Asp Val Asp Tyr Trp Gly Gln
        115                 120                 125

Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
    130                 135                 140

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
145                 150                 155                 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
                165                 170                 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
            180                 185                 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
        195                 200                 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
    210                 215                 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
225                 230                 235                 240

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
                245                 250                 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
            260                 265                 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
        275                 280                 285

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
    290                 295                 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
305                 310                 315                 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
                325                 330                 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
            340                 345                 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
        355                 360                 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
    370                 375                 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385                 390                 395                 400
```

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455 460

Gly Lys
465

<210> 44
<211> 1386
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng loại IgG2 của 2P10F2 thể khảm của người

<400> 44
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagcttc aggagtcagg acctggcctt gtgaaaccct cacagtcact ctccctcacc 120

tgttctgtca ctggttactc catcactagt aattactggg gctggatccg gaagttccca 180

ggaaataaaa tggagtggat gggatgcata acctacagtg gtggcactag ctacaaccca 240

tctctcaaaa gtcgaatctc cattactaga gacacatcaa agaatcagtt cttcctgcag 300

ttgaactctg taactactga ggacacagcc acatattact gtgcaagttc ctataccagt 360

ggtgacgtcg attactgggg ccaaggagtc atggtcacag tcagctcagc ctccaccaag 420

ggcccttccg tgttccctct ggcccccttgt agccgttcca ccagcgagtc caccgccgcc 480

cttggctgtc tggtgaagga ctacttccct gagcctgtga ccgtgagctg gaactccgga 540

gcccttacca gcggcgtgca caccttccct gccgtgctgc agtccagcgg cctttactcc 600

ctgagctccg tggtgaccgt gcctagctcc aacttcggca cccaaaccta cacctgtaac 660

gtggaccaca agcctagcaa caccaaggtg gacaagaccg tggagcgtaa gtgttgtgtg 720

gagtgtcctc cttgtcctgc ccctcctgtg gccggacctt ccgtgttcct tttccctcct 780

aagcctaagg acaccctgat gatcagccgt acccctgagg tgacctgtgt ggtggtggac 840

gtgtcccacg aggaccctga ggtgcagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcac 900

aacgccaaga ccaagcctcg tgaggagcaa ttcaacagca ccttccgtgt ggtgtccgtg 960

cttaccgtgg tgcaccaaga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgtaa ggtgagcaac 1020

aagggacttc ctgcccctat cgagaagacc atctccaaga ccaagggcca acctcgtgag 1080

cctcaagtgt acacccttcc tcctagccgt gaggagatga ccaagaacca agtgtccctt 1140

acctgtctgg tgaagggctt ctaccctagc gacatcgccg tggagtggga gtccaacgga 1200

caacctgaga acaactacaa gaccacccct cctatgcttg acagcgacgg ctccttcttc 1260

ctgtacagca agctgaccgt ggacaagtcc cgttggcaac aaggcaacgt gttcagctgt 1320

tccgtgatgc acgaggccct gcacaaccac tacacccaaa agagcctttc cctgagccct 1380

ggaaag 1386

<210> 45
<211> 462
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng loại IgG2 của 2P10F2 thể khảm của người

<400> 45

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
20 25 30

Pro Ser Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile
35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Met
50 55 60

Glu Trp Met Gly Cys Ile Thr Tyr Ser Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Pro
65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln
85 90 95

Phe Phe Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr
100 105 110

Tyr Cys Ala Ser Ser Tyr Thr Ser Gly Asp Val Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
195 200 205

Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val
225 230 235 240

Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
245 250 255

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
260 265 270

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
275 280 285

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
290 295 300

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val
305 310 315 320

Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
325 330 335

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
340 345 350

Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
355 360 365

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
370 375 380

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
385 390 395 400

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
405 410 415

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
420 425 430

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
435 440 445

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 46
<211> 1389
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng Loại IgG4P của 2P10F2 thể khảm của người

<400> 46
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagcttc aggagtcagg acctggcctt gtgaaaccct cacagtcact ctccctcacc 120
tgttctgtca ctggttactc catcactagt aattactggg gctggatccg gaagttccca 180
ggaaataaaa tggagtggat gggatgcata acctacagtg gtggcactag ctacaaccca 240
tctctcaaaa gtcgaatctc cattactaga gacacatcaa agaatcagtt cttcctgcag 300
ttgaactctg taactactga ggacacagcc acatattact gtgcaagttc ctataccagt 360
ggtgacgtcg attactgggg ccaaggagtc atggtcacag tcagctcagc ctccaccaag 420
ggccctagcg tgttccctct ggccccttgt agcagaagca ccagcgagtc tacagccgcc 480
ctgggctgcc tcgtgaagga ctactttccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaactctggc 540
gctctgacaa gcggcgtgca cacctttcca gccgtgctgc agagcagcgg cctgtactct 600
ctgtccagcg tcgtgactgt gcccagcagc tctctgggca ccaagaccta cacctgtaac 660
gtggaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagcggg tggaatctaa gtacggccct 720
ccctgccctc cttgcccagc ccctgaattt ctgggcggac cctccgtgtt cctgttcccc 780
ccaaagccca aggacaccct gatgatcagc cggacccccg aagtgacctg cgtggtggtg 840
gatgtgtccc aggaagatcc cgaggtgcag ttcaattggt acgtggacgg cgtggaagtg 900
cacaacgcca agaccaagcc tagagaggaa cagttcaaca gcacctaccg ggtggtgtcc 960
gtgctgacag tgctgcacca ggactggctg aacggcaaag agtacaagtg caaggtgtcc 1020
aacaagggcc tgcccagctc catcgagaaa accatcagca aggccaaggg ccagccccgc 1080
gaaccccagg tgtacacact gcctccaagc caggaagaga tgaccaagaa tcaggtgtcc 1140
ctgacctgtc tcgtgaaagg cttctacccc tccgatatcg ccgtggaatg ggagagcaac 1200
ggccagcccg agaacaacta caagaccacc ccccctgtgc tggactccga tggctcattc 1260
ttcctgtaca gcagactgac cgtggacaag agccggtggc aggaaggcaa cgtgttcagc 1320
tgctccgtga tgcacgaggc cctgcacaac cactacaccc agaagtccct gtctctgagc 1380
ctgggcaaa 1389

<210> 47
<211> 463
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng Loại IgG4P của 2P10F2 thể khảm của người

<400> 47

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
20 25 30

Pro Ser Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile
35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Met
50 55 60

Glu Trp Met Gly Cys Ile Thr Tyr Ser Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Pro
65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln
85 90 95

Phe Phe Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr
100 105 110

Tyr Cys Ala Ser Ser Tyr Thr Ser Gly Asp Val Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
225 230 235 240

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
275 280 285

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
290 295 300

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
305 310 315 320

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
325 330 335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
355 360 365

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
370 375 380

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
405 410 415

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
420 425 430

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
450 455 460

<210> 48
<211> 324
<212> ADN
<213> Rattus norvegicus

<400> 48
gatgtccaga tgacccagtc tccatcttat cttgctgcgt ctcctggaga aagtgtttcc 60

atcagttgca aggcaagtaa gagcattagc aataatttag cctggtatca ggagaaacct 120

gggaaagcaa ataagcttct tattcactct gggtcaactt tgcaatctgg aactccatcg 180

aggttcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcacgctca ccatcagaag cctggagttt 240

gaagattttg cagtctatta ctgtcaacag tataatgaat acccactcac gttcggttct 300

gggaccaagc tggagatcaa acgg 324

<210> 49
<211> 108
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 49
Asp Val Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Lys Ser Ile Ser Asn Asn
20 25 30

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

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Glu Phe

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Glu Tyr Pro Leu
85 90 95

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

<210> 50
<211> 363
<212> ADN
<213> Rattus norvegicus

<400> 50
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ctagtgcagc ctggaaggtc cctgaaactc 60

tcctgtgcag cctcaggatt cactttcagt aactattaca tggcctgggt ccgccaggct 120

ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcaacc attactacca gtggtagcag accttactat 180

ccagactccg tgaaaggccg attcactatc tccagagata atgcaaaaag cagcctatac 240

ctgcaaatga acagtctgaa gtctgaggac acggccactt attactgtgc aagacatatt 300

tattactatg atggttaccc ctttgcttac tggggccaag gcactctggt cactgtctct 360

tca 363

<210> 51
<211> 121
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 51

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Lys Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Thr Thr Ser Gly Ser Arg Pro Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 52

<211> 11
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 52

Lys Ala Ser Lys Ser Ile Ser Asn Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 53
<211> 7
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 53

Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 54

Gln Gln Tyr Asn Glu Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 55
<211> 10
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 55

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Tyr Met Ala
1 5 10

<210> 56
<211> 10
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 56

Thr Ile Thr Thr Ser Gly Ser Arg Pro Tyr
1 5 10

<210> 57
<211> 12
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 57

His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 58
<211> 324
<212> ADN
<213> Rattus norvegicus

<400> 58
gacatccaga tgacccagtc tccttcactc ctgtctgcat ctgtgggagg cagaatcact 60

ctcaactgca aagcaagtca gaatctctat aagaacttag cctggtatca gcagaagctt 120

ggagaagctc ccaaactcct gattgataat gcaaacagtt tgcaaacggg catcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcacactca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagatgttg ccacatattt ctgccagcag tattatagcg ggtcgtacac gtttggagct 300

gggaccaagc tggaactgaa acgg 324

<210> 59
<211> 108
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 59

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

Gly Arg Ile Thr Leu Asn Cys Lys Ala Ser Gln Asn Leu Tyr Lys Asn
20 25 30

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

Asp Asn Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100 105

<210> 60
<211> 354
<212> ADN
<213> Rattus norvegicus

<400> 60
gaggtgcagc tggtggagtc tgatggaggc ttagtgcagc ctggaaggtc cctaaaactc 60

tcctgtgcag cctcaggatt cactttcagt gactattaca tggcctgggt ccgccaggct 120

ccaacgaagg ggctggagtg ggtcgcaacc attagttatg atggtagtaa cacttactat 180

cgagactccg tgaagggccg attcactatc tccagagata atgcaaaaag caccctatac 240

ctgcaaatgg acagtctgag gtctggggac acggccactt attactgtgc aagattttac 300

aacaactact actttgatta ctggggccaa ggagtcatgg tcacagtctc ctca 354

<210> 61
<211> 118
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 61

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Asp Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1               5                  10                  15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30

Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ala Thr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Gly Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Phe Tyr Asn Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val
            100                 105                 110

Met Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 62
<211> 11
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 62

```
Lys Ala Ser Gln Asn Leu Tyr Lys Asn Leu Ala
1               5                  10
```

<210> 63
<211> 7
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 63

```
Asn Ala Asn Ser Leu Gln Thr
1               5
```

<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 64

```
Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Ser Tyr Thr
1               5
```

<210> 65
<211> 10
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 65

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Ala
1 5 10

<210> 66
<211> 10
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 66

Thr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Thr Tyr
1 5 10

<210> 67
<211> 9
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 67

Phe Tyr Asn Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 68
<211> 324
<212> ADN
<213> Rattus norvegicus

<400> 68
gacatccaga tgacccagac tccatcctcc atgcctgcat ctctgggaga gagagtcacc 60

atcagttgca gagcaagtca gggtattagc aattatctaa actggtatca gcagaaacca 120

gatggaacga ttaaacccct gatctactac acatccaatt tacaatctgg tgtcccatca 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat tattctctca ccatcagcag cctggagcct 240

gaagattttg caatgtattt ctgccaacag tatgatagtt ctcctcggac gttcggtgga 300

ggcaccaagc tggaattgaa acgg 324

<210> 69
<211> 108
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 69

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

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

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Ile Lys Pro Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asp Ser Ser Pro Arg
85 90 95

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

<210> 70
<211> 351
<212> ADN
<213> Rattus norvegicus

<400> 70
caggtacagc tgcagcaatc tggggctgaa ctggtgaagc ctgggtcctc agtgaaaatt 60

tcctgcaagg cttctggcta caccttcacc agtgacttta tgcactggat aaaacagcag 120

cctggaaatg gccttgagtg gattgggtgg atttatcctg gagatggtga tacagagtac 180

aatcaaaagt tcaatgggaa ggcaacactc actgcagaca aatcctccag cacagcctat 240

atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct atttctgtgc aaggggacgg 300

gggtatgtta tggatgcctg gggtcaagga gcttcagtca ctgtctcctc a 351

<210> 71
<211> 117
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 71

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

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

Phe Met His Trp Ile Lys Gln Gln Pro Gly Asn Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Glu Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Asn Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Arg Gly Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln Gly Ala Ser
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 72
<211> 11
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 72

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 73
<211> 7
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 73

Tyr Thr Ser Asn Leu Gln Ser
1 5

<210> 74
<211> 9
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 74

Gln Gln Tyr Asp Ser Ser Pro Arg Thr
1 5

<210> 75
<211> 10
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 75

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Asp Phe Met His
1 5 10

<210> 76
<211> 10
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 76

Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Glu
1 5 10

<210> 77
<211> 8
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 77

Gly Arg Gly Tyr Val Met Asp Ala
1 5

<210> 78
<211> 324
<212> ADN
<213> Rattus norvegicus

<400> 78
gatgtccaga tgacccagtc tccatcttat cttgctgcgt ctcctggaga aagtgtttcc 60

atcagttgca aggcaagtaa aagcattaac acatacttag cctggtatca ggagaaacct 120

gggaaaacga ataagcttct tatctactct gggtcaactt tgcaatctgg aactccatcg 180

agattcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcacgctca ccatcagaag cctggagcct 240

gaagattttg cagtctacta ctgtcaacag cataatgaat acccccttcac gttcggctca 300

gggacgaagt tggaaataaa acgg 324

<210> 79
<211> 108
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 79

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

Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Lys Ser Ile Asn Thr Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Phe
85 90 95

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

<210> 80
<211> 357
<212> ADN
<213> Rattus norvegicus

<400> 80
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ctagtgcagc ctggaaggtc tctgaaacta 60

tcctgtggag cctctggatt cacattcaat aactactgga tgacctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggttgcatcc attactaaag ctggtggtag cacttactat 180

cgagactctg tgaagggccg attcactatc tccagagata atgcaaaaag caccctatat 240

ctgcaaatga acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aagagaactg 300

ggagagttct atgttatgga tgcctggggt caaggagctt cagtcactgt ctcctca 357

<210> 81
<211> 119
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 81

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr
20 25 30

Trp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ser Ile Thr Lys Ala Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Glu Leu Gly Glu Phe Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 82
<211> 11
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 82

Lys Ala Ser Lys Ser Ile Asn Thr Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 83
<211> 7
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 83

Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 84
<211> 9
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 84

Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 85
<211> 10
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 85

Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Trp Met Thr
1 5 10

<210> 86
<211> 10
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 86

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

<210> 87
<211> 10
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 87

Glu Leu Gly Glu Phe Tyr Val Met Asp Ala
1 5 10

<210> 88
<211> 1117
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> ADN chứa trình tự ADN mã hóa axit amin của trình tự tín hiệu chuỗi nặng của người và vùng hằng định IgG4PFALA của người

<400> 88
ccagcctccg gactctagag ccaccatgaa acacctgtgg ttcttcctcc tgctggtggc 60
agctcccaga tgggtgctga gccaggtgca attgtgcagg cggttagctc agcctccacc 120
aagggcccta gcgtgttccc tctggccct tgtagcagaa gcaccagcga gtctacagcc 180
gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaactct 240
ggcgctctga caagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 300
tctctgtcca gcgtcgtgac tgtgcccagc agctctctgg gcaccaagac ctacacctgt 360
aacgtggacc acaagcccag caacaccaag gtggacaagc gggtggaatc taagtacggc 420
cctccctgcc ctccttgccc agcccctgaa gccgcgggcg gaccctccgt gttcctgttc 480
cccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc agccggaccc ccgaagtgac ctgcgtggtg 540
gtggatgtgt cccaggaaga tcccgaggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa 600
gtgcacaacg ccaagaccaa gcctagagag gaacagttca acagcaccta ccgggtggtg 660
tccgtgctga cagtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtg 720
tccaacaagg gcctgcccag ctccatcgag aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc 780
cgcgaacccc aggtgtacac actgcctcca agccaggaag agatgaccaa gaatcaggtg 840
tccctgacct gtctcgtgaa aggcttctac ccctccgata tcgccgtgga atgggagagc 900
aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccccctg tgctggactc cgatggctca 960
ttcttcctgt acagcagact gaccgtggac aagagccggt ggcaggaagg caacgtgttc 1020
agctgctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgtctctg 1080
agcctgggca aatgagttta aacgggggag gctaact 1117

<210> 89

<211> 702
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

<400> 89
atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gatgtccaga tgacccagtc tccatcttat cttgctgcgt ctcctggaga aagtgtttcc 120

atcagttgca aggcaagtaa gagcattagc aataatttag cctggtatca ggagaaacct 180

gggaaagcaa ataagcttct tattcactct gggtcaactt tgcaatctgg aactccatcg 240

aggttcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcacgctca ccatcagaag cctggagttt 300

gaagattttg cagtctatta ctgtcaacag tataatgaat acccactcac gttcggttct 360

gggaccaagc tggagatcaa acggacggtg gccgcccccc ccgtgttcat cttcccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggagt gt 702

<210> 90
<211> 234
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

<400> 90

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Val Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala
20 25 30

Ala Ser Pro Gly Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Lys Ser
35 40 45

Ile Ser Asn Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Ala Asn
50 55 60

Lys Leu Leu Ile His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg
85 90 95

Ser Leu Glu Phe Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn
100 105 110

Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 91
<211> 1410
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng loại IgG1 của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

<400> 91
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggccta gtgcagcctg gaaggtccct gaaactctcc 120

tgtgcagcct caggattcac tttcagtaac tattacatgg cctgggtccg ccaggctcca 180

aagaagggtc tggagtgggt cgcaaccatt actaccagtg gtagcagacc ttactatcca 240

gactccgtga aaggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcag cctatacctg 300

caaatgaaca gtctgaagtc tgaggacacg gccacttatt actgtgcaag acatatttat 360

tactatgatg gttacccctt tgcttactgg ggccaaggca ctctggtcac tgtcagctca 420

gcctccacca agggcccaag cgtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggc 480

ggcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaacccgt gaccgtgagc 540

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ccgctgtcct gcagtcctca 600

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 660

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 720

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccctgcccag cacctgaact cctgggggga 780

ccctcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 840

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cccgggagga gcagtacaac 960

agcacgtacc gggtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080

aaagccaaag gccagccccg ggaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1140

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200

gccgtggagt gggagagcaa tggccagccc gagaacaact acaagaccac ccctcccgtg 1260

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320

cagcagggca acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacc 1380

cagaagagcc tctccctgtc tcccggcaaa 1410

<210> 92
<211> 470
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng loại IgG1 của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

<400> 92

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asn Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Lys Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Thr Ile Thr Thr Ser Gly Ser Arg Pro Tyr Tyr Pro
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser
85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
145 150 155 160

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
210 215 220

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
225 230 235 240

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
245 250 255

Leu Leu 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
355 360 365

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
370 375 380

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
385 390 395 400

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
405 410 415

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
420 425 430

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 93
<211> 1398
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

<400> 93
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggccta gtgcagcctg gaaggtccct gaaactctcc 120

tgtgcagcct caggattcac tttcagtaac tattacatgg cctgggtccg ccaggctcca 180

aagaagggtc tggagtgggt cgcaaccatt actaccagtg gtagcagacc ttactatcca 240

gactccgtga aaggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcag cctatacctg 300

caaatgaaca gtctgaagtc tgaggacacg gccacttatt actgtgcaag acatatttat 360

tactatgatg gttacccctt tgcttactgg ggccaaggca ctctggtcac tgtcagctca 420

gcctccacca agggcccttc cgtgttccct ctggcccctt gtagccgttc caccagcgag 480

tccaccgccg cccttggctg tctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgagc 540

tggaactccg gagcccttac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtccagc 600

ggcctttact ccctgagctc cgtggtgacc gtgcctagct ccaacttcgg cacccaaacc 660

tacacctgta acgtggacca caagcctagc aacaccaagg tggacaagac cgtggagcgt 720

aagtgttgtg tggagtgtcc tccttgtcct gcccctcctg tggccggacc ttccgtgttc 780

cttttccctc ctaagcctaa ggacaccctg atgatcagcc gtaccctga ggtgacctgt 840

gtggtggtgg acgtgtccca cgaggaccct gaggtgcagt tcaactggta cgtggacggc 900

gtggaggtgc acaacgccaa gaccaagcct cgtgaggagc aattcaacag caccttccgt 960

gtggtgtccg tgcttaccgt ggtgcaccaa gactggctga acggcaagga gtacaagtgt 1020

aaggtgagca acaagggact tcctgccccc atcgagaaga ccatctccaa gaccaagggc 1080

caacctcgtg agcctcaagt gtacaccctt cctcctagcc gtgaggagat gaccaagaac 1140

caagtgtccc ttacctgtct ggtgaagggc ttctacccta gcgacatcgc cgtggagtgg 1200

gagtccaacg gacaacctga gaacaactac aagaccaccc ctcctatgct tgacagcgac 1260

ggctccttct tcctgtacag caagctgacc gtggacaagt cccgttggca acaaggcaac 1320

gtgttcagct gttccgtgat gcacgaggcc ctgcacaacc actacaccca aaagagcctt 1380

tccctgagcc ctggaaag 1398

<210> 94
<211> 466
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng loại IgG2 của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

<400> 94

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asn Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Lys Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Thr Ile Thr Thr Ser Gly Ser Arg Pro Tyr Tyr Pro
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser
85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
145 150 155 160

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
210 215 220

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
225 230 235 240

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
245 250 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
275 280 285

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455 460

Gly Lys
465

<210> 95
<211> 1401
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng Loại IgG4P của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

<400> 95
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggccta gtgcagcctg gaaggtccct gaaactctcc 120

tgtgcagcct caggattcac tttcagtaac tattacatgg cctgggtccg ccaggctcca 180

aagaagggtc tggagtgggt cgcaaccatt actaccagtg gtagcagacc ttactatcca 240

gactccgtga aaggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcag cctatacctg 300

caaatgaaca gtctgaagtc tgaggacacg gccacttatt actgtgcaag acatatttat 360

tactatgatg gttacccctt tgcttactgg ggccaaggca ctctggtcac tgtcagctca 420

gcctccacca agggccctag cgtgttccct ctggcccctt gtagcagaag caccagcgag 480

tctacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactactttc ccgagcccgt gaccgtgtcc 540
tggaactctg gcgctctgac aagcggcgtg cacacctttc cagccgtgct gcagagcagc 600
ggcctgtact ctctgtccag cgtcgtgact gtgcccagca gctctctggg caccaagacc 660
tacacctgta acgtggacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagcg ggtggaatct 720
aagtacggcc ctccctgccc tccttgccca gcccctgaat ttctgggcgg accctccgtg 780
ttcctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatca gccggacccc cgaagtgacc 840
tgcgtggtgg tggatgtgtc ccaggaagat cccgaggtgc agttcaattg gtacgtggac 900
ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cctagagagg aacagttcaa cagcacctac 960
cgggtggtgt ccgtgctgac agtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agagtacaag 1020
tgcaaggtgt ccaacaaggg cctgcccagc tccatcgaga aaaccatcag caaggccaag 1080
ggccagcccc gcgaacccca ggtgtacaca ctgcctccaa gccaggaaga gatgaccaag 1140
aatcaggtgt ccctgacctg tctcgtgaaa ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa 1200
tgggagagca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca ccccccctgt gctggactcc 1260
gatggctcat tcttcctgta cagcagactg accgtggaca agagccggtg gcaggaaggc 1320
aacgtgttca gctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 1380
ctgtctctga gcctgggcaa a 1401

<210> 96
<211> 467
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng Loại IgG4P của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

<400> 96

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asn Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Lys Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Thr Ile Thr Thr Ser Gly Ser Arg Pro Tyr Tyr Pro
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser
85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
145 150 155 160

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
210 215 220

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
225 230 235 240

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly
245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Leu Gly Lys
465

<210> 97
<211> 1410
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng loại IgG1LALA của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

<400> 97
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggccta gtgcagcctg gaaggtccct gaaactctcc 120

tgtgcagcct caggattcac tttcagtaac tattacatgg cctgggtccg ccaggctcca 180

aagaagggtc tggagtgggt cgcaaccatt actaccagtg gtagcagacc ttactatcca 240

gactccgtga aaggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcag cctatacctg 300

caaatgaaca gtctgaagtc tgaggacacg gccacttatt actgtgcaag acatatttat 360

tactatgatg gttacccctt tgcttactgg ggccaaggca ctctggtcac tgtcagctca 420

gcctccacca agggcccaag cgtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggc 480

ggcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaacccgt gaccgtgagc 540

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ccgctgtcct gcagtcctca 600

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 660

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 720

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccctgcccag cacctgaagc cgcgggggga 780

ccctcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 840

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cccgggagga gcagtacaac 960

agcacgtacc gggtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080

aaagccaaag gccagccccg ggaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1140

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200

gccgtggagt gggagagcaa tggccagccc gagaacaact acaagaccac ccctcccgtg 1260

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320

cagcagggca acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacc 1380

cagaagagcc tctccctgtc tcccggcaaa 1410

<210> 98
<211> 470
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng loại IgG1LALA của CD147_#84 của chuột thể khảm của người

<400> 98

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asn Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Lys Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Thr Ile Thr Thr Ser Gly Ser Arg Pro Tyr Tyr Pro
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser
85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
145 150 155 160

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
210 215 220

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro
225 230 235 240

Lys Ser Cys 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
355 360 365

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
370 375 380

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
385 390 395 400

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
405 410 415

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
420 425 430

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
435 440 445

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 99
<211> 1401
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng loại IgG4PFALA CD147_#84 của chuột thể khảm của người

<400> 99
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggccta gtgcagcctg gaaggtccct gaaactctcc 120
tgtgcagcct caggattcac tttcagtaac tattacatgg cctgggtccg ccaggctcca 180
aagaagggtc tggagtgggt cgcaaccatt actaccagtg gtagcagacc ttactatcca 240
gactccgtga aaggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcag cctatacctg 300
caaatgaaca gtctgaagtc tgaggacacg gccacttatt actgtgcaag acatatttat 360
tactatgatg gttacccctt tgcttactgg ggccaaggca ctctggtcac tgtcagctca 420
gcctccacca agggccctag cgtgttccct ctggcccctt gtagcagaag caccagcgag 480
tctacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactactttc ccgagcccgt gaccgtgtcc 540
tggaactctg gcgctctgac aagcggcgtg cacacctttc cagccgtgct gcagagcagc 600
ggcctgtact ctctgtccag cgtcgtgact gtgcccagca gctctctggg caccaagacc 660
tacacctgta acgtggacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagcg ggtggaatct 720
aagtacggcc ctccctgccc tccttgccca gcccctgaag ccgcgggcgg accctccgtg 780
ttcctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatca gccggacccc cgaagtgacc 840
tgcgtggtgg tggatgtgtc ccaggaagat cccgaggtgc agttcaattg gtacgtggac 900
ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cctagagagg aacagttcaa cagcacctac 960
cgggtggtgt ccgtgctgac agtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agagtacaag 1020
tgcaaggtgt ccaacaaggg cctgcccagc tccatcgaga aaaccatcag caaggccaag 1080
ggccagcccc gcgaacccca ggtgtacaca ctgcctccaa gccaggaaga gatgaccaag 1140
aatcaggtgt ccctgacctg tctcgtgaaa ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa 1200
tgggagagca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca ccccccctgt gctggactcc 1260
gatggctcat tcttcctgta cagcagactg accgtggaca agagccggtg gcaggaaggc 1320
aacgtgttca gctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 1380
ctgtctctga gcctgggcaa a 1401

<210> 100
<211> 467
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng loại IgG4PFALA CD147_#84 của chuột thể khảm của người

<400> 100

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asn Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Lys Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Thr Ile Thr Thr Ser Gly Ser Arg Pro Tyr Tyr Pro
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser
85 90 95

Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
145 150 155 160

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
210 215 220

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
225 230 235 240

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Leu Gly Lys
465

<210> 101
<211> 702
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

<400> 101
atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gacatccaga tgacccagtc tccttcactc ctgtctgcat ctgtgggagg cagaatcact 120

ctcaactgca aagcaagtca gaatctctat aagaacttag cctggtatca gcagaagctt 180

ggagaagctc ccaaactcct gattgataat gcaaacagtt tgcaaacggg catcccatca 240

aggttcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcacactca ccatcagcag cctgcagcct 300

gaagatgttg ccacatattt ctgccagcag tattatagcg ggtcgtacac gtttggagct 360

gggaccaagc tggaactgaa acggacggtg gccgcccccc ccgtgttcat cttcccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggagt gt 702

<210> 102
<211> 234

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

<400> 102

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Gly Arg Ile Thr Leu Asn Cys Lys Ala Ser Gln Asn
35 40 45

Leu Tyr Lys Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Leu Gly Glu Ala Pro
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Asp Asn Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr
100 105 110

Ser Gly Ser Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 103
<211> 1389
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng IgG2 của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

<400> 103
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60
gtgcagctgg tggagtctga tggaggctta gtgcagcctg gaaggtccct aaaactctcc 120
tgtgcagcct caggattcac tttcagtgac tattacatgg cctgggtccg ccaggctcca 180
acgaaggggc tggagtgggt cgcaaccatt agttatgatg gtagtaacac ttactatcga 240
gactccgtga agggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcac cctatacctg 300
caaatggaca gtctgaggtc tggggacacg gccacttatt actgtgcaag attttacaac 360
aactactact ttgattactg gggccaagga gtcatggtca cagtcagctc agcctccacc 420
aagggccctt ccgtgttccc tctggccct tgtagccgtt ccaccagcga gtccaccgcc 480
gcccttggct gtctggtgaa ggactacttc cctgagcctg tgaccgtgag ctggaactcc 540
ggagccctta ccagcggcgt gcacaccttc cctgccgtgc tgcagtccag cggcctttac 600
tccctgagct ccgtggtgac cgtgcctagc tccaacttcg gcacccaaac ctacacctgt 660
aacgtggacc acaagcctag caacaccaag gtggacaaga ccgtggagcg taagtgttgt 720
gtggagtgtc ctccttgtcc tgcccctcct gtggccggac cttccgtgtt ccttttccct 780
cctaagccta aggacaccct gatgatcagc cgtacccctg aggtgacctg tgtggtggtg 840
gacgtgtccc acgaggaccc tgaggtgcag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg 900
cacaacgcca agaccaagcc tcgtgaggag caattcaaca gcaccttccg tgtggtgtcc 960
gtgcttaccg tggtgcacca agactggctg aacggcaagg agtacaagtg taaggtgagc 1020
aacaagggac ttcctgcccc tatcgagaag accatctcca agaccaaggg ccaacctcgt 1080
gagcctcaag tgtacaccct tcctcctagc cgtgaggaga tgaccaagaa ccaagtgtcc 1140
cttacctgtc tggtgaaggg cttctaccct agcgacatcg ccgtggagtg ggagtccaac 1200
ggacaacctg agaacaacta caagaccacc cctcctatgc ttgacagcga cggctccttc 1260
ttcctgtaca gcaagctgac cgtggacaag tcccgttggc aacaaggcaa cgtgttcagc 1320
tgttccgtga tgcacgaggc cctgcacaac cactacaccc aaaagagcct ttccctgagc 1380
cctggaaag 1389

<210> 104
<211> 463
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng IgG2 của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

<400> 104
Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Asp Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu
50 55 60

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

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Gly Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe Tyr Asn Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
115 120 125

Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
225 230 235 240

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
275 280 285

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
290 295 300

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
305 310 315 320

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
325 330 335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350

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

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
370 375 380

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
405 410 415

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
420 425 430

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 105
<211> 1392
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng IgG4P của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

<400> 105
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagctgg tggagtctga tggaggctta gtgcagcctg gaaggtccct aaaactctcc 120

tgtgcagcct caggattcac tttcagtgac tattacatgg cctgggtccg ccaggctcca 180

acgaaggggc tggagtgggt cgcaaccatt agttatgatg gtagtaacac ttactatcga 240

gactccgtga agggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcac cctatacctg 300

caaatggaca gtctgaggtc tggggacacg gccacttatt actgtgcaag attttacaac 360

aactactact ttgattactg gggccaagga gtcatggtca cagtcagctc agcctccacc 420

aagggcccta gcgtgttccc tctggccccc tgtagcagaa gcaccagcga gtctacagcc 480

gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaactct 540

ggcgctctga caagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 600

tctctgtcca gcgtcgtgac tgtgcccagc agctctctgg gcaccaagac ctacacctgt 660

aacgtggacc acaagcccag caacaccaag gtggacaagc gggtggaatc taagtacggc 720

cctccctgcc ctccttgccc agcccctgaa tttctgggcg gaccctccgt gttcctgttc 780

cccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc agccggaccc ccgaagtgac ctgcgtggtg 840

gtggatgtgt cccaggaaga tcccgaggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa 900

gtgcacaacg ccaagaccaa gcctagagag gaacagttca acagcaccta ccgggtggtg 960

tccgtgctga cagtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtg 1020

tccaacaagg gcctgcccag ctccatcgag aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc 1080

cgcgaacccc aggtgtacac actgcctcca agccaggaag agatgaccaa gaatcaggtg 1140

tccctgacct gtctcgtgaa aggcttctac ccctccgata tcgccgtgga atgggagagc 1200

aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccccctg tgctggactc cgatggctca 1260

ttcttcctgt acagcagact gaccgtggac aagagccggt ggcaggaagg caacgtgttc 1320

agctgctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgtctctg 1380

agcctgggca aa 1392

<210> 106
<211> 464
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng IgG4P của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

<400> 106

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Asp Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu
50 55 60

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

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Gly Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe Tyr Asn Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
115 120 125

Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
225 230 235 240

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
450 455 460

<210> 107
<211> 1392
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng IgG4PFALA của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

<400> 107
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60
gtgcagctgg tggagtctga tggaggctta gtgcagcctg gaaggtccct aaaactctcc 120
tgtgcagcct caggattcac tttcagtgac tattacatgg cctgggtccg ccaggctcca 180
acgaaggggc tggagtgggt cgcaaccatt agttatgatg gtagtaacac ttactatcga 240
gactccgtga agggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcac cctatacctg 300
caaatggaca gtctgaggtc tggggacacg gccacttatt actgtgcaag attttacaac 360
aactactact ttgattactg gggccaagga gtcatggtca cagtcagctc agcctccacc 420
aagggcccta gcgtgttccc tctggccccc tgtagcagaa gcaccagcga gtctacagcc 480
gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaactct 540
ggcgctctga caagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 600
tctctgtcca gcgtcgtgac tgtgcccagc agctctctgg gcaccaagac ctacacctgt 660
aacgtggacc acaagcccag caacaccaag gtggacaagc gggtggaatc taagtacggc 720
cctccctgcc ctccttgccc agcccctgaa gccgcgggcg gaccctccgt gttcctgttc 780
cccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc agccggaccc ccgaagtgac ctgcgtggtg 840
gtggatgtgt cccaggaaga tcccgaggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa 900
gtgcacaacg ccaagaccaa gcctagagag gaacagttca acagcaccta ccgggtggtg 960
tccgtgctga cagtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtg 1020
tccaacaagg gcctgcccag ctccatcgag aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc 1080
cgcgaacccc aggtgtacac actgcctcca agccaggaag agatgaccaa gaatcaggtg 1140
tccctgacct gtctcgtgaa aggcttctac ccctccgata tcgccgtgga atgggagagc 1200
aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccccctg tgctggactc cgatggctca 1260
ttcttcctgt acagcagact gaccgtggac aagagccggt ggcaggaagg caacgtgttc 1320
agctgctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgtctctg 1380
agcctgggca aa 1392

<210> 108
<211> 464
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng IgG4PFALA của CD147_#101 của chuột thể khảm của người

<400> 108

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Asp Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu
50 55 60

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

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Gly Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe Tyr Asn Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
115 120 125

Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
225 230 235 240

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
450 455 460

<210> 109
<211> 702
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

<400> 109
atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gacatccaga tgacccagac tccatcctcc atgcctgcat ctctgggaga gagagtcacc 120

atcagttgca gagcaagtca gggtattagc aattatctaa actggtatca gcagaaacca 180

gatggaacga ttaaacccct gatctactac acatccaatt tacaatctgg tgtcccatca 240

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat tattctctca ccatcagcag cctggagcct 300

gaagattttg caatgtattt ctgccaacag tatgatagtt ctcctcggac gttcggtgga 360

ggcaccaagc tggaattgaa acggacggtg gccgcccccc ccgtgttcat cttcccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702

<210> 110
<211> 234
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

<400> 110

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Met Pro
20 25 30

Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Gly
35 40 45

Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Ile
50 55 60

Lys Pro Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asp
100 105 110

Ser Ser Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 111
<211> 1386
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng IgG2 của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

<400> 111
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60
gtacagctgc agcaatctgg ggctgaactg gtgaagcctg ggtcctcagt gaaaatttcc 120
tgcaaggctt ctggctacac cttcaccagt gactttatgc actggataaa acagcagcct 180
ggaaatggcc ttgagtggat tgggtggatt tatcctggag atggtgatac agagtacaat 240
caaaagttca atgggaaggc aacactcact gcagacaaat cctccagcac agcctatatg 300
cagctcagca gcctgacatc tgaggactct gcagtctatt tctgtgcaag gggacggggg 360
tatgttatgg atgcctgggg tcaaggagct tcagtcactg tcagctcagc ctccaccaag 420
ggcccttccg tgttccctct ggcccccttgt agccgttcca ccagcgagtc caccgccgcc 480
cttggctgtc tggtgaagga ctacttccct gagcctgtga ccgtgagctg gaactccgga 540
gcccttacca gcggcgtgca caccttccct gccgtgctgc agtccagcgg cctttactcc 600
ctgagctccg tggtgaccgt gcctagctcc aacttcggca cccaaaccta cacctgtaac 660
gtggaccaca agcctagcaa caccaaggtg gacaagaccg tggagcgtaa gtgttgtgtg 720
gagtgtcctc cttgtcctgc ccctcctgtg gccggacctt ccgtgttcct tttccctcct 780
aagcctaagg acaccctgat gatcagccgt acccctgagg tgacctgtgt ggtggtggac 840
gtgtcccacg aggaccctga ggtgcagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcac 900
aacgccaaga ccaagcctcg tgaggagcaa ttcaacagca ccttccgtgt ggtgtccgtg 960
cttaccgtgg tgcaccaaga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgtaa ggtgagcaac 1020
aagggacttc ctgcccctat cgagaagacc atctccaaga ccaagggcca acctcgtgag 1080
cctcaagtgt acacccttcc tcctagccgt gaggagatga ccaagaacca agtgtccctt 1140
acctgtctgg tgaagggctt ctaccctagc gacatcgccg tggagtggga gtccaacgga 1200
caacctgaga acaactacaa gaccacccct cctatgcttg acagcgacgg ctccttcttc 1260
ctgtacagca agctgaccgt ggacaagtcc cgttggcaac aaggcaacgt gttcagctgt 1320
tccgtgatgc acgaggccct gcacaaccac tacacccaaa agagcctttc cctgagccct 1380
ggaaag 1386

<210> 112
<211> 462
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng IgG2 của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

<400> 112

```
Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1               5                  10                  15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys
            20                  25                  30

Pro Gly Ser Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
        35                  40                  45

Thr Ser Asp Phe Met His Trp Ile Lys Gln Gln Pro Gly Asn Gly Leu
    50                  55                  60

Glu Trp Ile Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Glu Tyr Asn
65                  70                  75                  80

Gln Lys Phe Asn Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser
                85                  90                  95

Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
            100                 105                 110

Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Arg Gly Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln
        115                 120                 125

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

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
145                 150                 155                 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
                165                 170                 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
            180                 185                 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
        195                 200                 205

Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
    210                 215                 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val
225                 230                 235                 240

Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
                245                 250                 255

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
            260                 265                 270

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
        275                 280                 285
```

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
290 295 300

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val
305 310 315 320

Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
325 330 335

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
340 345 350

Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
355 360 365

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
370 375 380

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
385 390 395 400

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
405 410 415

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
420 425 430

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
435 440 445

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 113
<211> 1389
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng IgG4P của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

<400> 113
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60

gtacagctgc agcaatctgg ggctgaactg gtgaagcctg ggtcctcagt gaaaatttcc 120

tgcaaggctt ctggctacac cttcaccagt gactttatgc actggataaa acagcagcct 180

ggaaatggcc ttgagtggat tgggtggatt tatcctggag atggtgatac agagtacaat 240

caaaagttca atgggaaggc aacactcact gcagacaaat cctccagcac agcctatatg 300

cagctcagca gcctgacatc tgaggactct gcagtctatt tctgtgcaag gggacggggg 360

tatgttatgg atgcctgggg tcaaggagct tcagtcactg tcagctcagc ctccaccaag 420

ggccctagcg tgttccctct ggcccccttgt agcagaagca ccagcgagtc tacagccgcc 480

ctgggctgcc tcgtgaagga ctactttccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaactctggc 540

gctctgacaa gcggcgtgca cacctttcca gccgtgctgc agagcagcgg cctgtactct 600

ctgtccagcg tcgtgactgt gcccagcagc tctctgggca ccaagaccta cacctgtaac 660

gtggaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagcggg tggaatctaa gtacggccct 720

ccctgccctc cttgcccagc ccctgaattt ctgggcggac cctccgtgtt cctgttcccc 780

ccaaagccca aggacaccct gatgatcagc cggacccccg aagtgacctg cgtggtggtg 840

gatgtgtccc aggaagatcc cgaggtgcag ttcaattggt acgtggacgg cgtggaagtg 900

cacaacgcca agaccaagcc tagagaggaa cagttcaaca gcacctaccg ggtggtgtcc 960

gtgctgacag tgctgcacca ggactggctg aacggcaaag agtacaagtg caaggtgtcc 1020

aacaagggcc tgcccagctc catcgagaaa accatcagca aggccaaggg ccagccccgc 1080

gaaccccagg tgtacacact gcctccaagc caggaagaga tgaccaagaa tcaggtgtcc 1140

ctgacctgtc tcgtgaaagg cttctacccc tccgatatcg ccgtggaatg ggagagcaac 1200

ggccagcccg agaacaacta caagaccacc ccccctgtgc tggactccga tggctcattc 1260

ttcctgtaca gcagactgac cgtggacaag agccggtggc aggaaggcaa cgtgttcagc 1320

tgctccgtga tgcacgaggc cctgcacaac cactacaccc agaagtccct gtctctgagc 1380

ctgggcaaa 1389

<210> 114
<211> 463
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng IgG4P của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

<400> 114

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys
20 25 30

Pro Gly Ser Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Ser Asp Phe Met His Trp Ile Lys Gln Gln Pro Gly Asn Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Glu Tyr Asn
65 70 75 80

Gln Lys Phe Asn Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Arg Gly Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln
115 120 125

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

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
225 230 235 240

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
275 280 285

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
290 295 300

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
305 310 315 320

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
325 330 335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
355 360 365

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
370 375 380

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
405 410 415

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
420 425 430

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
450 455 460

<210> 115
<211> 1389
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng IgG4PFALA của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

<400> 115
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60

gtacagctgc agcaatctgg ggctgaactg gtgaagcctg ggtcctcagt gaaaatttcc 120

tgcaaggctt ctggctacac cttcaccagt gactttatgc actggataaa acagcagcct 180

ggaaatggcc ttgagtggat tgggtggatt tatcctggag atggtgatac agagtacaat 240

caaaagttca atgggaaggc aacactcact gcagacaaat cctccagcac agcctatatg 300

cagctcagca gcctgacatc tgaggactct gcagtctatt tctgtgcaag gggacggggg 360

tatgttatgg atgcctgggg tcaaggagct tcagtcactg tcagctcagc ctccaccaag 420

ggccctagcg tgttccctct ggccccttgt agcagaagca ccagcgagtc tacagccgcc 480

ctgggctgcc tcgtgaagga ctactttccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaactctggc 540

gctctgacaa gcggcgtgca cacctttcca gccgtgctgc agagcagcgg cctgtactct 600

ctgtccagcg tcgtgactgt gcccagcagc tctctgggca ccaagaccta cacctgtaac 660

gtggaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagcggg tggaatctaa gtacggccct 720

ccctgccctc cttgcccagc ccctgaagcc gcgggcggac cctccgtgtt cctgttcccc 780

ccaaagccca aggacaccct gatgatcagc cggacccccg aagtgacctg cgtggtggtg 840

gatgtgtccc aggaagatcc cgaggtgcag ttcaattggt acgtggacgg cgtggaagtg 900

cacaacgcca agaccaagcc tagagaggaa cagttcaaca gcacctaccg ggtggtgtcc 960

gtgctgacag tgctgcacca ggactggctg aacggcaaag agtacaagtg caaggtgtcc 1020

aacaagggcc tgcccagctc catcgagaaa accatcagca aggccaaggg ccagccccgc 1080

gaaccccagg tgtacacact gcctccaagc caggaagaga tgaccaagaa tcaggtgtcc 1140

ctgacctgtc tcgtgaaagg cttctacccc tccgatatcg ccgtggaatg ggagagcaac 1200

ggccagcccg agaacaacta caagaccacc ccccctgtgc tggactccga tggctcattc 1260

ttcctgtaca gcagactgac cgtggacaag agccggtggc aggaaggcaa cgtgttcagc 1320

tgctccgtga tgcacgaggc cctgcacaac cactacaccc agaagtccct gtctctgagc 1380

ctgggcaaa 1389

<210> 116
<211> 463

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng IgG4PFALA của CD147_#110 của chuột thể khảm của người

<400> 116

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys
20 25 30

Pro Gly Ser Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Ser Asp Phe Met His Trp Ile Lys Gln Gln Pro Gly Asn Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Glu Tyr Asn
65 70 75 80

Gln Lys Phe Asn Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Arg Gly Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln
115 120 125

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

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
225 230 235 240

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
275 280 285

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
290 295 300

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
305 310 315 320

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
325 330 335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
355 360 365

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
370 375 380

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
405 410 415

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
420 425 430

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
450 455 460

<210> 117
<211> 702
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột thể khảm của người

<400> 117
atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gatgtccaga tgacccagtc tccatcttat cttgctgcgt ctcctggaga aagtgtttcc 120

atcagttgca aggcaagtaa aagcattaac acatacttag cctggtatca ggagaaacct 180

gggaaaacga ataagcttct tatctactct gggtcaactt tgcaatctgg aactccatcg 240

agattcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcacgctca ccatcagaag cctggagcct 300

gaagattttg cagtctacta ctgtcaacag cataatgaat acccccttcac gttcggctca 360

gggacgaagt tggaaataaa acggacggtg gccgcccccct ccgtgttcat cttccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702

<210> 118
<211> 234
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ của CD147_#131 của chuột thể khảm của người

<400> 118

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Val Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala
20 25 30

Ala Ser Pro Gly Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Lys Ser
35 40 45

Ile Asn Thr Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn
100 105 110

Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 119
<211> 1392
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng IgG2 của CD147_#131 của chuột thể khảm của người

<400> 119
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggccta gtgcagcctg gaaggtctct gaaactatcc 120

tgtggagcct ctggattcac attcaataac tactggatga cctgggtccg ccaggctcca 180

gggaaggggc tggagtgggt tgcatccatt actaaagctg gtggtagcac ttactatcga 240

gactctgtga agggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcac cctatatctg 300

caaatgaaca gtctgaggtc tgaggacacg gccacttatt actgtacaag agaactggga 360

gagttctatg ttatggatgc ctggggtcaa ggagcttcag tcactgtcag ctcagcctcc 420

accaagggcc cttccgtgtt ccctctggcc ccttgtagcc gttccaccag cgagtccacc 480

gccgcccttg gctgtctggt gaaggactac ttccctgagc ctgtgaccgt gagctggaac 540

tccggagccc ttaccagcgg cgtgcacacc ttccctgccg tgctgcagtc cagcggcctt 600

tactccctga gctccgtggt gaccgtgcct agctccaact tcggcaccca aacctacacc 660

tgtaacgtgg accacaagcc tagcaacacc aaggtggaca agaccgtgga gcgtaagtgt 720

tgtgtggagt gtcctccttg tcctgcccct cctgtggccg gaccttccgt gttccttttc 780

cctcctaagc ctaaggacac cctgatgatc agccgtaccc ctgaggtgac ctgtgtggtg 840

gtggacgtgt cccacgagga ccctgaggtg cagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag 900

gtgcacaacg ccaagaccaa gcctcgtgag gagcaattca acagcacctt ccgtgtggtg 960

tccgtgctta ccgtggtgca ccaagactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgtaaggtg 1020

agcaacaagg gacttcctgc ccctatcgag aagaccatct ccaagaccaa gggccaacct 1080

cgtgagcctc aagtgtacac ccttcctcct agccgtgagg agatgaccaa gaaccaagtg 1140

tcccttacct gtctggtgaa gggcttctac cctagcgaca tcgccgtgga gtgggagtcc 1200

aacggacaac ctgagaacaa ctacaagacc acccctccta tgcttgacag cgacggctcc 1260

ttcttcctgt acagcaagct gaccgtggac aagtcccgtt ggcaacaagg caacgtgttc 1320

agctgttccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccaaaagag cctttccctg 1380

agccctggaa ag 1392

<210> 120
<211> 464

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng IgG2 của CD147_#131 của chuột thể khảm của người

<400> 120

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Asn Asn Tyr Trp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Ser Ile Thr Lys Ala Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Arg
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Glu Leu Gly Glu Phe Tyr Val Met Asp Ala Trp
115 120 125

Gly Gln Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
130 135 140

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
145 150 155 160

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
165 170 175

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
180 185 190

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
195 200 205

Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
210 215 220

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys
225 230 235 240

Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 121
<211> 1395
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng IgG4P của CD147_#131 của chuột thể khảm của người

<400> 121
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggccta gtgcagcctg gaaggtctct gaaactatcc 120

tgtggagcct ctggattcac attcaataac tactggatga cctgggtccg ccaggctcca 180

gggaaggggc tggagtgggt tgcatccatt actaaagctg gtggtagcac ttactatcga 240

gactctgtga agggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcac cctatatctg 300

caaatgaaca gtctgaggtc tgaggacacg gccacttatt actgtacaag agaactggga 360

gagttctatg ttatggatgc ctggggtcaa ggagcttcag tcactgtcag ctcagcctcc 420
accaagggcc ctagcgtgtt ccctctggcc ccttgtagca gaagcaccag cgagtctaca 480
gccgccctgg gctgcctcgt gaaggactac tttcccgagc ccgtgaccgt gtcctggaac 540
tctggcgctc tgacaagcgg cgtgcacacc tttccagccg tgctgcagag cagcggcctg 600
tactctctgt ccagcgtcgt gactgtgccc agcagctctc tgggcaccaa gacctacacc 660
tgtaacgtgg accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agcgggtgga atctaagtac 720
ggccctccct gccctccttg cccagccccc gaatttctgg gcggaccctc cgtgttcctg 780
ttcccccaa agcccaagga caccctgatg atcagccgga cccccgaagt gacctgcgtg 840
gtggtggatg tgtcccagga agatcccgag gtgcagttca attggtacgt ggacggcgtg 900
gaagtgcaca acgccaagac caagcctaga gaggaacagt tcaacagcac ctaccgggtg 960
gtgtccgtgc tgacagtgct gcaccaggac tggctgaacg gcaaagagta caagtgcaag 1020
gtgtccaaca agggcctgcc agctccatc gagaaaacca tcagcaaggc caagggccag 1080
ccccgcgaac cccaggtgta cacactgcct ccaagccagg aagagatgac caagaatcag 1140
gtgtccctga cctgtctcgt gaaaggcttc taccctccg atatcgccgt ggaatgggag 1200
agcaacggcc agcccgagaa caactacaag accacccccc ctgtgctgga ctccgatggc 1260
tcattcttcc tgtacagcag actgaccgtg gacaagagcc ggtggcagga aggcaacgtg 1320
ttcagctgct ccgtgatgca cgaggccctg cacaaccact acacccagaa gtccctgtct 1380
ctgagcctgg gcaaa 1395

<210> 122
<211> 465
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng IgG4P của CD147_#131 của chuột thể khảm của người

<400> 122

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Asn Asn Tyr Trp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Ser Ile Thr Lys Ala Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Arg
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser
85 90 95

```
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr
            100                 105                 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Glu Leu Gly Glu Phe Tyr Val Met Asp Ala Trp
        115                 120                 125

Gly Gln Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
    130                 135                 140

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
145                 150                 155                 160

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
                165                 170                 175

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
            180                 185                 190

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
        195                 200                 205

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
    210                 215                 220

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
225                 230                 235                 240

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
                245                 250                 255

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
            260                 265                 270

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
        275                 280                 285

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
    290                 295                 300

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val
305                 310                 315                 320

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
                325                 330                 335

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
            340                 345                 350

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
        355                 360                 365

Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
    370                 375                 380
```

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
385 390 395 400

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
405 410 415

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
420 425 430

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
435 440 445

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
450 455 460

Lys
465

<210> 123
<211> 466
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #84H1hIgG2

<400> 123

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asn Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ser Thr Ile Thr Thr Ser Gly Ser Arg Pro Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
145 150 155 160

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
210 215 220

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
225 230 235 240

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
245 250 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
275 280 285

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455 460

Gly Lys
465

<210> 124
<211> 1398
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #84H1hIgG2

<400> 124
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60
gtgcagctgg ttgagtctgg cggaggactg gttcaacctg gcggaagcct gagactgtct 120
tgtgccgcca gcggcttcac cttcagcaac tactatatgg cctgggtccg acaggccccc 180
ggcaaaggac ttgaatgggt gtccaccatc accaccagcg gcagcagacc ttactacgcc 240
gatagcgtga agggcagatt caccatcagc cgggacaaca gcaagaacac cctgtacctg 300
cagatgaaca gcctgagagc cgaggacacc gccgtgtact attgcgccag acacatctac 360
tactacgacg gctacccctt cgcctattgg ggccagggaa cactggtcac agttagctca 420
gcctccacca agggcccttc cgtgttccct ctggcccctt gtagccgttc caccagcgag 480
tccaccgccg cccttggctg tctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgagc 540
tggaactccg gagcccttac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtccagc 600
ggcctttact ccctgagctc cgtggtgacc gtgcctagct ccaacttcgg cacccaaacc 660
tacacctgta acgtggacca caagcctagc aacaccaagg tggacaagac cgtggagcgt 720
aagtgttgtg tggagtgtcc tccttgtcct gcccctcctg tggccggacc ttccgtgttc 780
cttttccctc ctaagcctaa ggacaccctg atgatcagcc gtaccctga ggtgacctgt 840
gtggtggtgg acgtgtccca cgaggaccct gaggtgcagt tcaactggta cgtggacggc 900
gtggaggtgc acaacgccaa gaccaagcct cgtgaggagc aattcaacag caccttccgt 960
gtggtgtccg tgcttaccgt ggtgcaccaa gactggctga acggcaagga gtacaagtgt 1020
aaggtgagca acaagggact tcctgccccc atcgagaaga ccatctccaa gaccaagggc 1080
caacctcgtg agcctcaagt gtacaccctt cctcctagcc gtgaggagat gaccaagaac 1140
caagtgtccc ttacctgtct ggtgaagggc ttctacccta gcgacatcgc cgtggagtgg 1200
gagtccaacg gacaacctga gaacaactac aagaccaccc ctcctatgct tgacagcgac 1260
ggctccttct tcctgtacag caagctgacc gtggacaagt cccgttggca acaaggcaac 1320
gtgttcagct gttccgtgat gcacgaggcc ctgcacaacc actacaccca aaagagcctt 1380
tccctgagcc ctggaaag 1398

<210> 125
<211> 467
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #84H1hIgG4P

<400> 125

```
Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1               5                  10                  15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
            20                  25                  30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
        35                  40                  45

Ser Asn Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
    50                  55                  60

Glu Trp Val Ser Thr Ile Thr Thr Ser Gly Ser Arg Pro Tyr Tyr Ala
65                  70                  75                  80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
                85                  90                  95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
            100                 105                 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala
        115                 120                 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
    130                 135                 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
145                 150                 155                 160

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
                165                 170                 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
            180                 185                 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
        195                 200                 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
    210                 215                 220

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
225                 230                 235                 240

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly
                245                 250                 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            260                 265                 270
```

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Leu Gly Lys
465

<210> 126
<211> 1401
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #84H1hIgG4P

<400> 126
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60

gtgcagctgg ttgagtctgg cggaggactg gttcaacctg gcggaagcct gagactgtct 120

tgtgccgcca gcggcttcac cttcagcaac tactatatgg cctgggtccg acaggcccct 180

ggcaaaggac ttgaatgggt gtccaccatc accaccagcg gcagcagacc ttactacgcc 240

gatagcgtga agggcagatt caccatcagc cgggacaaca gcaagaacac cctgtacctg 300

cagatgaaca gcctgagagc cgaggacacc gccgtgtact attgcgccag acacatctac 360
tactacgacg gctacccctt cgcctattgg ggccagggaa cactggtcac agttagctca 420
gcctccacca agggccctag cgtgttccct ctggcccctt gtagcagaag caccagcgag 480
tctacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactactttc ccgagcccgt gaccgtgtcc 540
tggaactctg gcgctctgac aagcggcgtg cacacctttc cagccgtgct gcagagcagc 600
ggcctgtact ctctgtccag cgtcgtgact gtgcccagca gctctctggg caccaagacc 660
tacacctgta acgtggacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagcg ggtggaatct 720
aagtacggcc ctccctgccc tccttgccca gcccctgaat ttctgggcgg accctccgtg 780
ttcctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatca gccggacccc cgaagtgacc 840
tgcgtggtgg tggatgtgtc ccaggaagat cccgaggtgc agttcaattg gtacgtggac 900
ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cctagagagg aacagttcaa cagcacctac 960
cgggtggtgt ccgtgctgac agtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agagtacaag 1020
tgcaaggtgt ccaacaaggg cctgcccagc tccatcgaga aaaccatcag caaggccaag 1080
ggccagcccc gcgaacccca ggtgtacaca ctgcctccaa gccaggaaga gatgaccaag 1140
aatcaggtgt ccctgacctg tctcgtgaaa ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa 1200
tgggagagca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca ccccccctgt gctggactcc 1260
gatggctcat tcttcctgta cagcagactg accgtggaca agagccggtg gcaggaaggc 1320
aacgtgttca gctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 1380
ctgtctctga gcctgggcaa a 1401

<210> 127
<211> 234
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #84L2h

<400> 127

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Val Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

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

Ile Ser Asn Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Asn
50 55 60

Lys Leu Leu Ile His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn
100 105 110

Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 128
<211> 702
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #84L2h

<400> 128
atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gacgttcaga tgacacagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggaga cagagtgacc 120

atcacatgca aggccagcaa gagcatcagc aacaacctgg cctggtatca gcagaagccc 180

ggaaaggcca acaagctgct gatccacagc ggcagcacac tgcagtctgg cacccctagc 240

agattttccg gctctggcag cggcaccgat ttcaccctga ccatatctag cctgcagcct 300

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacaacgagt accctctgac ctttggccag 360

ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgcccccct ccgtgttcat cttcccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702

<210> 129
<211> 463
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #101H1hIgG2

<400> 129

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

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

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Ser
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe Tyr Asn Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
115 120 125

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
225 230 235 240

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
275 280 285

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
290 295 300

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
305 310 315 320

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
325 330 335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350

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

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
370 375 380

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
405 410 415

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
420 425 430

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 130
<211> 1389
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #101H1hIgG2

<400> 130
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60

gtgcagctgg ttgagtctgg cggaggactg gttcagcctg gcagaagcct gagactgtct 120

tgtgccgcca gcggcttcac cttcagcgac tactatatgg cctgggtccg acaggcccct 180

ggcaaaggac ttgaatgggt cgccaccatc agctacgacg gcagcaacac ctactaccgg 240

gacagcgtga agggcagatt caccatctcc agagacaaca gcaagagcac cctgtacctg 300

cagatgaaca gcctgagagc cggcgatacc gccgtgtact actgcgccag attctacaac 360

aactactact tcgactactg gggccagggc accctggtca cagttagctc agcctccacc 420

aagggccctt ccgtgttccc tctggccccc tgtagccgtt ccaccagcga gtccaccgcc 480

gcccttggct gtctggtgaa ggactacttc cctgagcctg tgaccgtgag ctggaactcc 540

ggagccctta ccagcggcgt gcacaccttc cctgccgtgc tgcagtccag cggcctttac 600

tccctgagct ccgtggtgac cgtgcctagc tccaacttcg gcacccaaac ctacacctgt 660

aacgtggacc acaagcctag caacaccaag gtggacaaga ccgtggagcg taagtgttgt 720

gtggagtgtc ctccttgtcc tgcccctcct gtggccggac cttccgtgtt ccttttccct 780

cctaagccta aggacaccct gatgatcagc cgtacccctg aggtgacctg tgtggtggtg 840

gacgtgtccc acgaggaccc tgaggtgcag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg 900

cacaacgcca agaccaagcc tcgtgaggag caattcaaca gcaccttccg tgtggtgtcc 960

gtgcttaccg tggtgcacca agactggctg aacggcaagg agtacaagtg taaggtgagc 1020

aacaagggac ttcctgcccc tatcgagaag accatctcca agaccaaggg ccaacctcgt 1080

gagcctcaag tgtacaccct tcctcctagc cgtgaggaga tgaccaagaa ccaagtgtcc 1140

cttacctgtc tggtgaaggg cttctaccct agcgacatcg ccgtggagtg ggagtccaac 1200

ggacaacctg agaacaacta caagaccacc cctcctatgc ttgacagcga cggctccttc 1260

ttcctgtaca gcaagctgac cgtggacaag tcccgttggc aacaaggcaa cgtgttcagc 1320

tgttccgtga tgcacgaggc cctgcacaac cactacaccc aaaagagcct ttccctgagc 1380

cctggaaag 1389

<210> 131
<211> 464
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #101H1hIgG4P

<400> 131

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

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

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Ser
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe Tyr Asn Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
115 120 125

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
225 230 235 240

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
450 455 460

<210> 132
<211> 1392
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #101H1hIgG4P

<400> 132
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60

gtgcagctgg ttgagtctgg cggaggactg gttcagcctg gcagaagcct gagactgtct 120

tgtgccgcca gcggcttcac cttcagcgac tactatatgg cctgggtccg acaggccct 180

ggcaaaggac ttgaatgggt cgccaccatc agctacgacg gcagcaacac ctactaccgg 240

gacagcgtga agggcagatt caccatctcc agagacaaca gcaagagcac cctgtacctg 300

cagatgaaca gcctgagagc cggcgatacc gccgtgtact actgcgccag attctacaac 360

aactactact tcgactactg gggccagggc accctggtca cagttagctc agcctccacc 420

aagggcccta gcgtgttccc tctggccct tgtagcagaa gcaccagcga gtctacagcc 480

gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaactct 540

ggcgctctga caagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 600

tctctgtcca gcgtcgtgac tgtgcccagc agctctctgg gcaccaagac ctacacctgt 660

aacgtggacc acaagcccag caacaccaag gtggacaagc gggtggaatc taagtacggc 720

cctccctgcc ctccttgccc agcccctgaa tttctgggcg gaccctccgt gttcctgttc 780

cccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc agccggaccc ccgaagtgac ctgcgtggtg 840

gtggatgtgt cccaggaaga tcccgaggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa 900

gtgcacaacg ccaagaccaa gcctagagag gaacagttca acagcaccta ccgggtggtg 960

tccgtgctga cagtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtg 1020

tccaacaagg gcctgcccag ctccatcgag aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc 1080

cgcgaacccc aggtgtacac actgcctcca agccaggaag agatgaccaa gaatcaggtg 1140

tccctgacct gtctcgtgaa aggcttctac ccctccgata tcgccgtgga atgggagagc 1200

aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccccctg tgctggactc cgatggctca 1260

ttcttcctgt acagcagact gaccgtggac aagagccggt ggcaggaagg caacgtgttc 1320

agctgctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgtctctg 1380

agcctgggca aa 1392

<210> 133
<211> 234
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #101L2h

<400> 133

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

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

Leu Tyr Lys Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Asp Asn Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr
100 105 110

Ser Gly Ser Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 134
<211> 702
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #101L2h

<400> 134
atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gatatccaga tgacacagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggaga tagagtgacc 120

atcaactgca aggccagcca gaacctgtac aagaacctgg cctggtatca gcagaagccc 180

ggcaaggctc ctaagctgct gatcgacaac gccaacagcc tgcagaccgg cattcccagc 240

agattttctg gcagcggctc cggcaccgat ttcaccctga ccatatctag cctgcagcct 300

gaggacttcg ccacctactt ttgccagcag tactacagcg gcagctacac ctttggccag 360

ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgcccccct ccgtgttcat cttcccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702

<210> 135
<211> 463
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #110H1hIgG4P

<400> 135

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Ser Asp Phe Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Met Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Glu Tyr Asn
65 70 75 80

Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Arg Gly Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln
115 120 125

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

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
225 230 235 240

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
275 280 285

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
290 295 300

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
305 310 315 320

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
325 330 335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
355 360 365

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
370 375 380

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
405 410 415

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
420 425 430

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
450 455 460

<210> 136
<211> 1389
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #110H1hIgG4P

<400> 136
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60

gttcagctgg ttcagtctgg cgccgaagtg aagaaacctg gcgcctctgt gaaggtgtcc 120

tgcaaggcca gcggctacac ctttaccagc gacttcatgc actgggtccg acaggctcca 180

ggacagggac ttgaatggat gggctggatc tatcccggcg acggcgacac cgagtacaac 240

cagaaattcc agggcagagt gaccctgacc agagacacca gcatcagcac cgcctacatg 300

gaactgagcc ggctgagatc cgatgacacc gccgtgtact actgcgccag aggcagaggc 360

tatgtgatgg atgcttgggg ccagggcacc accgttacag ttagctcagc ctccaccaag 420

ggccctagcg tgttccctct ggcccccttgt agcagaagca ccagcgagtc tacagccgcc 480

ctgggctgcc tcgtgaagga ctactttccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaactctggc 540

gctctgacaa gcggcgtgca cacctttcca gccgtgctgc agagcagcgg cctgtactct 600

ctgtccagcg tcgtgactgt gcccagcagc tctctgggca ccaagaccta cacctgtaac 660

gtggaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagcggg tggaatctaa gtacggccct 720

ccctgccctc cttgcccagc ccctgaattt ctgggcggac cctccgtgtt cctgttcccc 780

ccaaagccca aggacaccct gatgatcagc cggacccccg aagtgacctg cgtggtggtg 840

gatgtgtccc aggaagatcc cgaggtgcag ttcaattggt acgtggacgg cgtggaagtg 900

cacaacgcca agaccaagcc tagagaggaa cagttcaaca gcacctaccg ggtggtgtcc 960

gtgctgacag tgctgcacca ggactggctg aacggcaaag agtacaagtg caaggtgtcc 1020

aacaagggcc tgcccagctc catcgagaaa accatcagca aggccaaggg ccagccccgc 1080

gaaccccagg tgtacacact gcctccaagc caggaagaga tgaccaagaa tcaggtgtcc 1140

ctgacctgtc tcgtgaaagg cttctacccc tccgatatcg ccgtggaatg ggagagcaac 1200

ggccagcccg agaacaacta caagaccacc ccccctgtgc tggactccga tggctcattc 1260

ttcctgtaca gcagactgac cgtggacaag agccggtggc aggaaggcaa cgtgttcagc 1320

tgctccgtga tgcacgaggc cctgcacaac cactacaccc agaagtccct gtctctgagc 1380

ctgggcaaa 1389

<210> 137
<211> 234
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #110L4h

<400> 137

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

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

Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Ile
50 55 60

Lys Pro Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asp
100 105 110

Ser Ser Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 138
<211> 702
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #110L4h

<400> 138
atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gatatccaga tgacacagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggaga cagagtgacc 120

atcacctgta gagccagcca gggcatcagc aactacctga actggtatca gcagaagccc 180

ggcaaggcca tcaagccccct gatctactac accagcaacc tgcagagcgg cgtgcccagc 240

agattttctg gctctggcag cggcaccgac tacaccctga ccatatctag cctgcagcct 300

gaggacttcg ccacctactt ttgccagcag tacgacagca gccccagaac ctttggcggc 360

ggaacaaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgcccccct ccgtgttcat cttccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702

<210> 139
<211> 464
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #131H2hIgG2

<400> 139

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Asn Asn Tyr Trp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Ser Ile Thr Lys Ala Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Ser
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Gly Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Glu Leu Gly Glu Phe Tyr Val Met Asp Ala Trp
115 120 125

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
130 135 140

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
145 150 155 160

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
165 170 175

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
180 185 190

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
195 200 205

Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
210 215 220

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys
225 230 235 240

Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
260 265 270

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
275 280 285

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 140
<211> 1392
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #131H2hIgG2

<400> 140
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60

gttcagctgg ttgaatctgg tggcggagtg gtgcagcctg gcagatctct gagactgtct 120

tgtgccgcca gcggcttcac cttcaacaac tactggatga cctgggtccg acaggcccct 180

ggcaaaggac ttgaatgggt cgccagcatc accaaggctg gcggctctac ctactacgcc 240

gatagcgtga agggcagatt caccatcagc cgggacaaca gcaagagcac cctgtacctg 300

cagatgaaca gcctgagagc cgagggcaca gccgtgtact actgtacaag agagctgggc 360

gagttctacg tgatggatgc ctggggccag ggcaccacag ttacagttag ctcagcctcc 420

accaagggcc cttccgtgtt ccctctggcc ccttgtagcc gttccaccag cgagtccacc 480

gccgcccttg gctgtctggt gaaggactac ttccctgagc ctgtgaccgt gagctggaac 540

tccggagccc ttaccagcgg cgtgcacacc ttccctgccg tgctgcagtc cagcggcctt 600

tactccctga gctccgtggt gaccgtgcct agctccaact tcggcaccca aacctacacc 660

tgtaacgtgg accacaagcc tagcaacacc aaggtggaca agaccgtgga gcgtaagtgt 720

tgtgtggagt gtcctccttg tcctgcccct cctgtggccg gaccttccgt gttccttttc 780

cctcctaagc ctaaggacac cctgatgatc agccgtaccc ctgaggtgac ctgtgtggtg 840

gtggacgtgt cccacgagga ccctgaggtg cagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag 900

gtgcacaacg ccaagaccaa gcctcgtgag gagcaattca acagcacctt ccgtgtggtg 960

tccgtgctta ccgtggtgca ccaagactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgtaaggtg 1020

agcaacaagg gacttcctgc ccctatcgag aagaccatct ccaagaccaa gggccaacct 1080

cgtgagcctc aagtgtacac ccttcctcct agccgtgagg agatgaccaa gaaccaagtg 1140

tcccttacct gtctggtgaa gggcttctac cctagcgaca tcgccgtgga gtgggagtcc 1200

aacggacaac ctgagaacaa ctacaagacc acccctccta tgcttgacag cgacggctcc 1260

ttcttcctgt acagcaagct gaccgtggac aagtcccgtt ggcaacaagg caacgtgttc 1320

agctgttccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccaaaagag cctttccctg 1380

agccctggaa ag 1392

<210> 141
<211> 234
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #131L2h

<400> 141

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Val Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

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

Ile Asn Thr Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn
100 105 110

Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 142
<211> 702
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #131L2h

<400> 142
atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gacgttcaga tgacacagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggaga cagagtgacc 120

atcacatgca aggccagcaa gagcatcaac acctacctgg cctggtatca agagaagccc 180

ggcaagacca acaagctgct gatctacagc ggcagcacac tgcagagcgg cacccttct 240

agattttccg gctctggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatatctag cctgcagcct 300

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag cacaacgagt acccttcac ctttggccag 360

ggcaccaagc tggaaatcaa gcgtacggtg gccgcccct ccgtgttcat cttcccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gt 702

<210> 143
<211> 17
<212> PRT
<213> Người hiện đại

<400> 143

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

Gln

<210> 144
<211> 17
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 144

Asp Thr Leu Pro Gly Gln Lys Thr Asp Phe Glu Val Asp Ser Asp Asp
1 5 10 15

Leu

<210> 145
<211> 457
<212> PRT

<213> Người hiện đại

<400> 145

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

Gln Pro Pro Ala Pro Gln Asp Glu Pro Val Phe Ala Gln Leu Lys Pro
20 25 30

Val Leu Gly Ala Ala Asn Pro Ala Arg Asp Ala Ala Leu Phe Pro Gly
35 40 45

Glu Glu Leu Lys His Ala His His Arg Pro Gln Ala Gln Pro Ala Pro
50 55 60

Ala Gln Ala Pro Gln Pro Ala Gln Pro Pro Ala Thr Gly Pro Arg Leu
65 70 75 80

Pro Pro Glu Asp Leu Val Gln Thr Arg Cys Glu Met Glu Lys Tyr Leu
85 90 95

Thr Pro Gln Leu Pro Pro Val Pro Ile Ile Pro Glu His Lys Lys Tyr
100 105 110

Arg Arg Asp Ser Ala Ser Val Val Asp Gln Phe Phe Thr Asp Thr Glu
115 120 125

Gly Leu Pro Tyr Ser Ile Asn Met Asn Val Phe Leu Pro Asp Ile Thr
130 135 140

His Leu Arg Thr Gly Leu Tyr Lys Ser Gln Arg Pro Cys Val Thr His
145 150 155 160

Ile Lys Thr Glu Pro Val Ala Ile Phe Ser His Gln Ser Glu Thr Thr
165 170 175

Ala Pro Pro Pro Ala Pro Thr Gln Ala Leu Pro Glu Phe Thr Ser Ile
180 185 190

Phe Ser Ser His Gln Thr Ala Ala Pro Glu Val Asn Asn Ile Phe Ile
195 200 205

Lys Gln Glu Leu Pro Thr Pro Asp Leu His Leu Ser Val Pro Thr Gln
210 215 220

Gln Gly His Leu Tyr Gln Leu Leu Asn Thr Pro Asp Leu Asp Met Pro
225 230 235 240

Ser Ser Thr Asn Gln Thr Ala Ala Met Asp Thr Leu Asn Val Ser Met
245 250 255

Ser Ala Ala Met Ala Gly Leu Asn Thr His Thr Ser Ala Val Pro Gln
260 265 270

Thr Ala Val Lys Gln Phe Gln Gly Met Pro Pro Cys Thr Tyr Thr Met
275 280 285

Pro Ser Gln Phe Leu Pro Gln Gln Ala Thr Tyr Phe Pro Pro Ser Pro
290 295 300

Pro Ser Ser Glu Pro Gly Ser Pro Asp Arg Gln Ala Glu Met Leu Gln
305 310 315 320

Asn Leu Thr Pro Pro Pro Ser Tyr Ala Ala Thr Ile Ala Ser Lys Leu
325 330 335

Ala Ile His Asn Pro Asn Leu Pro Thr Thr Leu Pro Val Asn Ser Gln
340 345 350

Asn Ile Gln Pro Val Arg Tyr Asn Arg Arg Ser Asn Pro Asp Leu Glu
355 360 365

Lys Arg Arg Ile His Tyr Cys Asp Tyr Pro Gly Cys Thr Lys Val Tyr
370 375 380

Thr Lys Ser Ser His Leu Lys Ala His Leu Arg Thr His Thr Gly Glu
385 390 395 400

Lys Pro Tyr Lys Cys Thr Trp Glu Gly Cys Asp Trp Arg Phe Ala Arg
405 410 415

Ser Asp Glu Leu Thr Arg His Tyr Arg Lys His Thr Gly Ala Lys Pro
420 425 430

Phe Gln Cys Gly Val Cys Asn Arg Ser Phe Ser Arg Ser Asp His Leu
435 440 445

Ala Leu His Met Lys Arg His Gln Asn
450 455

<210> 146
<211> 1374
<212> ADN
<213> Người hiện đại

<400> 146
atggctacaa gggtgctgag catgagcgcc cgcctgggac ccgtgcccca gccgccggcg 60

ccgcaggacg agccggtgtt cgcgcagctc aagccggtgc tgggcgccgc gaatccggcc 120

cgcgacgcgg cgctcttccc cggcgaggag ctgaagcacg cgcaccaccg cccgcaggcg 180

cagcccgcgc ccgcgcaggc cccgcagccg gcccagccgc ccgccaccgg cccgcggctg 240

cctccagagg acctggtcca gacaagatgt gaaatggaga agtatctgac acctcagctt 300

cctccagttc ctataattcc agagcataaa aagtatagac gagacagtgc ctcagtcgta 360

gaccagttct tcactgacac tgaagggtta ccttacagta tcaacatgaa cgtcttcctc 420

cctgacatca ctcacctgag aactggcctc tacaaatccc agagaccgtg cgtaacacac 480

atcaagacag aacctgttgc cattttcagc caccagagtg aaacgactgc ccctcctccg 540

gccccgaccc aggccctccc tgagttcacc agtatattca gctcacacca gaccgcagct 600
ccagaggtga acaatatttt catcaaacaa gaacttccta caccagatct tcatctttct 660
gtccctaccc agcagggcca cctgtaccag ctactgaata caccggatct agatatgccc 720
agttctacaa atcagacagc agcaatggac actcttaatg tttctatgtc agctgccatg 780
gcaggcctta acacacacac ctctgctgtt ccgcagactg cagtgaaaca attccagggc 840
atgccccctt gcacatacac aatgccaagt cagtttcttc cacaacaggc cacttacttt 900
cccccgtcac caccaagctc agagcctgga agtccagata gacaagcaga gatgctccag 960
aatttaaccc cacctccatc ctatgctgct acaattgctt ctaaactggc aattcacaat 1020
ccaaatttac ccaccaccct gccagttaac tcacaaaaca tccaacctgt cagatacaat 1080
agaaggagta accccgattt ggagaaacga cgcatccact actgcgatta ccctggttgc 1140
acaaaagttt ataccaagtc ttctcattta aaagctcacc tgaggactca cactggtgaa 1200
aagccataca agtgtacctg ggaaggctgc gactggaggt tcgcgcgatc ggatgagctg 1260
acccgccact accggaagca cacaggcgcc aagcccttcc agtgcggggt gtgcaaccgc 1320
agcttctcgc gctctgacca cctggccctg catatgaaga ggcaccagaa ctga 1374

<210> 147
<211> 463
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #110H13hIgG4P

<400> 147

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Ser Asp Phe Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Met Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Glu Tyr Ala
65 70 75 80

Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Arg Gly Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
225 230 235 240

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
275 280 285

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
290 295 300

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
305 310 315 320

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
325 330 335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
355 360 365

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
370 375 380

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
405 410 415

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

420 425 430

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
450 455 460

<210> 148
<211> 1389
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #110H13hIgG4P

<400> 148
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60
gttcagctgg ttcagtctgg cgccgaagtg aagaaacctg gcgcctctgt gaaggtgtcc 120
tgcaaggcca gcggctacac ctttaccagc gacttcatgc actgggtccg acaggctcca 180
ggacagggac ttgaatggat gggctggatc tatcccggcg acggcgatac agagtacgcc 240
cagaaattcc agggcagagt gaccatgacc agagacacca gcatcagcac cgcctacatg 300
gaactgagcc ggctgagatc cgatgacacc gccgtgtact actgcgccag aggcagaggc 360
tatgtgatgg atgcttgggg ccagggcacc accgttacag ttagctcagc ctccaccaag 420
ggccctagcg tgttccctct ggcccccttgt agcagaagca ccagcgagtc tacagccgcc 480
ctgggctgcc tcgtgaagga ctactttccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaactctggc 540
gctctgacaa gcggcgtgca cacctttcca gccgtgctgc agagcagcgg cctgtactct 600
ctgtccagcg tcgtgactgt gcccagcagc tctctgggca ccaagaccta cacctgtaac 660
gtggaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagcggg tggaatctaa gtacggccct 720
ccctgccctc cttgcccagc ccctgaattt ctgggcggac cctccgtgtt cctgttcccc 780
ccaaagccca aggacaccct gatgatcagc cggacccccg aagtgacctg cgtggtggtg 840
gatgtgtccc aggaagatcc cgaggtgcag ttcaattggt acgtggacgg cgtggaagtg 900
cacaacgcca agaccaagcc tagagaggaa cagttcaaca gcacctaccg ggtggtgtcc 960
gtgctgacag tgctgcacca ggactggctg aacggcaaag agtacaagtg caaggtgtcc 1020
aacaagggcc tgcccagctc catcgagaaa accatcagca aggccaaggg ccagccccgc 1080
gaaccccagg tgtacacact gcctccaagc caggaagaga tgaccaagaa tcaggtgtcc 1140
ctgacctgtc tcgtgaaagg cttctacccc tccgatatcg ccgtggaatg ggagagcaac 1200
ggccagcccg agaacaacta caagaccacc ccccctgtgc tggactccga tggctcattc 1260
ttcctgtaca gcagactgac cgtggacaag agccggtggc aggaaggcaa cgtgttcagc 1320
tgctccgtga tgcacgaggc cctgcacaac cactacaccc agaagtccct gtctctgagc 1380
ctgggcaaa 1389

<210> 149
<211> 234
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #110L2h

<400> 149

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

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

Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Pro Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp
100 105 110

Ser Ser Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 150
<211> 702
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #110L2h

<400> 150
atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gatatccaga tgacacagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggaga cagagtgacc 120

atcacctgta gagccagcca gggcatcagc aactacctga actggtatca gcagaagccc 180

ggcaaggccc ctaagcctct gatctactac accagcaacc tgcagagcgg cgtgcccagc 240

agattttctg gctctggcag cggcaccgac tacaccctga ccatatctag cctgcagcct 300

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacgacagca gccccagaac atttggcgga 360

ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgcccccc ccgtgttcat cttcccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702

<210> 151
<211> 234
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #110L12h

<400> 151

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

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

Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Pro Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp
100 105 110

Ser Ser Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 152
<211> 702
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> #110L12h

<400> 152
atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gatatccaga tgacacagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggaga cagagtgacc 120

atcacctgta gagccagcca gggcatcagc aactacctga actggtatca gcagaagccc 180

ggcaaggccc ctaagcctct gatctactac accagcaacc tgcagagcgg cgtgcccagc 240

agattttctg gctctggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatatctag cctgcagcct 300

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacgacagca gccccagaac atttggcgga 360

ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgcccccc ccgtgttcat cttccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggagt gt 702