



(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)



1-0047372

(51)^{2021.01} A61K 47/68; C07K 16/18; A61P 35/00 (13) B

(21) 1-2022-03511

(22) 05/11/2020

(86) PCT/CN2020/126780 05/11/2020

(87) WO 2021/088927 14/05/2021

(30) PCT/CN2019/115760 05/11/2019 CN

(45) 25/06/2025 447

(43) 27/02/2023 419A

(73) Lanova Medicines Limited (CN)

2889 Jinke Road, Building 10, Room 318, Chamtime Plaza, Shanghai 201203, China

(72) LI, Runsheng (CN).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) THỂ LIÊN HỢP KHÁNG THỂ - DƯỢC CHẤT NHẮM ĐÍCH CLAUDIN 18.2 VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA THỂ LIÊN HỢP NÀY

(21) 1-2022-03511

(57) Sáng chế đề cập đến thể liên hợp kháng thể-dược chất chứa gốc dược chất được gắn với kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này có tính đặc hiệu liên kết với protein claudin 18.2 (CLDN18.2) của người kiểu hoang. Kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với vòng β 3- β 4 (các gốc 45-63 của SEQ ID NO:30, NYQGLWRSCVRESSGFTEC) và sợi β 5 (các gốc 169-172 của SEQ ID NO:30, YTFG) của CLDN18.2.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Claudin, chẳng hạn như claudin 18.2, được coi là đích đầy hứa hẹn trong liệu pháp miễn dịch ung thư. Claudin là họ protein tạo thành thành phần quan trọng của vùng bí mật của tế bào. Chúng thiết lập hàng rào cận tế bào kiểm soát dòng của các phân tử giữa các tế bào. Protein này có đầu cùng N và đầu cùng C ở chất tế bào. Các claudin khác nhau được biểu hiện ở các mô khác nhau, chức năng thay đổi của chúng có liên quan đến sự hình thành ung thư của các mô tương ứng. Claudin-1 được biểu hiện ở bệnh ung thư ruột kết, claudin-18 được biểu hiện ở bệnh ung thư dạ dày, và claudin-10 được biểu hiện ở caxinom tế bào gan.

Claudin-18 có hai thể đồng dạng, thể đồng dạng 1 và thể đồng dạng 2. Thể đồng dạng 2 (Claudin 18.2 hoặc CLDN18.2) là chất đánh dấu của chuỗi thể hệ tế bào chọn lọc cao. Sự biểu hiện của claudin 18.2 ở mô bình thường được hạn chế nghiêm ngặt trong tế bào biểu mô biệt hóa của màng nhầy dạ dày, nhưng không có mặt ở vùng tế bào gốc của dạ dày. Claudin 18.2 vẫn được giữ lại ở biến đổi ác tính và được biểu hiện ở tỷ lệ đáng kể của ung thư dạ dày nguyên phát và dạng di căn của nó. Sự hoạt hóa lệch vị trí thường xuyên của claudin 18.2 cũng được tìm thấy ở khối u tụy, thực quản, buồng trứng, và phổi. Các dữ liệu này đề xuất rằng CLDN18.2 có kiểu biểu hiện hạn chế ở mức độ cao ở mô bình thường, với sự hoạt hóa lệch vị trí thường xuyên ở nhiều bệnh ung thư của người.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Kháng thể kháng claudin 18.2 được bộc lộ trong bản mô tả liên kết chọn lọc với claudin 18.2 kiểu hoang và thể đột biến thông thường M149L, và không liên kết với thể đồng dạng claudin 18 khác, chẳng hạn như claudin 18.1. Với phát hiện ngạc nhiên và bất ngờ, sáng chế mô tả các kháng thể này có hiệu quả cao trong việc cảm ứng sự nội bào của kháng thể qua trung gian thụ thể, cụ thể là khi so với IMAB362 (claudiximab), kháng thể kháng claudin 18.2 dẫn đầu trong phát triển lâm sàng. Do đó, khi được liên hợp với gốc dược chất, các kháng thể này có khả năng phân phối dược chất vào tế bào đích một cách hiệu quả, chẳng hạn như tế bào ung thư biểu hiện quá mức protein claudin 18.2.

Việc khả năng cảm ứng sự nội bào của kháng thể qua trung gian thụ thể được bộc lộ trong bản mô tả được tăng mạnh có thể được cho là do cách các kháng thể này liên kết với protein claudin 18.2. Như được chứng minh trong Ví dụ 14 và được minh họa trên FIG. 20, các gốc axit amin trên protein claudin 18.2 mà quan trọng trong việc liên kết với kháng thể bao gồm các gốc axit amin quan trọng trong việc làm ổn định cấu hình của vòng ngoại bào (ví dụ, W30, L49, W50, C53, C63 và R80). Quan trọng hơn, các gốc liên quan đến việc liên kết với kháng thể được dự định là bao gồm N45, Y46, G48, V54, R55, E56, S58, F60, và E62, nằm ở giữa sợi $\beta 3$ và $\beta 4$ của vòng ngoại bào thứ nhất, và Y169 và G172, ở $\beta 5$ của vòng ngoại bào thứ hai. Ngược lại, cho rằng kháng thể kháng claudin 18.2 đã biết chỉ liên kết với một trong số các vòng ngoại bào.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất thể liên hợp kháng thể-dược chất, chứa gốc dược chất được gắn cộng hóa trị với kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này có tính đặc hiệu liên kết với protein claudin 18.2 (CLDN18.2) của người kiểu hoang, trong đó kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với vòng $\beta 3$ - $\beta 4$ và sợi $\beta 5$ của CLDN18.2. Vòng $\beta 3$ - $\beta 4$ gồm có các gốc 45-63 của SEQ ID NO:30 (NYQGLWRSCVRESSGFTEC), và sợi $\beta 5$ gồm có các gốc 169-172 của SEQ ID NO:30 (YTFG).

Theo một số phương án, tỷ lệ của số lượng gốc dược chất so với số lượng kháng thể hoặc mảnh nằm trong khoảng từ 1:1 đến 20:1. Theo một số phương án, tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 2:1 đến 10:1. Theo một số phương án, tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 2:1 đến 6:1. Theo một số phương án, tỷ lệ này bằng khoảng 2:1, 2,5:1, 3:1, 3,5:1, 4:1, 4,5:1 hoặc 5:1.

Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này không liên kết với $\beta 1$ và $\beta 2$, hoặc liên kết với $\beta 1$ hoặc $\beta 2$ ở ái lực thấp hơn ít nhất 10 lần so với vòng $\beta 3$ - $\beta 4$ hoặc sợi $\beta 5$. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này không liên kết với protein CLDN18.1 hoặc liên kết với CLDN18.1 ở ái lực thấp hơn ít nhất 10 lần so với ái lực với CLDN18.2.

Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với thể đột biến CLDN18.2 M149L ở ái lực bằng ít nhất 1% so với ái lực với protein CLDN18.2 kiểu hoang.

Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với ít nhất một gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm N45, Y46, G48, V54, R55, E56, S58, F60, và E62; và ít nhất một gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm Y169 và G172, của SEQ ID NO:30.

Gốc dược chất có thể là chất gây độc tế bào hoặc kim hãm tế bào, chất ức chế miễn dịch, chất đồng vị phóng xạ, độc tố hoặc chất tương tự. Gốc dược chất, một khi được giải phóng ở tế bào ung thư, có thể ức chế sự nhân lên của tế bào ung thư, hoặc gây ra chết theo chương trình ở tế bào ung thư. Ví dụ về gốc dược chất được chọn từ nhóm bao gồm DM1 (maytansin, N2'-deaxetyl-N2'-(3-mercapto-1-oxopropyl)- hoặc N2'-deaxetyl-N2'-(3-mercapto-1-oxopropyl)-maytansin), mc-MMAD (6-maleimidocaproyl-monomethylauristatin-D hoặc N-metyl-L-valyl-N-[(1S,2R)-2-metoxo-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxo-2-metyl-3-oxo-3-[(1S)-2-phenyl-1-(2-thiazolyl)etyl]amino]propyl]-1-pyrolidinyl]-1-[(1S)-1-metylpropyl]-4-oxobutyl]-N-metyl-(9Cl)-L-valinamit), mc-MMAF (maleimidocaproyl-monomethylauristatin F hoặc N-[6-(2,5-dihydro-2,5-dioxo-1H-pyrol-1-yl)-1-oxohexyl]-N-metyl-L-valyl-L-valyl-(3R,4S,5S)-3-metoxo-5-metyl-4-(methylamino)heptanoyl-(α R, β R,2S)- β -metoxo- α -metyl-2-pyrolidinpropanoyl-L-phenylalanin) và mc-Val-Cit-PABA-MMAE (6-maleimidocaproyl-ValcCit-(p-aminobenzyloxycarbonyl)-monomethylauristatin E hoặc N-[[[4-[[N-[6-(2,5-dihydro-2,5-dioxo-1H-pyrol-1-yl)-1-oxohexyl]-L-valyl-N5-(aminocarbonyl)-L-ornithyl]amino]phenyl]metoxo]carbonyl]-N-metyl-L-valyl-N-[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1R,2S)-2-hydroxy-1-metyl-2-phenyletyl]amino]-1-metoxo-2-metyl-3-oxopropyl]-1-pyrolidinyl]-2-metoxo-1-[(1S)-1-metylpropyl]-4-oxobutyl]-N-metyl-L-valinamit). DM1 là dẫn xuất của chất ức chế hạt ống maytansin trong khi MMAD, MMAE, và MMAF là dẫn xuất auristatin.

Phương pháp và việc sử dụng trong điều trị bệnh và tình trạng bệnh cũng được đề xuất. Theo một phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở bệnh nhân cần điều trị, bao gồm bước cho bệnh nhân dùng thể liên hợp kháng thể-dược chất theo sáng chế.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG. 1 thể hiện rằng huyết thanh của chuột nhất từ tất cả các chuột nhất sau khi gây miễn dịch ADN có chuẩn độ cao được phản ứng với tế bào HEK293 được chuyển nhiễm CLD 18A2 bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy, CLD 18A1 làm đối chứng âm.

FIG. 2 thể hiện rằng dịch nổi tế bào lai có thể liên kết với tế bào HEK293 được chuyển nhiễm CLD18A2 của người bằng kỹ thuật ELISA tế bào hoặc kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy.

FIG. 3 thể hiện rằng kháng thể tinh chế của chuột có thể liên kết với tế bào MKN45 được chuyển nhiễm CLD18A2 của người bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy với EC50 cao, so với kháng thể tham chiếu dương.

FIG. 4 thể hiện rằng kháng thể tinh chế của chuột có thể liên kết với tế bào SU620 biểu hiện nội sinh CLD18A2 của người mang đột biến M149L bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy với EC50 cao, trong khi kháng thể tham chiếu thì không.

FIG. 5 thể hiện rằng kháng thể tinh chế của chuột có thể liên kết với tế bào HEK293 được chuyển nhiễm CLD18A2 của chuột nhất bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy với EC50 cao.

FIG. 6 thể hiện rằng kháng thể tinh chế của chuột có thể liên kết với tế bào HEK293 được chuyển nhiễm CLD18A2 của cyno bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy với EC50 cao.

FIG. 7 thể hiện rằng kháng thể tinh chế của chuột có thể liên kết với tế bào HEK293 được chuyển nhiễm CLD18A2 của người bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy với EC50 cao.

FIG. 8 thể hiện rằng kháng thể khảm có thể liên kết với tế bào MKN45 được chuyển nhiễm CLD18A2 của người bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy với EC50 cao, so với kháng thể tham chiếu dương.

FIG. 9 thể hiện rằng kháng thể khảm không thể liên kết với tế bào MKN45 được chuyển nhiễm CLD18A1 của người bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy.

FIG. 10 thể hiện rằng kháng thể được làm giống như của người có thể liên kết với tế bào MKN45 được chuyển nhiễm CLD18A2 của người bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy với EC50 cao, so với kháng thể tham chiếu dương.

FIG. 11 thể hiện rằng kháng thể được làm giống như của người không thể liên kết với tế bào MKN45 được chuyển nhiễm CLD18A1 của người bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy.

FIG. 12 thể hiện rằng kháng thể được làm giống như của người có đột biến CDR có thể liên kết với tế bào MKN45 được chuyển nhiễm CLD18A2 của người bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy với EC50 cao, so với kháng thể tham chiếu dương.

FIG. 13 thể hiện rằng kháng thể được làm giống như của người có đột biến CDR không thể liên kết với tế bào MKN45 được chuyển nhiễm CLD18A1 của người bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy.

FIG. 14 thể hiện rằng biến thể loại bỏ rủi ro có liên kết hiệu lực với CLD18A2 trên bề mặt tế bào.

FIG. 15 thể hiện rằng các đột biến nhất định của CLD18A2 có ảnh hưởng đáng kể đối với mức liên kết của kháng thể xác định với tế bào HEK293 được chuyển nhiễm các thể đột biến này, gợi ý rằng các gốc axit amin này cấu thành ít nhất một phần của epitop.

FIG. 16 thể hiện rằng các kháng thể 4F11E2, 72C1B6A3 và 120B7B2 có mức liên kết vượt trội ở cả tế bào CHO-K1 claudin 18.2 cao và thấp, so với 175D10.

FIG. 17 thể hiện kết quả thử nghiệm ADCC có hiệu lực của 4F11E2, 72C1B6A3 và 120B7B2 nhờ sử dụng kháng thể 175D10 làm tham chiếu.

FIG. 18 thể hiện rằng phiên bản S239D/I332E của 4F11E2, 72C1B6A3 và 120B7B2 thể hiện tốt hơn bản đối chiếu 175D10 trong thử nghiệm ADCC.

FIG. 19 thể hiện 4F11E2, 72C1B6A3 và 120B7B2 cũng có hiệu quả ADCP tốt hơn so với 175D10.

FIG. 20 minh họa cấu trúc 3D và mô tip của protein claudin.

FIG. 21 thể hiện kết quả nội bào của kháng thể khả năng được thử nghiệm so với kháng thể tham chiếu IMAB362 ở tế bào CHO biểu hiện claudin 18.2.

FIG. 22 thể hiện kết quả nội bào của kháng thể được làm giống như của người được thử nghiệm so với kháng thể tham chiếu IMAB362 ở tế bào CHO biểu hiện claudin 18.2.

FIG. 23 thể hiện kết quả nội bào của kháng thể được làm giống như của người được thử nghiệm so với kháng thể tham chiếu IMAB362 ở tế bào MKN45 biểu hiện claudin 18.2.

FIG. 24 thể hiện ái lực liên kết của kháng thể và thể liên hợp được chất của chúng.

FIG. 25A đến FIG. 25C thể hiện độc tính tế bào của thể liên hợp kháng thể-MMAE được thử nghiệm trong lúc nội bào ở tế bào chuyển nhiễm DAN-G, NUGC hoặc SCG-7901.

FIG. 26 thể hiện độc tính tế bào của thể liên hợp kháng thể-MMAE được thử nghiệm trong lúc nội bào ở tế bào SNU620 biểu hiện nội sinh claudin 18.2 của người.

FIG. 27 so sánh thể liên hợp kháng thể-được chất với một mình kháng thể trong việc làm giảm sự tăng trưởng của khối u ở động vật thử nghiệm.

FIG. 28 thể hiện hiệu quả làm giảm khối u trung bình hoặc riêng lẻ của thể liên hợp kháng thể-được chất.

Mô tả chi tiết sáng chế

Định nghĩa

Lưu ý rằng thuật ngữ thực thể dạng số ít chỉ một hoặc nhiều thực thể; ví dụ, “kháng thể,” được hiểu là thể hiện một hoặc nhiều kháng thể. Do đó, các thuật ngữ số ít, “một hoặc nhiều” và “ít nhất một” có thể được sử dụng thay thế cho nhau trong bản mô tả.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ “polypeptit” được dự định là bao gồm “polypeptit” số ít cũng như là “polypeptit” số nhiều và chỉ phân tử gồm có các monome (axit amin) được liên kết mạch thẳng bởi liên kết amit (còn được gọi là liên kết peptit). Thuật ngữ “polypeptit” chỉ chuỗi hoặc các chuỗi bất kỳ của hai hoặc nhiều axit amin, và không chỉ độ dài cụ thể của sản phẩm. Do đó, peptit, dipeptit, tripeptit, oligopeptit, “protein”, “chuỗi axit amin” hoặc thuật ngữ khác bất kỳ được sử dụng để chỉ chuỗi hoặc các chuỗi của hai hoặc nhiều axit amin, đều được bao gồm trong định nghĩa “polypeptit”, và thuật ngữ “polypeptit” có thể được sử dụng thay thế, hoặc thay thế cho nhau với bất kỳ trong số các thuật ngữ này. Thuật ngữ “polypeptit” cũng được dự định là chỉ sản phẩm của cải biến sau khi biểu hiện của polypeptit, bao gồm mà không giới hạn ở glycosyl hóa, axetyl hóa, phosphoryl hóa, amit hóa, tạo dẫn xuất bởi nhóm

bảo vệ/làm trở ngại đã biết, cắt phân giải protein, hoặc cải biến bởi axit amin không xuất hiện trong tự nhiên. Polypeptit có thể có nguồn gốc từ nguồn sinh học tự nhiên hoặc được tạo ra bằng công nghệ tái tổ hợp, nhưng không nhất thiết được dịch mã từ trình tự axit nucleic được thiết kế. Nó có thể được tạo ra theo cách bất kỳ, bao gồm cách tổng hợp hóa học.

Thuật ngữ “được phân lập” như được sử dụng trong bản mô tả đối với tế bào, axit nucleic, chẳng hạn như ADN hoặc ARN, chỉ phân tử được tách lần lượt từ ADN hoặc ARN khác, mà có trong nguồn tự nhiên của đại phân tử. Thuật ngữ “được phân lập” như được sử dụng trong bản mô tả còn chỉ axit nucleic hoặc peptit mà về cơ bản là không có nguyên liệu tế bào, nguyên liệu virus, hoặc môi trường nuôi cấy khi được tạo ra bằng kỹ thuật ADN tái tổ hợp, hoặc tiền chất hóa học hoặc chất hóa học khác khi được tổng hợp theo cách hóa học. Ngoài ra, “axit nucleic được phân lập” có nghĩa là bao gồm mảnh axit nucleic mà không xuất hiện trong tự nhiên dưới dạng mảnh và không được tìm thấy ở trạng thái tự nhiên. Thuật ngữ “được phân lập” cũng được sử dụng trong bản mô tả để chỉ tế bào hoặc polypeptit mà được phân lập từ protein hoặc mô tế bào khác. Polypeptit được phân lập có nghĩa là bao gồm cả polypeptit được tinh chế và tái tổ hợp.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ “tái tổ hợp” khi liên quan đến polypeptit hoặc polynucleotit chỉ dạng polypeptit hoặc polynucleotit không tồn tại trong tự nhiên, ví dụ không giới hạn về nó có thể được tạo ra bằng cách kết hợp polynucleotit hoặc polypeptit mà không thường xuất hiện cùng nhau.

“Độ tương đồng” hoặc “độ đồng nhất” hoặc “độ tương tự” chỉ độ tương tự trình tự giữa hai peptit hoặc giữa hai phân tử axit nucleic. Độ tương đồng có thể được xác định bằng cách so sánh vị trí ở mỗi trình tự mà có thể được sắp thẳng hàng nhằm mục đích so sánh. Khi vị trí trong trình tự so sánh được chiếm giữ bởi cùng bazơ hoặc axit amin, thì các phân tử là tương đồng ở vị trí đó. Mức tương đồng giữa các trình tự là hàm của số lượng vị trí khớp hoặc vị trí tương đồng có chung bởi các trình tự này. Trình tự “không liên quan” hoặc “không tương đồng” có độ đồng nhất ít hơn 40%, mặc dù tốt hơn là độ đồng nhất ít hơn 25%, với một trình tự trong số các trình tự theo sáng chế.

Polynucleotit hoặc vùng polynucleotit (hoặc polypeptit hoặc vùng polypeptit) có “độ đồng nhất trình tự” ở phần trăm nhất định (ví dụ, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% hoặc 99%) so với trình tự khác có nghĩa là, khi được sắp thẳng hàng,

phần trăm đó của bazơ (hoặc axit amin) là giống nhau khi so sánh hai trình tự. Việc sắp thẳng hàng này và phần trăm tương đồng hoặc độ đồng nhất trình tự có thể được xác định bằng cách sử dụng chương trình phần mềm đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật, ví dụ các chương trình được mô tả trong Ausubel *et al.* eds. (2007) *Current Protocols in Molecular Biology*. Tốt hơn là, các thông số mặc định được sử dụng để sắp thẳng hàng. Một chương trình sắp thẳng hàng là BLAST, sử dụng các thông số mặc định. Cụ thể là, các chương trình là BLASTN và BLASTP, sử dụng các thông số mặc định sau đây: Mã di truyền = chuẩn; bộ lọc = không; sợi = cả hai; ngưỡng = 60; kỳ vọng = 10; Ma trận = BLOSUM62; Mô tả = 50 trình tự; phân loại bởi = Điểm số cao; Cơ sở dữ liệu = không thừa, GenBank + EMBL + DDBJ + PDB + GenBank CDS translations + SwissProtein + SPupdate + PIR. Các polynucleotit tương đương về sinh học là các polynucleotit có phần trăm tương đồng xác định như lưu ý ở trên và mã hóa polypeptit có hoạt tính sinh học giống hoặc tương tự.

Thuật ngữ “axit nucleic hoặc polynucleotit tương đương” chỉ axit nucleic có trình tự nucleotit có mức tương đồng, hoặc độ đồng nhất trình tự nhất định với trình tự nucleotit của axit nucleic hoặc trình tự bổ sung của nó. Thể tương đồng của axit nucleic sợi kép được dự định là bao gồm axit nucleic có trình tự nucleotit mà có mức tương đồng nhất định với hoặc với trình tự bổ sung của nó. Theo một khía cạnh, thể tương đồng của axit nucleic có khả năng lai hóa với axit nucleic hoặc trình tự bổ sung của nó. Tương tự, “polypeptit tương đương” chỉ polypeptit có mức tương đồng, hoặc độ đồng nhất trình tự nhất định, với trình tự axit amin của polypeptit tham chiếu. Theo một số khía cạnh, độ đồng nhất trình tự là ít nhất khoảng 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, hoặc 99%. Theo một số khía cạnh, polypeptit hoặc polynucleotit tương đương có một, hai, ba, bốn hoặc năm bổ sung, mất, thay thế và tổ hợp của chúng so với polypeptit hoặc polynucleotit tham chiếu. Theo một số khía cạnh, trình tự tương đương giữ lại được hoạt tính (ví dụ, liên kết với epitop) hoặc cấu trúc (ví dụ, cầu muối) của trình tự tham chiếu.

Phản ứng lai hóa có thể được thực hiện trong các điều kiện “nghiêm ngặt” khác nhau. Nói chung, phản ứng lai hóa có độ nghiêm ngặt thấp được tiến hành ở khoảng 40°C trong SSC khoảng 10 x hoặc dung dịch có độ bền ion/nhiệt độ tương đương. Quá trình lai hóa có độ nghiêm ngặt vừa phải thường được thực hiện ở khoảng 50°C trong SSC khoảng 6 x, và phản ứng lai hóa có độ nghiêm ngặt cao thường được thực hiện ở

khoảng 60°C trong SSC khoảng 1 x. Phản ứng lai hóa cũng có thể được thực hiện trong “điều kiện sinh lý” đã biết rõ với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ không giới hạn về điều kiện sinh lý là nhiệt độ, độ bền ion, độ pH và nồng độ của Mg^{2+} thường được thấy ở tế bào.

Polynucleotit gồm có trình tự cụ thể của bốn bazơ nucleotit: adenin (A); xytosin (C); guanin (G); thymin (T); và uraxil (U) thay cho thymin khi polynucleotit là ARN. Do đó, thuật ngữ “trình tự polynucleotit” là sự biểu diễn phân tử polynucleotit theo bảng chữ cái. Sự biểu diễn theo bảng chữ cái này có thể đưa vào cơ sở dữ liệu trong máy tính có bộ xử lý trung tâm và được sử dụng cho ứng dụng tin sinh học chẳng hạn như nghiên cứu hệ gen chức năng và nghiên cứu độ tương đồng. Thuật ngữ “hiện tượng đa hình” chỉ sự tồn tại đồng thời của nhiều hơn một dạng của gen hoặc một phần của nó. Một phần của gen mà có ít nhất hai dạng khác nhau, tức là, hai trình tự nucleotit khác nhau, được gọi là “vùng đa hình của gen”. Vùng đa hình có thể là nucleotit đơn, độ đồng nhất của nó khác nhau ở các alen khác nhau.

Thuật ngữ “polynucleotit” và “oligonucleotit” được sử dụng thay thế cho nhau và chỉ dạng polyme của nucleotit có độ dài bất kỳ, hoặc deoxyribonucleotit hoặc ribonucleotit hoặc dạng tương tự của chúng. Polynucleotit có thể có cấu trúc ba chiều bất kỳ và có thể thực hiện chức năng bất kỳ, đã biết hoặc chưa biết. Sau đây là ví dụ không giới hạn về polynucleotit: gen hoặc mảnh của gen (ví dụ, đoạn dò, đoạn môi, EST hoặc đuôi SAGE), exon, intron, ARN thông tin (mRNA), ARN vận chuyển, ARN ribosom, ribozym, cADN, dsARN, siARN, miARN, polynucleotit tái tổ hợp, polynucleotit phân nhánh, plasmit, vectơ, ADN được phân lập của trình tự bất kỳ, ARN được phân lập của trình tự bất kỳ, đoạn dò và đoạn môi axit nucleic. Polynucleotit có thể bao gồm nucleotit được cải biến, chẳng hạn như nucleotit được metyl hóa và dạng tương tự nucleotit. Nếu có, cải biến đối với cấu trúc nucleotit có thể được thực hiện trước hoặc sau khi tập hợp của polynucleotit. Trình tự nucleotit có thể ngắt quãng bởi các thành phần không phải nucleotit. Polynucleotit còn có thể được cải biến sau khi polyme hóa, chẳng hạn như bằng cách liên hợp với thành phần đánh dấu. Thuật ngữ này còn chỉ cả phân tử sợi kép và sợi đơn. Trừ khi có quy định hoặc được yêu cầu khác, phương án bất kỳ theo sáng chế mà là polynucleotit bao gồm cả dạng sợi kép và mỗi dạng trong hai dạng sợi đơn bổ sung đã biết hoặc được dự đoán là tạo ra dạng sợi kép.

Thuật ngữ “mã hóa” khi được dùng cho polynucleotit chỉ polynucleotit mà được cho là “mã hóa” polypeptit nếu, ở trạng thái tự nhiên của nó hoặc khi được thao tác di truyền bằng phương pháp đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, nó có thể được phiên mã và/hoặc dịch mã để tạo ra mRNA cho polypeptit và/hoặc mảnh của polypeptit này. Sợi đối nghĩa là trình tự bổ sung của axit nucleic này, và trình tự mã hóa có thể được suy ra từ đó.

Như được sử dụng trong bản mô tả, “kháng thể” hoặc “polypeptit liên kết kháng nguyên” chỉ polypeptit hoặc phức hợp polypeptit nhận biết và liên kết đặc hiệu với kháng nguyên. Kháng thể có thể là kháng thể đầy đủ và mảnh liên kết kháng nguyên bất kỳ hoặc chuỗi đơn của nó. Do đó, thuật ngữ “kháng thể” bao gồm protein hoặc peptit bất kỳ chứa phân tử mà chứa ít nhất một phần của phân tử globulin miễn dịch có hoạt tính sinh học là liên kết với kháng nguyên. Ví dụ về chúng bao gồm, nhưng không giới hạn ở vùng quyết định bổ sung (CDR) của chuỗi nặng hoặc nhẹ hoặc phần liên kết phối tử của nó, vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ, vùng hằng định chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ, vùng khung (FR), hoặc phần bất kỳ của nó, hoặc ít nhất một phần của protein liên kết.

Thuật ngữ “mảnh kháng thể” hoặc “mảnh liên kết kháng nguyên”, như được sử dụng trong bản mô tả, là một phần của kháng thể chẳng hạn như $F(ab')_2$, $F(ab)_2$, Fab' , Fab , Fv , $scFv$ và tương tự. Không kể đến cấu trúc, mảnh kháng thể liên kết với cùng kháng nguyên được nhận biết bởi kháng thể nguyên vẹn. Thuật ngữ “mảnh kháng thể” bao gồm aptamer, spiegelmer, và kháng thể dime (diabody). Thuật ngữ “mảnh kháng thể” còn bao gồm protein tổng hợp hoặc được thiết kế di truyền bất kỳ mà hoạt động giống như kháng thể bằng cách liên kết với kháng nguyên cụ thể để tạo thành phức hợp.

“Mảnh biến đổi chuỗi đơn” hoặc “ $scFv$ ” chỉ protein dung hợp của vùng biến đổi của chuỗi nặng (V_H) và chuỗi nhẹ (V_L) của globulin miễn dịch. Theo một số khía cạnh, các vùng này được nối với peptit liên kết ngắn gồm 10 đến khoảng 25 axit amin. Thành phần liên kết có thể giàu glyxin để có độ linh hoạt, cũng như là serin hoặc threonin để có độ hòa tan, và có thể nối đầu cùng N của V_H với đầu cùng C của V_L , hoặc ngược lại. Protein này giữ lại được độ đặc hiệu của globulin miễn dịch ban đầu, mặc dù loại bỏ vùng hằng định và đưa vào thành phần liên kết. Phân tử $scFv$ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật và được mô tả, ví dụ, trong patent US 5,892,019.

Thuật ngữ kháng thể bao gồm các lớp rộng của polypeptit mà có thể được phân biệt theo cách sinh hóa. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ hiểu rằng chuỗi nặng được phân loại là gama, mu, alpha, delta, hoặc epsilon (γ , μ , α , δ , ϵ) với một số lớp phụ giữa chúng (ví dụ, γ 1- γ 4). Đây là đặc tính của chuỗi này mà xác định “lớp” của kháng thể tương ứng là IgG, IgM, IgA IgG, hoặc IgE. Lớp phụ của globulin miễn dịch (isotyp), ví dụ, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgG₅, v.v. được xác định rõ và đã biết là mang lại sự chuyên hóa chức năng. Phiên bản cải biến của mỗi lớp và isotyp này có thể được phân biệt dễ dàng với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế và, theo đó, nằm trong phạm vi bảo hộ của sáng chế. Tất cả các lớp globulin miễn dịch rõ ràng nằm trong phạm vi của sáng chế, thảo luận sau đây nói chung hướng đến lớp IgG của phân tử globulin miễn dịch. Đối với IgG, phân tử globulin miễn dịch tiêu chuẩn chứa hai polypeptit chuỗi nhẹ giống nhau có phân tử lượng xấp xỉ 23.000 Dalton, và hai polypeptit chuỗi nặng giống nhau có phân tử lượng 53.000-70.000. Bốn chuỗi này thường được nối bởi liên kết disulfua trong cấu trúc “Y” trong đó chuỗi nhẹ đỡ chuỗi nặng bắt đầu từ miệng của “Y” và tiếp tục qua vùng biến đổi.

Kháng thể, polypeptit liên kết kháng nguyên, biến thể, hoặc dẫn xuất của chúng theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, kháng thể đa dòng, đơn dòng, đa đặc hiệu, của người, được làm giống như của người, được làm giống như của linh trưởng, hoặc kháng thể khảm, kháng thể chuỗi đơn, mảnh liên kết epitop, ví dụ, Fab, Fab' và F(ab')₂, Fd, Fv, Fv chuỗi đơn (scFv), kháng thể chuỗi đơn, Fv được liên kết disulfua (sdFv), mảnh chứa miền VK hoặc VH, mảnh được tạo ra bởi thư viện biểu hiện Fab, và kháng thể kháng idiotyp (kháng Id) (bao gồm, ví dụ, kháng thể kháng Id đến kháng thể LIGHT được bộc lộ trong bản mô tả). Phân tử globulin miễn dịch hoặc kháng thể theo sáng chế có thể là loại (ví dụ, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA, và IgY), lớp (ví dụ, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ và IgA₂) hoặc lớp phụ bất kỳ của phân tử globulin miễn dịch.

Chuỗi nhẹ được phân loại là kapa hoặc lambda (K, λ). Mỗi lớp chuỗi nặng có thể được liên kết với chuỗi nhẹ kapa hoặc lambda. Nói chung, chuỗi nhẹ và nặng được liên kết cộng hóa trị với nhau, và phần “đuôi” của hai chuỗi nặng được liên kết với nhau bởi liên kết cộng hóa trị disulfua hoặc liên kết không cộng hóa trị khi globulin miễn dịch được tạo ra bởi tế bào lai, tế bào B hoặc tế bào vật chủ được thiết kế di truyền. Trong chuỗi nặng, trình tự axit amin chạy từ đầu cùng N ở đầu chạc của cấu trúc Y đến đầu cùng C ở phần cuối cùng của mỗi chuỗi.

Cả chuỗi nhẹ và nặng được chia thành vùng theo sự tương đồng về cấu trúc và chức năng. Thuật ngữ “hằng định” và “biến đổi” được sử dụng theo chức năng. Theo đó, hiểu rằng miền biến đổi của cả phần chuỗi nhẹ (VK) và nặng (VH) quyết định độ nhận biết và đặc hiệu với kháng nguyên. Ngược lại, miền hằng định của chuỗi nhẹ (CK) và chuỗi nặng (CH1, CH2 hoặc CH3) mang lại các đặc tính sinh học quan trọng chẳng hạn như tiết, độ linh động qua nhau, liên kết với thụ thể Fc, liên kết bổ thể, và đặc tính tương tự. Theo quy ước, đánh số miền hằng định tăng khi chúng càng ra xa khỏi vị trí liên kết kháng nguyên hoặc đầu amino của kháng thể. Phần đầu cùng N là vùng biến đổi và ở đầu cùng C là vùng hằng định; miền CH3 và CK thực sự bao gồm đầu cùng carboxy của chuỗi nặng và nhẹ, tương ứng.

Như nêu trên, vùng biến đổi cho phép kháng thể nhận biết chọn lọc và liên kết đặc hiệu với epitop trên kháng nguyên. Tức là, miền VK và miền VH, hoặc tập con của vùng quyết định bổ sung (CDR), của kháng thể kết hợp để tạo thành vùng biến đổi mà xác định vị trí liên kết kháng nguyên ba chiều. Cấu trúc kháng thể bậc bốn này tạo thành vị trí liên kết kháng nguyên có ở đầu của mỗi nhánh của Y. Cụ thể hơn, vị trí liên kết kháng nguyên được xác định bởi ba CDR trên mỗi chuỗi VH và VK (tức là, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 và CDR-L3). Trong một số trường hợp, ví dụ, phân tử globulin miễn dịch cụ thể có nguồn gốc từ loài lạc đà hoặc được thiết kế di truyền dựa trên globulin miễn dịch của lạc đà, thì phân tử globulin miễn dịch hoàn chỉnh có thể gồm có chỉ chuỗi nặng, mà không có chuỗi nhẹ. Xem, ví dụ, Hamers-Casterman *et al.*, *Nature* 363:446-448 (1993).

Ở kháng thể xuất hiện trong tự nhiên, sáu “vùng quyết định bổ sung” hoặc “CDR” có mặt ở mỗi miền liên kết kháng nguyên là trình tự axit amin ngắn, không liên kết mà được xác định vị trí đặc hiệu để tạo thành miền liên kết kháng nguyên khi kháng thể có cấu trúc ba chiều trong môi trường nước. Phần còn lại của axit amin ở miền liên kết kháng nguyên, được gọi là vùng “khung”, thể hiện độ biến đổi giữa các phân tử ít hơn. Vùng khung tạo cấu hình tấm β ở mức độ lớn và CDR tạo thành vòng mà nổi, và trong một số trường hợp tạo thành một phần của cấu trúc tấm β . Do đó, vùng khung hoạt động tạo thành giàn cung cấp việc định vị CDR theo hướng chính xác bởi các tương tác giữa các chuỗi, không cộng hóa trị. Miền liên kết kháng nguyên được tạo thành bởi CDR đã định vị xác định bề mặt bổ sung với epitop trên kháng nguyên phản ứng miễn dịch. Bề mặt bổ sung này thúc đẩy liên kết không cộng hóa trị của kháng thể với epitop cùng

nguồn gốc với nó. Axit amin chứa CDR và vùng khung, tương ứng, có thể được nhận diện dễ dàng cho vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc nhẹ nhất định bất kỳ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, bởi vì chúng đã được định nghĩa chính xác (xem “Sequences of Proteins of Immunological Interest”, Kabat, E., *et al.*, U.S. Department of Health and Human Services, (1983); và Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.*, 196:901-917 (1987)).

Trong trường hợp có hai hoặc nhiều định nghĩa của thuật ngữ này được sử dụng và/hoặc được chấp nhận trong lĩnh vực kỹ thuật, định nghĩa của thuật ngữ như được sử dụng trong bản mô tả được dự định là bao gồm tất cả các nghĩa trừ khi được nêu trái ngược rõ ràng. Ví dụ cụ thể là việc sử dụng thuật ngữ “vùng quyết định bổ sung” (“CDR”) để mô tả vị trí kết hợp với kháng nguyên không liên kết được tìm thấy ở vùng biến đổi của cả polypeptit chuỗi nặng và nhẹ. Vùng cụ thể này đã được mô tả bởi Kabat *et al.*, U.S. Dept. of Health and Human Services, “Sequences of Proteins of Immunological Interest” (1983) và bởi Chothia *et al.*, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987), được đưa vào trong bản mô tả bằng cách viện dẫn toàn bộ. Định nghĩa CDR theo Kabat và Chothia bao gồm sự gộp chồng hoặc tập hợp con của các gốc axit amin khi so sánh với nhau. Tuy nhiên, việc áp dụng cả hai định nghĩa để đề cập đến CDR của kháng thể hoặc biến thể của nó được dự định là nằm trong phạm vi của thuật ngữ như được định nghĩa và được sử dụng trong bản mô tả. Gốc axit amin thích hợp mà bao gồm CDR như được định nghĩa bởi mỗi tài liệu tham khảo được trích dẫn ở trên được nêu trong bảng dưới đây dưới dạng so sánh. Số lượng gốc chính xác bao gồm CDR nhất định sẽ thay đổi phụ thuộc vào trình tự và kích cỡ của CDR. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có thể xác định theo cách thông thường các gốc chứa CDR cụ thể quy định trình tự axit amin của vùng biến đổi của kháng thể.

	Kabat	Chothia
CDR-H1	31-35	26-32
CDR-H2	50-65	52-58
CDR-H3	95-102	95-102
CDR-L1	24-34	26-32
CDR-L2	50-56	50-52
CDR-L3	89-97	91-96

Kabat *et al.* cũng định nghĩa hệ thống đánh số cho trình tự vùng biến đổi có thể áp dụng cho kháng thể bất kỳ. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có

thể chỉ định rõ ràng hệ thống “đánh số Kabat” này cho trình tự vùng biến đổi bất kỳ, mà không dựa vào bất kỳ dữ liệu thí nghiệm nào ngoài chính trình tự đó. Như được sử dụng trong bản mô tả, “đánh số Kabat” chỉ hệ thống đánh số được nêu bởi Kabat *et al.*, U.S. Dept. of Health and Human Services, “Sequence of Proteins of Immunological Interest” (1983).

Ngoài bảng nêu trên, hệ thống đánh số Kabat mô tả vùng CDR như sau: CDR-H1 bắt đầu ở khoảng axit amin thứ 31 (tức là, xấp xỉ 9 gốc sau gốc xystein thứ nhất), bao gồm xấp xỉ 5-7 axit amin, và kết thúc ở gốc tryptophan tiếp theo. CDR-H2 bắt đầu ở gốc thứ 15 sau kết thúc của CDR-H1, bao gồm xấp xỉ 16-19 axit amin, và kết thúc ở gốc arginin hoặc lysin tiếp theo. CDR-H3 bắt đầu ở khoảng gốc axit amin thứ 33 sau kết thúc của CDR-H2; bao gồm 3-25 axit amin; và kết thúc ở trình tự W-G-X-G, trong đó X là axit amin bất kỳ. CDR-L1 bắt đầu ở khoảng gốc thứ 24 (tức là, theo sau gốc xystein); bao gồm xấp xỉ 10-17 gốc; và kết thúc ở gốc tryptophan tiếp theo. CDR-L2 bắt đầu ở xấp xỉ gốc thứ 16 sau kết thúc của CDR-L1 và bao gồm xấp xỉ 7 gốc. CDR-L3 bắt đầu ở khoảng gốc thứ 33 sau kết thúc của CDR-L2 (tức là, theo sau gốc xystein); bao gồm xấp xỉ 7-11 gốc và kết thúc ở trình tự F hoặc W-G-X-G, trong đó X là axit amin bất kỳ.

Kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả có thể có nguồn gốc từ động vật bất kỳ bao gồm chim và động vật có vú. Tốt hơn là, kháng thể là kháng thể của người, chuột, lừa, thỏ, dê, chuột lang, lạc đà, lạc đà không bướu, ngựa hoặc gà. Theo một phương án khác, vùng biến đổi có thể có nguồn gốc từ nhóm Cá sụn (condricthoid) (ví dụ, từ cá mập).

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ “vùng hằng định chuỗi nặng” bao gồm trình tự axit amin có nguồn gốc từ chuỗi nặng của globulin miễn dịch. Polypeptit chứa vùng hằng định chuỗi nặng chứa ít nhất một trong số: miền CH1, miền bản lề (ví dụ, vùng bản lề phía trên, ở giữa và/hoặc phía dưới), miền CH2, miền CH3, hoặc biến thể hoặc mảnh của nó. Ví dụ, polypeptit liên kết kháng nguyên để sử dụng trong bản mô tả có thể bao gồm chuỗi polypeptit chứa miền CH1; chuỗi polypeptit chứa miền CH1, ít nhất một phần của miền bản lề, và miền CH2; chuỗi polypeptit chứa miền CH1 và miền CH3; chuỗi polypeptit chứa miền CH1, ít nhất một phần của miền bản lề, và miền CH3, hoặc chuỗi polypeptit chứa miền CH1, ít nhất một phần của miền bản lề, miền CH2, và

miền CH3. Theo một phương án khác, polypeptit theo sáng chế bao gồm chuỗi polypeptit chứa miền CH3. Ngoài ra, kháng thể để sử dụng trong bản mô tả có thể thiếu ít nhất một phần của miền CH2 (ví dụ, tất cả hoặc một phần của miền CH2). Như nêu trên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ hiểu rằng vùng hằng định chuỗi nặng có thể được cải biến sao cho chúng thay đổi về trình tự axit amin so với phân tử globulin miễn dịch xuất hiện trong tự nhiên.

Vùng hằng định chuỗi nặng của kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả có thể có nguồn gốc từ các phân tử globulin miễn dịch khác. Ví dụ, vùng hằng định chuỗi nặng của polypeptit có thể bao gồm miền CH1 có nguồn gốc từ phân tử IgG₁ và vùng bản lề có nguồn gốc từ phân tử IgG₃. Theo một ví dụ khác, vùng hằng định chuỗi nặng có thể bao gồm vùng bản lề có nguồn gốc, một phần, từ phân tử IgG₁ và, một phần, từ phân tử IgG₃. Theo một ví dụ khác, phần chuỗi nặng có thể bao gồm bản lề khảm có nguồn gốc, một phần, từ phân tử IgG₁ và, một phần, từ phân tử IgG₄.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ “vùng hằng định chuỗi nhẹ” bao gồm trình tự axit amin có nguồn gốc từ kháng thể chuỗi nhẹ. Tốt hơn là, vùng hằng định chuỗi nhẹ bao gồm ít nhất một trong số miền hằng định kapa hoặc miền hằng định lamda.

“Cặp chuỗi nhẹ-chuỗi nặng” chỉ tập hợp chuỗi nhẹ và chuỗi nặng mà có thể tạo thành dime qua liên kết disulfua giữa miền CL của chuỗi nhẹ và miền CH1 của chuỗi nặng.

Như được nêu trước đó, cấu trúc tiểu đơn vị và cấu hình ba chiều của vùng hằng định của các lớp globulin miễn dịch khác nhau là đã biết rõ. Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ “miền VH” bao gồm miền biến đổi đầu cùng amino của chuỗi nặng của globulin miễn dịch và thuật ngữ “miền CH1” bao gồm miền của vùng hằng định thứ nhất (đầu cùng amino nhất) của chuỗi nặng của globulin miễn dịch. Miền CH1 liền kề với miền VH và là đầu cùng amino đối với miền bản lề của phân tử chuỗi nặng của globulin miễn dịch.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ “miền CH2” bao gồm phần của phân tử chuỗi nặng mà kéo dài, ví dụ, từ khoảng gốc 244 đến gốc 360 của kháng thể sử dụng sơ đồ đánh số thông dụng (gốc 244 đến 360, hệ thống đánh số Kabat; và gốc 231 đến 340, hệ thống đánh số EU; xem Kabat *et al.*, U.S. Dept. of Health and Human Services, “Sequences of Proteins of Immunological Interest” (1983). Miền CH2 độc

nhất ở chỗ nó không bắt cặp chặt chẽ với miền khác. Đúng hơn là, hai chuỗi hydrat cacbon phân nhánh được liên kết ở vị trí N được đặt vào giữa hai miền CH2 của phân tử IgG tự nhiên nguyên vẹn. Các tài liệu cũng thể hiện rõ rằng miền CH3 kéo dài từ miền CH2 đến đầu cùng C của phân tử IgG và chứa xấp xỉ 108 gốc.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ “vùng bản lề” bao gồm phần của phân tử chuỗi nặng mà liên kết miền CH1 với miền CH2. Vùng bản lề này chứa xấp xỉ 25 gốc và linh hoạt, do đó cho phép hai vùng liên kết kháng nguyên đầu cùng N di chuyển theo cách độc lập. Vùng bản lề có thể được chia nhỏ hơn thành ba miền phân biệt: miền bản lề phía trên, ở giữa và phía dưới (Roux *et al.*, *J. Immunol* 161:4083 (1998)).

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ “liên kết disulfua” bao gồm liên kết cộng hóa trị được tạo thành giữa hai nguyên tử lưu huỳnh. Axit amin cysteine chứa nhóm thiol có thể tạo thành liên kết disulfua hoặc cầu với nhóm thiol thứ hai. Trong hầu hết các phân tử IgG xuất hiện trong tự nhiên, vùng CH1 và CK được liên kết bởi liên kết disulfua và hai chuỗi nặng được liên kết bởi hai liên kết disulfua ở vị trí tương ứng với 239 và 242 sử dụng hệ thống đánh số Kabat (vị trí 226 hoặc 229, hệ thống đánh số EU).

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ “kháng thể khảm” có nghĩa là kháng thể bất kỳ trong đó vùng hoặc vị trí phản ứng miễn dịch thu được hoặc có nguồn gốc từ loài thứ nhất và vùng hằng định (mà có thể nguyên vẹn, một phần hoặc được cải biến theo sáng chế) thu được từ loài thứ hai. Theo các phương án cụ thể, vùng hoặc vị trí liên kết với đích có nguồn gốc không phải từ người (ví dụ, chuột nhắt hoặc linh trưởng) và vùng hằng định có nguồn gốc từ người.

Như được sử dụng trong bản mô tả, “độ làm giống như của người theo phần trăm” được tính bằng cách xác định số lượng chênh lệch axit amin khung (tức là, sự khác nhau không phải CDR) giữa miền được làm giống như của người và miền dòng mầm, lấy tổng số lượng axit amin trừ đi số lượng này, và sau đó chia cho tổng số lượng axit amin và nhân với 100.

Bằng cách “liên kết đặc hiệu” hoặc “có độ đặc hiệu với”, thường có nghĩa là kháng thể liên kết với epitop thông qua miền liên kết kháng nguyên của nó, và sự liên kết đòi hỏi một số bổ sung giữa miền liên kết kháng nguyên và epitop. Theo định nghĩa

này, kháng thể được cho là “liên kết đặc hiệu” với epitop khi nó liên kết với epitop đó thông qua miền liên kết kháng nguyên của nó dễ dàng hơn so với liên kết với epitop ngẫu nhiên, không liên quan. Thuật ngữ “độ đặc hiệu” được sử dụng trong bản mô tả để định tính ái lực tương đối mà kháng thể nhất định liên kết với epitop nhất định bởi ái lực này. Ví dụ, kháng thể “A” có thể được cho là có độ đặc hiệu với epitop nhất định cao hơn so với kháng thể “B”, hoặc kháng thể “A” có thể được cho là liên kết với epitop “C” với độ đặc hiệu cao hơn so với độ đặc hiệu của nó cho epitop liên quan “D”.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ “điều trị” hoặc “việc điều trị” chỉ cả việc điều trị trị liệu và phương pháp phòng ngừa hoặc ngăn ngừa, trong đó mục đích là để ngăn ngừa hoặc làm chậm (làm giảm) sự thay đổi sinh lý hoặc rối loạn không mong muốn, chẳng hạn như sự tiến triển của bệnh ung thư. Kết quả lâm sàng có lợi hoặc mong muốn bao gồm, nhưng không giới hạn ở, làm nhẹ bớt triệu chứng, giảm quy mô bệnh, làm ổn định (tức là, không làm xấu đi) tình trạng bệnh, trì hoãn hoặc làm chậm sự tiến triển của bệnh, cải thiện hoặc làm giảm nhẹ tình trạng bệnh, và làm thuyên giảm (dù một phần hoặc tổng thể), dù phát hiện được hoặc không phát hiện được. “Việc điều trị” cũng có thể có nghĩa là kéo dài sự sống so với mức sống sót kỳ vọng nếu không nhận điều trị. Đối tượng cần điều trị bao gồm đối tượng đã mắc tình trạng bệnh hoặc rối loạn cũng như là đối tượng có xu hướng mắc tình trạng bệnh hoặc rối loạn hoặc đối tượng cần ngăn ngừa tình trạng bệnh hoặc rối loạn.

“Đối tượng” hoặc “cá thể” hoặc “động vật” hoặc “bệnh nhân” hoặc “động vật có vú” có nghĩa là đối tượng bất kỳ, cụ thể là đối tượng động vật có vú cần chẩn đoán, tiên lượng hoặc điều trị. Đối tượng động vật có vú bao gồm người, động vật trong nhà, động vật ở trang trại, và động vật trong sở thú, thể thao hoặc động vật thú cưng như chó, mèo, chuột lang, thỏ, chuột cống, chuột nhắt, ngựa, gia súc, bò, và loài tương tự.

Như được sử dụng trong bản mô tả, cụm từ chẳng hạn như “cho bệnh nhân cần điều trị” hoặc “đối tượng cần điều trị” bao gồm đối tượng, chẳng hạn như đối tượng động vật có vú, mà có lợi từ việc dùng kháng thể hoặc chế phẩm theo sáng chế được sử dụng, ví dụ, để phát hiện, cho quy trình chẩn đoán và/hoặc để điều trị.

Kháng thể và mảnh kháng claudin 18.2

Sáng chế đề cập đến kháng thể kháng claudin 18.2 có ái lực cao với cả claudin 18.2 kiểu hoang và thể đột biến thông thường, M149L (tế bào SU620 biểu hiện nội sinh

đột biến này). Đối với kiến thức tốt nhất của các tác giả sáng chế, tất cả các thể kháng protein claudin 18.2 không liên kết với thể đột biến này. Do đó, kháng thể theo sáng chế có hiệu quả độc đáo là có khả năng nhắm đích cả protein claudin 18.2 kiểu hoang và thể đột biến M149L. Hiệu quả này là quan trọng bởi vì một phần đáng kể bệnh nhân ung thư mang đột biến thông thường này. Cũng đáng chú ý là kháng thể theo sáng chế không liên kết với thể đồng dạng claudin 18 khác, claudin 18.1 (hoặc liên kết với claudin 18.1 ở ái lực thấp hơn nhiều).

Kháng thể và mảnh theo sáng chế thể hiện đặc tính vượt trội ngay cả khi sử dụng ứng viên lâm sàng làm tham chiếu. 175D10 (IMAB362; claudiximab) hiện nay đang trải qua thử nghiệm lâm sàng pha III để điều trị ung thư tuyến dạ dày và đoạn nối dạ dày-thực quản. Kháng thể và mảnh theo sáng chế không chỉ thể hiện hoạt tính liên kết mạnh hơn, chúng còn thể hiện hoạt tính ADCC và ADCP cao hơn trong các điều kiện khác nhau, so với 175D10.

Cũng quan trọng là, sáng chế minh chứng rằng các kháng thể này có hiệu quả cao trong việc cảm ứng sự nội bào của kháng thể qua trung gian thụ thể, ngay cả khi so với IMAB362. Việc khả năng cảm ứng sự nội bào của kháng thể qua trung gian thụ thể được tăng mạnh được bộc lộ trong bản mô tả, được dự định, có thể được cho là do cách các kháng thể này liên kết với protein claudin 18.2. Như được chứng minh trong Ví dụ 14 và được minh họa trên FIG. 20, các gốc axit amin trên protein claudin 18.2 quan trọng trong việc liên kết với kháng thể bao gồm các gốc axit amin quan trọng trong việc làm ổn định cấu hình của vòng ngoại bào (ví dụ, W30, L49, W50, C53, C63 và R80). W30, L49 và W50 là một phần của mô típ liên ứng W-LW-C-C giúp làm ổn định cấu hình của vòng 1. C53 và C63 tạo thành liên kết disulfua giữa các sợi beta. R80 có thể quan trọng trong việc duy trì tương tác giữa các phân tử claudin 18.2 song song trên bề mặt tế bào, hoặc để làm ổn định cấu hình của vòng 1.

Cũng quan trọng trong việc liên kết kháng thể là gốc N45, Y46, G48, V54, R55, E56, S58, F60, E62, Y169 và G172. Trong số chúng, N45, Y46, G48, V54, R55, E56, S58, F60 và E62 nằm trong sợi β 3, hoặc thông qua C63 ở sợi β 4. Vùng này gồm có các gốc 45-63 của SEQ ID NO:30 (NYQGLWRSCVRESSGFTEC), từ đây được gọi là “vòng β 3 đến β 4”, là một phần của vòng ngoại bào thứ nhất (vòng 1) của claudin 18.2. Y169 và G172, ngược lại, là một phần của sợi β 5 (các gốc 169-172 của SEQ ID NO:30; YTFG) của vòng ngoại bào thứ hai (vòng 2).

Việc hoạt tính được tăng mạnh bởi kháng thể được bọc lộ trong bản mô tả để cảm ứng sự nội bào của kháng thể qua trung gian thụ thể, được dự định là do khả năng của chúng trong việc liên kết với các gốc ở cả vòng $\beta 3$ đến $\beta 4$ và sợi $\beta 5$. Trong ngữ cảnh này, cho rằng kháng thể kháng claudin 18.2 đã biết chỉ liên kết với một trong số các vòng này.

Dữ liệu thí nghiệm cũng thể hiện rằng kháng thể được bọc lộ trong bản mô tả có độ đặc hiệu liên kết cao hơn và ADCC và ADCCP được cải thiện so với kháng thể đã biết.

Trình tự claudin 18.2 của người

Tên	Trình tự (SEQ ID NO:30)
Claudin 18.2 của người (NP_001002026)	1 MAVTACQGLG FVVS ^L LIGIAG IIAATCM ^{DQW} ST ^Q DLYNNPV TAVF ^{NYQGLW}

	51 RS ^{CVRES} ^{SGF} T ^{EC} RGYFTLL GLPAMLQAVR ALMIVGIVLG AIGLLVSIFA
	----- vòng $\beta 3$ - $\beta 4$
	101 LKCIRIGSME DSAKANMTLT SGIMFIVSGL CAIAGVSVFA NMLVTNFWMS
	151 TANMYTGMGG MVQTVQTR ^{YT} F ^{GA} AALFVGWV AGGLTLIGGV MMCIACRGLA
	--- -- B5
	201 PEETNYKA ^{VS} YHASGHSVAY KPGGFKASTG FGSNTKNKKI YDGGARTEDE
	251 VQSYPSKHDY V

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này có tính đặc hiệu liên kết với protein claudin 18.2 (CLDN18.2) của người kiểu hoang, trong đó kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với cả vòng ngoại bào thứ nhất

và vòng ngoại bào thứ hai của CLDN18.2. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với cả vòng $\beta 3$ - $\beta 4$ và sợi $\beta 5$ của CLDN18.2.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này có tính đặc hiệu liên kết với protein claudin 18.2 (CLDN18.2) của người kiểu hoang, trong đó kháng thể hoặc mảnh này còn liên kết với thể đột biến M149L của protein CLDN18.2. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh này không liên kết với protein claudin 18.1 (CLDN18.1) của người kiểu hoang, hoặc không liên kết với CLDN18.1 ở ái lực lớn hơn khoảng 1% so với ái lực với protein CLDN18.2 kiểu hoang.

Ái lực liên kết của kháng thể hoặc mảnh với protein có thể được đo bằng nhiều phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ, ái lực này có thể được đo bằng thử nghiệm không chứa tế bào với protein CLDN18.1 hoặc CLDN18.2 độc lập. Tuy nhiên, tốt hơn là, phép đo được thực hiện với protein CLDN18.1 hoặc CLDN18.2 trên bề mặt tế bào bắt chước môi trường liên kết thực tế. Thử nghiệm liên kết này được lấy làm ví dụ thích hợp trong phần ví dụ thí nghiệm.

Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này có ái lực liên kết với thể đột biến M149L mà ít nhất bằng 1%, hoặc theo cách khác ít nhất bằng 0,001%, 0,01%, 0,1%, 0,5%, 2%, 3%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, hoặc 99% so với ái lực với protein CLDN18.2 kiểu hoang.

Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này không liên kết với CLDN18.1 của người. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này, so với liên kết với CLDN18.2, có liên kết với CLDN18.1 của người yếu hơn nhiều, ví dụ, không lớn hơn 10%, 5%, 2%, 1%, 0,5%, 0,1%, 0,05%, 0,01%, 0,005%, hoặc 0,001%, mà không giới hạn ở đó.

Như được mô tả ở trên, kháng thể và mảnh của kháng thể này theo sáng chế liên kết với protein claudin 18.2 ở epitop khác với kháng thể đã biết (xem FIG. 4; ít nhất kháng thể tham chiếu tương tác với M149 trong khi kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả thì không). Do đó, theo một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này có tính đặc hiệu liên kết với protein claudin 18.2 (CLDN18.2) của người kiểu hoang, trong đó liên kết giữa kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này và protein CLDN18.2 kiểu hoang bao gồm các gốc axit amin chứa ít nhất một gốc axit amin

được chọn từ nhóm bao gồm N45, Y46, G48, V54, R55, E56, S58, F60, và E62; và ít nhất một gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm Y169 và G172, của protein CLDN18.2 kiểu hoang.

Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với N45 của CLDN18.2. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với Y46 của CLDN18.2. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với G48 của CLDN18.2. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với L49 của CLDN18.2. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với W50 của CLDN18.2. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với C53 của CLDN18.2. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với V54 của CLDN18.2. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với R55 của CLDN18.2. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với E56 của CLDN18.2. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với E58 của CLDN18.2. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với F60 của CLDN18.2. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với E62 của CLDN18.2. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với C63 của CLDN18.2.

Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với ít nhất hai gốc axit amin được chọn từ N45, Y46, G48, V54, R55, E56, S58, F60, và E62. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với ít nhất ba gốc axit amin được chọn từ N45, Y46, G48, V54, R55, E56, S58, F60, và E62. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với ít nhất bốn gốc axit amin được chọn từ N45, Y46, G48, V54, R55, E56, S58, F60, và E62. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với ít nhất năm gốc axit amin được chọn từ N45, Y46, G48, V54, R55, E56, S58, F60, và E62.

Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với ít nhất Y169 của CLDN18.2. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với ít nhất G172 của CLDN18.2. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với ít nhất hai gốc axit amin được chọn từ Y169 và G172 của CLDN18.2.

Theo một số phương án, liên kết bao gồm gốc axit amin bao gồm W30; hai, ba, bốn, năm hoặc nhiều hơn năm gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm N45, Y46, G48, V54, R55, E56, S58, F60, và E62; và ít nhất một gốc axit amin được chọn từ nhóm bao gồm Y169 và G172, của protein CLDN18.2 kiểu hoang. Theo một số phương án, liên kết bao gồm gốc axit amin bao gồm W30, N45, Y46, G48, V54, R55, E56, S58, F60, E62 và Y169 của protein CLDN18.2 kiểu hoang.

Liên kết yếu hơn với các axit amin này trên CLDN18.2 có thể so với các axit amin khác, chẳng hạn như G48, L49, W50, C53, V54, R55, E56. Theo một số phương án, phép so sánh là so với liên kết ở cùng axit amin với 175D10. Ví dụ, liên kết của kháng thể hoặc mảnh theo sáng chế là yếu hơn so với liên kết của 175D10 (IMGT/cấu trúc 2D-thẻ DB số: 10473) với ít nhất một, hai, ba, bốn, năm trong số hoặc tất cả D28, Q33, N38, V43, G59 và V79.

Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này không liên kết với M149L của protein CLDN18.2. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này liên kết với thể đột biến M149L của protein CLDN18.2.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này mà bao gồm miền biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có các vùng CDR như được thể hiện trong tổ hợp CDR của Bảng A.

Bảng A. Tổ hợp CDR của kháng thể thử nghiệm (đánh số Kabat)

Tổ hợp số	Kháng thể	CDRL1 (SEQ ID NO:)	CDRL2 (SEQ ID NO:)	CDRL3 (SEQ ID NO:)	CDRH1 (SEQ ID NO:)	CDRH2 (SEQ ID NO:)	CDRH3 (SEQ ID NO:)
1	64G11B4	KSSQSLNLSGNQKN LT (208)	WASTRES (227)	QNDYFYPFT (42)	NYLLE (234)	EINPGNGGSNYNEKFK G (255)	IYYGNSFAY (281)
2	65G8B8	KSSQSLNLSGNLKNY LT (209)	WASTRES (227)	QNVYIYPFT (43)	SYGVS (235)	VIWGDGNTIYHSALKS (256)	QGLYGHAMDY (282)
3	56E8F10F4	KSSQSLNLSGNQKN YLT (210)	WASTRES (227)	QNDYFYPFT (44)	SFGMN (236)	FISGGSNTIHYLDTVK G (257)	LALGNAMDY (283)
4	54A2C4	KSSQSLNLSGNQKN YLA (211)	GASTRES (228)	QNDLYYPW T (45)	TNAMN (237)	RIRSKSNNYATYYADS VKD (258)	GAYYGNSKAF DY (284)
5	54A2C4'	KSSQSLNLSGNQKN YLA (211)	GASTRES (228)	QNDLYYPW T (45)	NYLLE (234)	EINPGNGGSNYNEKFK G (255)	IYYGNSFAY (281)
6	54A2C4''	KSSQSLNLSGNQKN YLA (211)	GASTRES (228)	QNDLYYPW T (45)	TYSIH (238)	YINPSTIYTNYNQKFK Y (259)	EGYGRGNAMD Y (285)
7	44F6B11	KSNQSLNLSGNQKK YLT (212)	WASTRES (227)	QNGYSYPFT (46)	NYGMS (239)	TFSYGDSDHNYSDSVK G (260)	FGRGNTMDY (286)
8	15C2B7	KSSQSLNLSGNQKN YLT (210)	WASTRES (227)	QNNYFPLT (47)	NYGMN (240)	WINANTGEPTYAEEFK G (261)	LTRGNSFDY (287)
9	20F1E10	KSSQSLFNSGNQKN LT (213)	WASTRES (227)	QNVYSYPLT (48)	KYGMN (241)	WISTNTGEPTYAEEFK G (262)	LVRGNSFDF (288)
10	72C1B6A3	KSSQSLNLSGNQKN YLT (210)	RASSRES (229)	QNDYIYPYT (8)	TYPIE (242)	NFHPYNDDTKYNEKF KG (263)	RAYGYPYAMD Y (289)
11	58G2C2	KSSQSLNLSGNQKN YLT (210)	WAFTRRES (230)	QNSYSYPFT (49)	NYLIE (243)	VINPGRSGTNYNEKFK G (264)	TRYGGNAMDY (290)

12	101C4F12	KSSQSLNLSGNQRNY LT (208)	WSSTRDS (231)	QNNFIYPLT (50)	SYGVH (244)	VIWAGGSTNYDSALM S (265)	SLYGNSLDS (291)
13	103A10B2	RSSMSLFNSGNQKSY LS (214)	WASTRDS (232)	HNDYIYPLT (51)	SFGVH (245)	VIWAGGSTNYNSALM S (266)	SLYGNISFDY (292)
14	78E8G9G6	RSIQSLNLSGNQKNY LS (215)	WASTRES (227)	QNSYSYPFT (49)	SYGVH (244)	VIWAGGRTNYNSALM S (267)	DRYGGNSLDY (293)
15	4F11E2	RSSQSLNLSGNRKNY LT (216)	WASTRES (227)	QNAYSYPFT (13)	TFGMH (246)	YITSGNSPIYFTDTVKG (268)	SSYYGNISMDY (294)
16	10G7G11	KSSQSLFNSGNQRNY LT (213)	WASTRES (227)	QNAYYFPFT (19)	TYGVH (247)	VMLSDGNTVYNSSLK S (269)	HKA YGNAMDY (295)
17	12F1F4	KSSQSLFNSGNQRNY LT (213)	WSSTRES (233)	QNNYYYFPFT (52)	NYGVS (248)	VIWGDGNTNYQSALR S (270)	VGRGNAMDH (296)
18	78C10B6G 4	KSSQSLNLSGNQKN YLT (210)	RASSRES (229)	QNDYIYPYT (8)	NYGVS (248)	VIRGDGNTNYQSALRS (271)	VGRGNAMDH (296)
19	119G11D9	RSTQSLFNSGNQKNY LT (217)	WASTRES (227)	QNAYYYPLT (53)	GFLMH (249)	YINPYNDGTKYSEKFK G (272)	LDYGNAMDY (297)
20	113G12E5 E6	KPSQSLNLSGNQKN YLA (218)	WASTRES (227)	QNAFYYPCT (54)	KYGVH (250)	VIWTGGNTDYNPALIP (273)	NGYYGNAMDY (298)
21	116A8B7	RSTQSLFNSGNQRNY LT (219)	WASTRES (227)	QNAYYYPLT (53)	GFLMH (249)	YINPYNDGTKYSEKFK G (272)	LDYGNAMDY (297)
22	105F7G12	KSSQSLNLSGNQKN YLA (220)	WASTRES (227)	QNAFYYPCT (54)	KYGVH (250)	VIWTGGNTDYNPALIP (273)	NGYYGNAMDY (298)
23	84E9E12	KSSQSVFNSGNQKN YLT (221)	WASTRES (227)	QNDYYFPFT (55)	SGYFW (251)	YISYDGSNNYNPSLKN (274)	FRFFAY (299)
24	103F4D4	RSSQSLNLSGNQKN YLT (222)	WASTRES (227)	QNAFYYPFT (56)	TYSIH (238)	YINPSTIYTNYNQKFK Y (259)	EGYGRGNAMD Y (285)

25	110C12B6	RSTQSLFNSGNQRNY LT (219)	WASTRES (227)	QNAYYYPLT (53)	GFLMH (249)	YINPYNDGTYSEKFK G (272)	LDYGNAMDY (297)
26	85H12E8	KSSQSLNLSGNQRNY LS (223)	WASTRES (227)	QNAFYFPFT (56)	NYGVS (248)	VIWAGGNTNYSALM S (275)	HGYGKGNAMD N (300)
27	103H2B4	KSSQSLNLSGNQKN YLT (210)	WASTRES (227)	QNNFYPLT (57)	NFLTH (252)	EINPTNGRTYYNEKFK R (276)	IYYGNSMDY (301)
28	103F6D3	RSSQSLNLSGNQKN YLT (222)	WASTRES (227)	QNAFYFPFT (56)	TYSIH (238)	YINPNTIYTNYNQKFK Y (277)	EGYGRGNAMD Y (285)
29	113E12F7	KSSQSLFNSGNQKNY LT (224)	WASTRES (227)	QNNYIYPLA (58)	SYGVH (244)	VIWAGGSTNYDSALM S (265)	SLYGNISFDH (302)
30	120B7B2	KSSQSLNLSGNQKN YLT (210)	WASTRES (227)	QNGYFFPFT (3)	GYIIQ (253)	FINPYNDGTYNEQFK G (278)	AYFGNSFAY (303)
31	111B12D1 1	RSSQSLFNSGNQRNY LT (225)	WASTRES (227)	QNNYIYPLA (58)	SYGVH (244)	VIWAGGSTNYDSTLM S (279)	SLYGNISFDH (302)
32	111E7E2	KSSQSLFNSGNQKNY LT (224)	WASTRES (227)	QNNYIYPLA (58)	SYGAH (254)	VIWAGGSTNYDSALM S (265)	SLYGNISFDH (302)
33	100F4G12	KSTQSLNLSGNQRN YLT (226)	WASTRES (227)	QNAYYYPLT (53)	GFLMH (249)	YINPYNDGTYSERFK G (280)	LDYGNAMDY (297)

Bảng B. CDR của 120B7B2 (đánh số Kabat)

CDR	Trình tự (SEQ ID NO:)	Phiên bản loại bỏ rủi ro (SEQ ID NO:)
CDRL1	KSSQSLLNSGNQKNYLT (210)	KSSQSLLN <u>A</u> GNQKNYLT (304) KSSQSLL <u>E</u> SGNQKNYLT (305)
CDRL2	WASTRES (227)	
CDRL3	QNGYYFPFT (3)	QN <u>A</u> YYFPFT (19) QE <u>G</u> YYFPFT (20)
CDRH1	GYIIQ (253)	
CDRH2	FINPYNDGTYKYNEQFKG (278)	FINPYND <u>D</u> TKYNEQFKG (306)
CDRH3	AYFGNSFAY (303)	AYFGN <u>A</u> FAY (307)

Bảng C. CDR của 72C1B6A3 (đánh số Kabat)

CDR	Trình tự (SEQ ID NO:)	Phiên bản loại bỏ rủi ro (SEQ ID NO:)
CDRL1	KSSQSLLNSGNQKNYLT (210)	KSSQSLLN <u>A</u> GNQKNYLT (304) KSSQSLL <u>E</u> SGNQKNYLT (305)
CDRL2	RASSRES (229)	
CDRL3	QNDYIYPYT (8)	
CDRH1	TYPIE (242)	
CDRH2	NFHPYND D TKYNEKFKG (263)	
CDRH3	RAYGYPYAMDY (289)	

Bảng D. CDR của 4F11E2 (đánh số Kabat)

CDR	Trình tự (SEQ ID NO:)	Phiên bản loại bỏ rủi ro (SEQ ID NO:)
CDRL1	RSSQSLLNSGNRKNYLT (216)	RSSQSLL <u>E</u> SGNRKNYLT (308) RSSQSLLN <u>A</u> GNRKNYLT (309)
CDRL2	WASTRES (227)	
CDRL3	QNAYSYPFT (13)	
CDRH1	TFGMH (246)	
CDRH2	YITSGNSPIYFTDTVKG (268)	YITSG <u>Q</u> SPIYFTDTVKG (310) YITSG <u>E</u> SPIYFTDTVKG (311)

CDRH3	SSYYGNSMDY (294)	SSYYG <u>Q</u> SMDY (312) SSYYG <u>E</u> SMDY (313) SSYYGN <u>A</u> MDY (314)
-------	------------------	---

Kháng thể chứa các vùng CDR này, dù là kháng thể của chuột nhắt, được làm giống như của người hoặc kháng thể khảm, có hoạt tính liên kết với claudin 18.2 và hoạt tính ức chế có hiệu lực. Như được thể hiện trong ví dụ 11 và 12, các gốc nhất định trong CDR có thể được cải biến để giữ lại hoặc cải thiện đặc tính hoặc làm giảm khả năng có cải biến sau khi dịch mã (post-translational modification - PTM). CDR được cải biến này có thể được gọi là CDR thành thực ái lực hoặc loại bỏ rủi ro.

Ví dụ không giới hạn về CDR loại bỏ rủi ro được nêu trong Bảng B-D, ở cột thứ 3. CDR thành thực ái lực có thể bao gồm CDR có một, hai hoặc ba bổ sung, mất và/hoặc thay thế axit amin. Theo một số phương án, thay thế có thể là thay thế bảo toàn.

“Thay thế axit amin bảo toàn” là thay thế trong đó gốc axit amin được thay thế bằng gốc axit amin có mạch bên tương tự. Họ của gốc axit amin có mạch bên tương tự đã được định nghĩa trong lĩnh vực kỹ thuật, bao gồm mạch bên bazơ (ví dụ, lysin, arginin, histidin), mạch bên axit (ví dụ, axit aspartic, axit glutamic), mạch bên phân cực không có điện tích (ví dụ, glyxin, asparagin, glutamin, serin, threonin, tyrosin, xystein), mạch bên không phân cực (ví dụ, alanin, valin, leuxin, isoleuxin, prolin, phenylalanin, methionin, tryptophan), mạch bên phân nhánh beta (ví dụ, threonin, valin, isoleuxin) và mạch bên thơm (ví dụ, tyrosin, phenylalanin, tryptophan, histidin). Do đó, gốc axit amin không thiết yếu trong polypeptit globulin miễn dịch tốt hơn là được thay thế bằng gốc axit amin khác từ cùng họ mạch bên. Theo một phương án khác, chuỗi axit amin có thể được thay thế bằng chuỗi tương tự về cấu trúc và khác về thứ tự và/hoặc thành phần của thành viên của họ mạch bên.

Ví dụ không giới hạn về thay thế axit amin bảo toàn được nêu trong Bảng dưới đây, ở đó điểm số độ tương tự bằng 0 hoặc cao hơn chỉ thay thế bảo toàn giữa hai axit amin.

Bảng E. Ma trận độ tương tự của axit amin

	C	G	P	S	A	T	D	E	N	Q	H	K	R	V	M	I	L	F	Y	W
W	-8	-7	-6	-2	-6	-5	-7	-7	-4	-5	-3	-3	2	-6	-4	-5	-2	0	0	17
Y	0	-5	-5	-3	-3	-3	-4	-4	-2	-4	0	-4	-5	-2	-2	-1	-1	7	10	
F	-4	-5	-5	-3	-4	-3	-6	-5	-4	-5	-2	-5	-4	-1	0	1	2	9		
L	-6	-4	-3	-3	-2	-2	-4	-3	-3	-2	-2	-3	-3	2	4	2	6			
I	-2	-3	-2	-1	-1	0	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	4	2	5				
M	-5	-3	-2	-2	-1	-1	-3	-2	0	-1	-2	0	0	2	6					
V	-2	-1	-1	-1	0	0	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	4						
R	-4	-3	0	0	-2	-1	-1	-1	0	1	2	3	6							
K	-5	-2	-1	0	-1	0	0	0	1	1	0	5								
H	-3	-2	0	-1	-1	-1	1	1	2	3	6									
Q	-5	-1	0	-1	0	-1	2	2	1	4										
N	-4	0	-1	1	0	0	2	1	2											
E	-5	0	-1	0	0	0	3	4												
D	-5	1	-1	0	0	0	4													
T	-2	0	0	1	1	3														
A	-2	1	1	1	2															
S	0	1	1	1																
P	-3	-1	6																	
G	-3	5																		
C	12																			

Bảng F. Thay thế axit amin bảo toàn

Đối với axit amin	Thay thế bằng
Alanin	D-Ala, Gly, Aib, β -Ala, L-Cys, D-Cys
Arginin	D-Arg, Lys, D-Lys, Orn D-Orn
Asparagin	D-Asn, Asp, D-Asp, Glu, D-Glu Gln, D-Gln
Axit aspartic	D-Asp, D-Asn, Asn, Glu, D-Glu, Gln, D-Gln
Xystein	D-Cys, S-Me-Cys, Met, D-Met, Thr, D-Thr, L-Ser, D-Ser
Glutamin	D-Gln, Asn, D-Asn, Glu, D-Glu, Asp, D-Asp
Axit glutamic	D-Glu, D-Asp, Asp, Asn, D-Asn, Gln, D-Gln
Glyxin	Ala, D-Ala, Pro, D-Pro, Aib, β -Ala
Isoleuxin	D-Ile, Val, D-Val, Leu, D-Leu, Met, D-Met
Leuxin	Val, D-Val, Met, D-Met, D-Ile, D-Leu, Ile
Lysin	D-Lys, Arg, D-Arg, Orn, D-Orn
Methionin	D-Met, S-Me-Cys, Ile, D-Ile, Leu, D-Leu, Val, D-Val
Phenylalanin	D-Phe, Tyr, D-Tyr, His, D-His, Trp, D-Trp
Prolin	D-Pro
Serin	D-Ser, Thr, D-Thr, allo-Thr, L-Cys, D-Cys
Threonin	D-Thr, Ser, D-Ser, allo-Thr, Met, D-Met, Val, D-Val
Tyrosin	D-Tyr, Phe, D-Phe, His, D-His, Trp, D-Trp
Valin	D-Val, Leu, D-Leu, Ile, D-Ile, Met, D-Met

Do đó, theo một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này có tính đặc hiệu liên kết với protein claudin 18.2 (CLDN18.2) của người kiểu

hoang, trong đó kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa vùng quyết định bổ sung chuỗi nhẹ CDRL1, CDRL2, và CDRL3 và vùng biến đổi chuỗi nặng chứa vùng quyết định bổ sung chuỗi nặng CDRH1, CDRH2, và CDRH3, và trong đó CDRL1, CDRL2, CDRL3, CDRH1, CDRH2, và CDRH3 được chọn từ tổ hợp 1-33 của Bảng A hoặc mỗi tổ hợp trong số các tổ hợp 1-33 này trong đó một hoặc nhiều CDRL1, CDRL2, CDRL3, CDRH1, CDRH2, và CDRH3, mỗi chúng bao gồm một, hai, hoặc ba bổ sung axit amin, mất, thay thế axit amin bảo toàn hoặc tổ hợp của chúng.

Theo một số phương án, kháng thể kháng CLDN18.2 hoặc mảnh được đề xuất là bao gồm CDRL1, CDRL2, CDRL3, CDRH1, CDRH2, và CDRH3, mỗi chúng được chọn từ Bảng A hoặc các Bảng B-D. Ví dụ, đề xuất kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này có tính đặc hiệu liên kết với protein claudin 18.2 (CLDN18.2) của người kiêu hoang, trong đó kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa vùng quyết định bổ sung chuỗi nhẹ CDRL1, CDRL2, và CDRL3 và vùng biến đổi chuỗi nặng chứa vùng quyết định bổ sung chuỗi nặng CDRH1, CDRH2, và CDRH3, và trong đó: CDRL1 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:208-226, hoặc bao gồm trình tự axit amin có nguồn gốc từ SEQ ID NO: bất kỳ trong số SEQ ID NO:208-226 bởi một, hai hoặc ba bổ sung axit amin, mất, thay thế axit amin; CDRL2 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:227-233, hoặc bao gồm trình tự axit amin có nguồn gốc từ SEQ ID NO: bất kỳ trong số SEQ ID NO:227-233 bởi bổ sung axit amin, mất, thay thế axit amin; CDRL3 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:3, 8, 13, 19 và 42-58, hoặc bao gồm trình tự axit amin có nguồn gốc từ SEQ ID NO: bất kỳ trong số SEQ ID NO: 3, 8, 13, 19 và 42-58 bởi một, hai hoặc ba bổ sung axit amin, mất, thay thế axit amin; CDRH1 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:234-254, hoặc bao gồm trình tự axit amin có nguồn gốc từ SEQ ID NO: bất kỳ trong số SEQ ID NO:234-254 bởi một, hai hoặc ba bổ sung axit amin, mất, thay thế axit amin; CDRH2 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:255-280, hoặc bao gồm trình tự axit amin có nguồn gốc từ SEQ ID NO: bất kỳ trong số SEQ ID NO:255-280 bởi một, hai hoặc ba bổ sung axit amin, mất, thay thế axit amin; và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:281-303, hoặc bao gồm trình tự axit amin có nguồn gốc từ SEQ ID NO: bất kỳ trong số SEQ ID NO:281-303 bởi một, hai hoặc ba bổ sung axit amin, mất, thay thế axit amin.

Theo một số phương án, CDRL1 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:208-226, 304-305 và 308-309; CDRL2 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:227-233; CDRL3 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:3, 8, 13, 19, 20 và 42-58; CDRH1 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:234-254; CDRH2 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:255-280, 306, 310 và 311; và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:281-303, 307, và 312-314.

Kháng thể 120B7B2 đã được chứng minh là chất ức chế claudin 18.2 có hiệu lực. Trình tự CDR của nó, cùng với một vài phiên bản loại bỏ rủi ro, được nêu trong Bảng B. Theo một phương án, sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này có tính đặc hiệu liên kết với protein claudin 18.2 (CLDN18.2) của người kiểu hoang, trong đó kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa vùng quyết định bổ sung chuỗi nhẹ CDRL1, CDRL2, và CDRL3 và vùng biến đổi chuỗi nặng chứa vùng quyết định bổ sung chuỗi nặng CDRH1, CDRH2, và CDRH3, và trong đó: CDRL1 bao gồm trình tự axit amin QSLNSGNQKNY (SEQ ID NO:1), QSLNAGNQKNY (SEQ ID NO:17) hoặc QSLLESGNQKNY (SEQ ID NO:18) hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:1, 17 hoặc 18, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin WAS (SEQ ID NO:2) hoặc trình tự axit amin có một hoặc hai thay thế axit amin từ SEQ ID NO:2, CDRL3 bao gồm trình tự axit amin CQNGYYFPFT (SEQ ID NO:3), QNAYYFPFT (SEQ ID NO:19) hoặc QEGYYFPFT (SEQ ID NO:20) hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:3, 19 hoặc 20, CDRH1 bao gồm trình tự axit amin GYTFTGYI (SEQ ID NO:4) hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:4, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin INPYNDGT (SEQ ID NO:5) hoặc INPYNDDT (SEQ ID NO:21) hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:5 hoặc 21, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin ARAYFGNSFAY (SEQ ID NO:6) hoặc ARAYFGNAFAY (SEQ ID NO:22) hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:6 hoặc 22.

Điều đáng chú ý cần lưu ý (xem Bảng A) rằng các CDR từ các kháng thể khác nhau có độ tương đồng lớn. Sau đó, được dự định rằng mỗi CDR tương ứng có thể được thay thế lẫn nhau mà không ảnh hưởng lớn đến ái lực hoặc hoạt tính liên kết của kháng

thể hoặc mảnh. Theo cách khác, mỗi axit amin cụ thể trong CDR có thể được thay thế bằng axit amin khác có trong CDR tương ứng từ kháng thể khác.

Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này được đề xuất có tính đặc hiệu liên kết với protein claudin 18.2 (CLDN18.2) của người kiểu hoang. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa vùng quyết định bổ sung chuỗi nhẹ CDRL1, CDRL2, và CDRL3 và vùng biến đổi chuỗi nặng chứa vùng quyết định bổ sung chuỗi nặng CDRH1, CDRH2, và CDRH3, và trong đó: CDRL1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:210, 304 hoặc 305 hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:210, 304 hoặc 305, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:227 hoặc trình tự axit amin có một hoặc hai thay thế axit amin từ SEQ ID NO:227, CDRL3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:3, 19 hoặc 20 hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:3, 19 hoặc 20, CDRH1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:253 hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO: 253, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:278 hoặc 306 hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:278 hoặc 306, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:303 hoặc 307 hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:303 hoặc 307.

Theo một số phương án, CDRL1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:210, 304 hoặc 305, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:227, CDRL3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:3, 19 hoặc 20, CDRH1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:253, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:278 hoặc 306, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:303 hoặc 307.

Ví dụ không giới hạn về vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:141, 192-195 và 206-207, hoặc dạng tương đương sinh học, chẳng hạn như peptit có độ đồng nhất trình tự ít nhất 90% so với trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:141, 192-195 và 206-207.

Ví dụ không giới hạn về vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:171, 188-191 và 205, hoặc dạng tương đương

sinh học, chẳng hạn như peptit có độ đồng nhất trình tự ít nhất 90% so với trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:171, 188-191 và 205.

Theo một số phương án, CDRL1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:304, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:227, CDRL3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:19, CDRH1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:253, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:306, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:307. Ví dụ không giới hạn về kháng thể hoặc mảnh chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:206 và vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:205.

Tương tự, 72C1B6A3 đã thể hiện là kháng thể tốt. Do đó, theo một phương án khác, đề xuất kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này có tính đặc hiệu liên kết với protein claudin 18.2 (CLDN18.2) của người kiểu hoang, trong đó kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa vùng quyết định bổ sung chuỗi nhẹ CDRL1, CDRL2, và CDRL3 và vùng biến đổi chuỗi nặng chứa vùng quyết định bổ sung chuỗi nặng CDRH1, CDRH2, và CDRH3, và trong đó: CDRL1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:210, 304 hoặc 305 hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:210, 304 hoặc 305, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:229 hoặc trình tự axit amin có một hoặc hai thay thế axit amin từ SEQ ID NO:229, CDRL3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:8 hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:8, CDRH1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:242 hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:242, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:263 hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:263, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:289 hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:289.

Theo một số phương án, CDRL1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:210, 304 hoặc 305, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:229, CDRL3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:8, CDRH1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:242, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:263, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:289.

Ví dụ không giới hạn về vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:124, 185-187 và 203-204, hoặc dạng tương đương sinh học, chẳng hạn như peptit có độ đồng nhất trình tự ít nhất 90% so với trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:124, 185-187 và 203-204.

Ví dụ không giới hạn về vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:153 và 181-184, hoặc dạng tương đương sinh học, chẳng hạn như peptit có độ đồng nhất trình tự ít nhất 90% so với trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:153 và 181-184.

Theo một số phương án, CDRL1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:304, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:229, CDRL3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:8, CDRH1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:242, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:263, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:289. Ví dụ không giới hạn kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:203 và vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:181.

Tương tự, 4F11E2 đã thể hiện là kháng thể tốt. Do đó, theo một phương án khác, đề xuất kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này có tính đặc hiệu liên kết với protein claudin 18.2 (CLDN18.2) của người kiểu hoang, trong đó kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa vùng quyết định bổ sung chuỗi nhẹ CDRL1, CDRL2, và CDRL3 và vùng biến đổi chuỗi nặng chứa vùng quyết định bổ sung chuỗi nặng CDRH1, CDRH2, và CDRH3, và trong đó: CDRL1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:216, 308 hoặc 309 hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:216, 308 hoặc 309, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:227 hoặc trình tự axit amin có một hoặc hai thay thế axit amin từ SEQ ID NO:227, CDRL3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:13 hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:13, CDRH1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:246 hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:246, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:268, 310 hoặc 311 hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:268, 310 hoặc 311, và CDRH3 bao gồm trình tự axit

amin nêu trong SEQ ID NO:294, 312, 313 hoặc 314, hoặc trình tự axit amin có một, hai hoặc ba thay thế axit amin từ SEQ ID NO:294, 312, 313 hoặc 314.

Theo một số phương án, CDRL1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:216, 308 hoặc 309, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:227, CDRL3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:13, CDRH1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:246, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:268, 310 hoặc 311, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:294, 312, 313 hoặc 314.

Ví dụ không giới hạn về vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:129, 178-180 và 201-202, hoặc dạng tương đương sinh học, chẳng hạn như peptit có độ đồng nhất trình tự ít nhất 90% so với trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:129, 178-180 và 201-202.

Ví dụ không giới hạn về vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:159, 175-177 và 196-200, hoặc dạng tương đương sinh học, chẳng hạn như peptit có độ đồng nhất trình tự ít nhất 90% so với trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:159, 175-177 và 196-200.

Theo một số phương án, CDRL1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:309, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:227, CDRL3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:13, CDRH1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:246, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:311, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:294. Ví dụ không giới hạn về kháng thể hoặc mảnh chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:202 và vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:197.

Theo một số phương án, kháng thể là kháng thể được làm giống như của người. Kháng thể được làm giống như của người, như được thể hiện trong ví dụ 9, có thể bao gồm một hoặc nhiều đột biến ngược so với bản đối chiếu của chuột nhắt. Ví dụ về đột biến ngược như vậy được thể hiện trong Bảng 3. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh có thể bao gồm một, hai, ba, bốn, năm hoặc nhiều hơn năm đột biến ngược.

Theo một số phương án, kháng thể kháng claudin 18.2 theo sáng chế bao gồm VL của SEQ ID NO: bất kỳ trong số SEQ ID NO: 117-144, 178-180, 185-187, 192-195,

201-202, 203-204 hoặc 206-207, và VH của SEQ ID NO: bất kỳ trong số SEQ ID NO: 145-174, 175-177, 181-184, 188-191, 196-200, hoặc 205 hoặc dạng tương đương sinh học tương ứng của chúng. Dạng tương đương sinh học của VH hoặc VL là trình tự bao gồm axit amin được chỉ định trong khi có độ đồng nhất trình tự tổng thể 80%, 85%, 90%, 95%, 98% hoặc 99%. Do đó, dạng tương đương sinh học của SEQ ID NO:145 có thể là VH mà có độ đồng nhất trình tự tổng thể 80%, 85%, 90%, 95%, 98% hoặc 99% với SEQ ID NO:145 nhưng giữ lại được CDR, và tùy ý giữ lại một hoặc nhiều, hoặc tất cả các đột biến ngược.

Cũng được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật rằng kháng thể như được bộc lộ trong bản mô tả có thể được cải biến sao cho chúng thay đổi về trình tự axit amin so với polypeptit liên kết xuất hiện trong tự nhiên mà chúng có nguồn gốc từ đó. Ví dụ, trình tự polypeptit hoặc axit amin có nguồn gốc từ protein được chỉ định có thể tương tự, ví dụ, có phần trăm độ đồng nhất nhất định với trình tự khởi đầu, ví dụ, có thể đồng nhất 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, hoặc 99% với trình tự khởi đầu.

Theo các phương án cụ thể, kháng thể bao gồm trình tự axit amin hoặc một hoặc nhiều gốc không thường liên quan đến kháng thể. Ví dụ về sự cải biến được mô tả chi tiết hơn dưới đây. Ví dụ, kháng thể theo sáng chế có thể bao gồm trình tự thành phần liên kết linh hoạt, hoặc có thể được cải biến để bổ sung gốc chức năng (ví dụ, PEG, được chất, độc tố, hoặc chất đánh dấu).

Kháng thể, biến thể, hoặc dẫn xuất của chúng theo sáng chế bao gồm dẫn xuất mà được cải biến, tức là, bởi việc gắn cộng hóa trị của loại phân tử bất kỳ với kháng thể sao cho việc gắn cộng hóa trị này không ngăn kháng thể liên kết với epitop. Ví dụ, nhưng không làm giới hạn, kháng thể có thể được cải biến, ví dụ, bằng cách glycosyl hóa, axetyl hóa, PEG hóa, phosphoryl hóa, phosphoryl hóa, amit hóa, tạo dẫn xuất bởi nhóm bảo vệ/làm trở ngại đã biết, cắt phân giải protein, liên kết với phối tử tế bào hoặc protein khác, v.v.. Bất kỳ trong số nhiều cải biến hóa học có thể được tiến hành bằng kỹ thuật đã biết, bao gồm, nhưng không giới hạn ở cắt hóa học đặc hiệu, axetyl hóa, formyl hóa, tổng hợp chuyển hóa của tunicamycin, v.v.. Ngoài ra, kháng thể có thể chứa một hoặc nhiều axit amin không cổ điển.

Thế liên hợp kháng thể-dược chất

Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh có thể được liên hợp với chất trị liệu, tiền dược chất, peptit, protein, enzym, virut, lipit, chất cải biến đáp ứng sinh học, chất dược, hoặc PEG.

Theo một phương án, kháng thể hoặc mảnh theo sáng chế được gắn cộng hóa trị với gốc dược chất. Gốc dược chất có thể là, hoặc được cải biến để bao gồm, nhóm phản ứng với điểm liên hợp trên kháng thể. Ví dụ, gốc dược chất có thể được gắn bằng cách alkyl hóa (ví dụ, ở nhóm epsilon-amino của lysin hoặc đầu cùng N của kháng thể), amin hóa khử hydrat cacbon được oxy hóa, chuyển hóa este giữa nhóm hydroxyl và carboxyl, amit hóa ở nhóm amino hoặc nhóm carboxyl, và liên hợp với thiol.

Theo một số phương án, số lượng gốc dược chất, p, được liên hợp trên mỗi phân tử kháng thể nằm trong khoảng từ trung bình là từ 1 đến 8; từ 1 đến 7, từ 1 đến 6, từ 1 đến 5, từ 1 đến 4, từ 1 đến 3, hoặc từ 1 đến 2. Theo một số phương án, p nằm trong khoảng trung bình là từ 2 đến 8, từ 2 đến 7, từ 2 đến 6, từ 2 đến 5, từ 2 đến 4 hoặc từ 2 đến 3. Theo các phương án khác, p là trung bình 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 hoặc 8. Theo một số phương án, p nằm trong khoảng từ trung bình là từ khoảng 1 đến khoảng 20, từ khoảng 1 đến khoảng 10, từ khoảng 2 đến khoảng 10, từ khoảng 2 đến khoảng 9, từ khoảng 1 đến khoảng 8, từ khoảng 1 đến khoảng 7, từ khoảng 1 đến khoảng 6, từ khoảng 1 đến khoảng 5, từ khoảng 1 đến khoảng 4, từ khoảng 1 đến khoảng 3, hoặc từ khoảng 1 đến khoảng 2. Theo một số phương án, p nằm trong khoảng từ khoảng 2 đến khoảng 8, từ khoảng 2 đến khoảng 7, từ khoảng 2 đến khoảng 6, từ khoảng 2 đến khoảng 5, từ khoảng 2 đến khoảng 4 hoặc từ khoảng 2 đến khoảng 3.

Ví dụ, khi sự hoạt hóa hóa học của protein dẫn đến sự tạo thành nhóm thiol tự do, protein có thể được liên hợp với chất phản ứng sulfhydryl. Theo một khía cạnh, chất này là chất về cơ bản là đặc hiệu đối với nhóm thiol tự do. Các chất như vậy bao gồm, ví dụ, malemit, haloaxetamit (ví dụ, iodo, bromo hoặc clo), haloeste (ví dụ, iodo, bromo hoặc clo), halometyl keton (ví dụ, iodo, bromo hoặc clo), benzylic halogenua (ví dụ, iodua, bromua hoặc clorua), vinyl sulfon và pyridylthio.

Dược chất có thể được liên kết với kháng thể hoặc mảnh bởi thành phần liên kết. Các thành phần liên kết thích hợp bao gồm, ví dụ, các thành phần liên kết cắt được và không cắt được. Thành phần liên kết cắt được thường dễ được cắt trong điều kiện trong

tế bào. Thành phần liên kết cắt được thích hợp bao gồm, ví dụ, thành phần liên kết peptit cắt được bởi proteaza trong tế bào, chẳng hạn như proteaza của lysosom hoặc proteaza của endosom. Theo các phương án làm ví dụ, thành phần liên kết có thể là thành phần liên kết dipeptit, chẳng hạn như thành phần liên kết valin-xitruin (val-cit), phenylalanin-lysine (phe-lys), hoặc thành phần liên kết maleimidocapronic-valin-xitruin-p-aminobenzyloxycarbonyl (mc-Val-Cit-PABA). Thành phần liên kết khác là Sulfosuxinimidyl-4-[N-maleimidometyl]xyclohexan-1-carboxylat (smcc). Sự liên hợp Sulfo-smcc xảy ra thông qua nhóm maleimit mà phản ứng với sulfhydryl (thiol, —SH), trong khi este Sulfo-NHS của nó có tính phản ứng hướng về amin bậc một (như được tìm thấy ở lysine và đầu cùng N protein hoặc peptit). Thành phần liên kết khác là maleimidocaproyl (mc). Các thành phần liên kết thích hợp khác bao gồm thành phần liên kết có thể thủy phân được ở độ pH hoặc khoảng độ pH cụ thể, chẳng hạn như thành phần liên kết hydrazon. Thành phần liên kết cắt thích hợp khác bao gồm thành phần liên kết disulfua. Thành phần liên kết này có thể được liên kết cộng hóa trị với kháng thể ở mức độ mà kháng thể cần phải được thoái biến trong tế bào để cho được chất được giải phóng, ví dụ, thành phần liên kết mc và thành phần liên kết tương tự.

Thành phần liên kết có thể bao gồm nhóm để liên kết với kháng thể. Ví dụ, thành phần liên kết có thể bao gồm nhóm phản ứng amino, hydroxyl, carboxyl hoặc sulfhydryl (ví dụ, malemit, haloaxetamit (ví dụ, iodo, bromo hoặc clo), haloeste (ví dụ, iodo, bromo hoặc clo), halometyl keton (ví dụ, iodo, bromo hoặc clo), benzylic halogenua (ví dụ, iodua, bromua hoặc clorua), vinyl sulfon và pyridylthio).

Theo một số phương án, gốc được chất là chất gây độc tế bào hoặc kìm hãm tế bào, chất ức chế miễn dịch, chất đồng vị phóng xạ, độc tố hoặc chất tương tự. Thử liên hợp có thể được sử dụng để ức chế sự nhân lên của tế bào khối u hoặc tế bào ung thư, gây ra chết theo chương trình ở tế bào khối u hoặc tế bào ung thư, hoặc để điều trị bệnh ung thư ở bệnh nhân. Thử liên hợp có thể được sử dụng theo đó với nhiều thiết lập để điều trị bệnh ung thư ở động vật. Thử liên hợp có thể được sử dụng để phân phối được chất vào tế bào khối u hoặc tế bào ung thư. Không bị ràng buộc bởi lý thuyết, theo một số phương án, thử liên hợp liên kết với hoặc kết hợp với tế bào ung thư biểu hiện claudin 18.2, và thử liên hợp và/hoặc được chất có thể được hấp thụ bên trong tế bào khối u hoặc tế bào ung thư qua sự nhập nội bào qua trung gian thụ thể.

Khi ở trong tế bào, một hoặc nhiều trình tự peptit cụ thể trong thể liên hợp (ví dụ, trong thành phần liên kết) được cắt theo cách thủy phân bởi một hoặc nhiều proteaza liên quan đến tế bào khối u hoặc tế bào ung thư, dẫn đến giải phóng dược chất. Dược chất được giải phóng sau đó tự do di chuyển trong tế bào và cảm ứng hoạt tính gây độc tế bào hoặc kìm hãm tế bào hoặc các hoạt tính khác. Theo một số phương án, dược chất được cắt từ kháng thể bên ngoài tế bào khối u hoặc tế bào ung thư, và dược chất sau đó thâm nhập vào tế bào, hoặc hoạt động ở bề mặt tế bào.

Ví dụ về gốc dược chất hoặc trọng tải được chọn từ nhóm bao gồm DM1 (maytansin, N2'-deaxetyl-N2'-(3-mercapto-1-oxopropyl)- hoặc N2'-deaxetyl-N2'-(3-mercapto-1-oxopropyl)-maytansin), mc-MMAD (6-maleimidocaproyl-monomethylauristatin-D hoặc N-metyl-L-valyl-N-[(1S,2R)-2-metoxo-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxo-2-metyl-3-oxo-3-[(1S)-2-phenyl-1-(2-thiazolyl)etyl]amino]propyl]-1-pyrrolidinyl]-1-[(1S)-1-metylpropyl]-4-oxobutyl]-N-metyl-(9Cl)-L-valinamit), mc-MMAF (maleimidocaproyl-monomethylauristatin F hoặc N-[6-(2,5-dihydro-2,5-dioxo-1H-pyrol-1-yl)-1-oxohexyl]-N-metyl-L-valyl-L-valyl-(3R,4S,5S)-3-metoxo-5-metyl-4-(methylamino)heptanoyl-(α R, β R,2S)- β -metoxo- α -metyl-2-pyrrolidinopropanoyl-L-phenylalanin) và mc-Val-Cit-PABA-MMAE (6-maleimidocaproyl-ValcCit-(p-aminobenzyloxycarbonyl)-monomethylauristatin E hoặc N-[[[4-[[N-[6-(2,5-dihydro-2,5-dioxo-1H-pyrol-1-yl)-1-oxohexyl]-L-valyl-N5-(aminocarbonyl)-L-ornithyl]amino]phenyl]metoxo]carbonyl]-N-metyl-L-valyl-N-[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1R,2S)-2-hydroxy-1-metyl-2-phenyletyl]amino]-1-metoxo-2-metyl-3-oxopropyl]-1-pyrrolidinyl]-2-metoxo-1-[(1S)-1-metylpropyl]-4-oxobutyl]-N-metyl-L-valinamit). DM1 là dẫn xuất của chất ức chế hạt ông maytansin trong khi MMAD, MMAE, và MMAF là dẫn xuất auristatin. Theo một số phương án, gốc dược chất được chọn từ nhóm bao gồm mc-MMAF và mc-Val-Cit-PABA-MMAE. Theo một số phương án, gốc dược chất là maytansinoid hoặc auristatin.

Kháng thể hoặc mảnh có thể được liên hợp hoặc dung hợp với chất trị liệu, có thể bao gồm chất đánh dấu phát hiện được chẳng hạn như chất đánh dấu phóng xạ, chất điều biến miễn dịch, hormon, enzym, oligonucleotit, chất trị liệu và chẩn đoán quang hoạt, chất gây độc tế bào, mà có thể là dược chất hoặc độc tố, chất tăng cường siêu âm, chất đánh dấu không phóng xạ, tổ hợp của chúng và các chất khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

Kháng thể có thể được đánh dấu phát hiện được bằng cách ghép nối kháng thể này với hợp chất phát quang hóa học. Sự có mặt của polypeptit liên kết kháng nguyên gắn đuôi chất phát quang hóa học sau đó được xác định bằng cách phát hiện sự có mặt của phát quang xuất hiện trong quá trình phản ứng hóa học. Ví dụ về hợp chất đánh dấu phát quang hóa học đặc biệt hữu ích là luminol, isoluminol, theromatic acridini este, imidazol, muối acridini và oxalat este.

Kháng thể cũng có thể được đánh dấu phát hiện được bằng cách sử dụng kim loại phát huỳnh quang chẳng hạn như ^{152}Eu , hoặc các chất thuộc dãy lantanoid. Các kim loại này có thể được gắn với kháng thể bằng cách sử dụng nhóm tạo chelat kim loại như axit diethylentriaminpentaxetic (DTPA) hoặc axit etylendiamintetraaxetic (EDTA). Các kỹ thuật để liên hợp các gốc với kháng thể là đã biết, xem, ví dụ, Arnon *et al.*, “Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy”, trong *Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy*, Reisfeld *et al.* (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. (1985); Hellstrom *et al.*, “Antibodies For Drug Delivery”, trong *Controlled Drug Delivery* (2nd Ed.), Robinson *et al.*, (eds.), Marcel Dekker, Inc., pp. 623- 53 (1987); Thorpe, “Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review”, trong *Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications*, Pinchera *et al.* (eds.), pp. 475-506 (1985); “Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy”, trong *Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy*, Baldwin *et al.* (eds.), Academic Press pp. 303-16 (1985), và Thorpe *et al.*, “The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates”, *Immunol. Rev.* (52:119-58 (1982)).

Polynucleotit mã hóa kháng thể và phương pháp tạo ra kháng thể

Sáng chế còn đề cập đến phân tử polynucleotit hoặc axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể, biến thể hoặc dẫn xuất của chúng theo sáng chế. Polynucleotit theo sáng chế có thể mã hóa toàn bộ vùng biến đổi chuỗi nặng và nhẹ của polypeptit liên kết kháng nguyên, biến thể hoặc dẫn xuất của chúng trên cùng phân tử polynucleotit hoặc trên các phân tử polynucleotit riêng biệt. Ngoài ra, polynucleotit theo sáng chế có thể mã hóa phần của vùng biến đổi chuỗi nặng và nhẹ của polypeptit liên kết kháng nguyên, biến thể hoặc dẫn xuất của chúng trên cùng phân tử polynucleotit hoặc trên các phân tử polynucleotit riêng biệt.

Phương pháp tạo ra kháng thể là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật và được mô tả trong bản mô tả. Theo các phương án cụ thể, cả vùng biến đổi và hằng định của polypeptit liên kết kháng nguyên theo sáng chế là của người đầy đủ. Kháng thể của người đầy đủ có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các kỹ thuật được mô tả trong lĩnh vực kỹ thuật và như được mô tả trong bản mô tả. Ví dụ, kháng thể của người đầy đủ kháng kháng nguyên cụ thể có thể được tạo ra bằng cách dùng kháng nguyên cho động vật chuyển gen mà đã được cải biến để tạo ra kháng thể như vậy để đáp ứng với thách thức kháng nguyên, nhưng locus nội sinh của nó đã được bất hoạt. Kỹ thuật làm ví dụ có thể được sử dụng để tạo ra kháng thể như vậy được mô tả trong các patent US: 6,150,584; 6,458,592; 6,420,140 mà được đưa vào bản mô tả bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Phương pháp điều trị

Như được mô tả trong bản mô tả, kháng thể, biến thể, dẫn xuất hoặc thể liên hợp kháng thể-được chất theo sáng chế có thể được sử dụng trong phương pháp điều trị và chẩn đoán nhất định.

Sáng chế còn đề cập đến liệu pháp dựa trên kháng thể bao gồm bước dùng kháng thể, mảnh, hoặc thể liên hợp kháng thể-được chất theo sáng chế cho bệnh nhân chẳng hạn như động vật, động vật có vú, và người để điều trị một hoặc nhiều rối loạn hoặc tình trạng bệnh được mô tả trong bản mô tả. Hợp chất trị liệu theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, kháng thể theo sáng chế (bao gồm biến thể và dẫn xuất của chúng như được mô tả trong bản mô tả) và axit nucleic hoặc polynucleotit mã hóa kháng thể theo sáng chế (bao gồm biến thể và dẫn xuất của chúng như được mô tả trong bản mô tả).

Kháng thể theo sáng chế cũng có thể được sử dụng để điều trị hoặc ức chế bệnh ung thư. Như được đề cập ở trên, claudin 18.2 có thể được biểu hiện quá mức ở tế bào khối u, cụ thể là khối u dạ dày, tụy, thực quản, buồng trứng, và phổi. Việc ức chế claudin 18.2 đã thể hiện là hữu ích trong việc điều trị khối u.

Theo đó, theo một số phương án, đề cập đến phương pháp điều trị bệnh ung thư ở bệnh nhân cần điều trị. Theo một phương án, phương pháp này đòi hỏi bước cho bệnh nhân dùng lượng hữu hiệu của kháng thể, mảnh, hoặc thể liên hợp kháng thể-được chất theo sáng chế. Theo một số phương án, ít nhất một trong số các tế bào ung thư (ví dụ, tế bào nền) ở bệnh nhân biểu hiện quá mức claudin 18.2.

Sáng chế cũng đề cập đến liệu pháp tế bào, chẳng hạn như liệu pháp tế bào T thụ thể kháng nguyên khảm (chimeric antigen receptor - CAR). Tế bào thích hợp có thể được sử dụng, được cho tiếp xúc với kháng thể kháng claudin 18.2 theo sáng chế (hoặc theo cách khác được thiết kế để biểu hiện kháng thể kháng claudin 18.2 theo sáng chế). Lúc tiếp xúc hoặc thiết kế như vậy, tế bào sau đó có thể được đưa vào bệnh nhân ung thư cần điều trị. Bệnh nhân ung thư có thể mắc bệnh ung thư thuộc các loại như được bộc lộ trong bản mô tả. Tế bào (ví dụ, tế bào T) có thể, ví dụ, là lympho bào T thâm nhiễm khối u, tế bào T CD4+, tế bào T CD8+, hoặc tổ hợp của chúng, mà không giới hạn ở đó.

Theo một số phương án, tế bào được phân lập từ chính bệnh nhân ung thư đó. Theo một số phương án, tế bào được cung cấp bởi người cho hoặc từ ngân hàng tế bào. Khi tế bào được phân lập từ bệnh nhân ung thư, phản ứng miễn dịch không mong muốn có thể được giảm thiểu.

Ví dụ không giới hạn về bệnh ung thư bao gồm bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư ruột kết-trực tràng, bệnh ung thư màng trong tử cung, bệnh ung thư thực quản, bệnh ung thư đầu và cổ, bệnh ung thư thận, bệnh bạch cầu, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư phổi, bệnh u lympho, u hắc sắc tố, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, và bệnh ung thư tuyến giáp. Theo một số phương án, bệnh ung thư là một hoặc nhiều bệnh trong số bệnh ung thư dạ dày, tụy, thực quản, buồng trứng, và phổi.

Các bệnh hoặc tình trạng bệnh khác liên quan đến sự tăng khả năng sống sót của tế bào, mà có thể được điều trị, ngăn ngừa, chẩn đoán và/hoặc tiên lượng bằng kháng thể hoặc biến thể, hoặc dẫn xuất của chúng theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, sự tiến triển, và/hoặc di căn ác tính và các rối loạn liên quan chẳng hạn như bệnh bạch cầu (bao gồm bệnh bạch cầu cấp tính (ví dụ, bệnh bạch cầu lympho bào cấp tính, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính (bao gồm nguyên tủy bào, tiền tủy bào, tủy đơn nhân, đơn nhân, và tăng sinh nguyên hồng cầu nguyên tủy bào)) và bệnh bạch cầu mạn tính (ví dụ, bệnh bạch cầu tủy bào (bạch cầu hạt) mạn tính và bệnh bạch cầu lympho bào mạn tính)), bệnh tăng hồng cầu vô căn, bệnh u lympho (ví dụ, bệnh Hodgkin và bệnh không Hodgkin), bệnh đa u tủy, macroglobulin huyết Waldenstrom, bệnh chuỗi nặng, và khối u rắn bao gồm, nhưng không giới hạn ở, sacom và caxinom chẳng hạn như sacom sợi, sacom niêm, sacom mỡ, sacom sụn, sacom sinh xương, u nguyên sống, sacom mạch, sacom nội mô, sacom bạch huyết, sacom nội mô bạch huyết, u màng hoạt

dịch, u trung biểu mô, khối u Ewing, sacom cơ trơn, sacom cơ vân, sacom ruột kết, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, caxinom tế bào vảy, caxinom tế bào nền, ung thư tuyến, caxinom tuyến mồ hôi, caxinom tuyến bã nhờn, caxinom thể nhú, ung thư tuyến thể nhú, caxinom u tuyến, caxinom dạng tủy, caxinom bắt đầu từ phế quản, caxinom tế bào thận, bệnh u gan, caxinom ống mật, ung thư rau, u tinh seminom, caxinom phôi, khối u Wilm, bệnh ung thư cổ tử cung, khối u tinh hoàn, caxinom phôi, caxinom tế bào nhỏ, caxinom bàng quang, caxinom biểu mô, bệnh u thần kinh đệm, bệnh u tế bào hình sao, bệnh u nguyên thủy bào, u sọ hầu, u tế bào màng não thất, u tuyến tủy, u nguyên bào mạch máu, bệnh ung thư dây thần kinh thính giác, bệnh u thần kinh đệm ít nhánh, u màng não, u hắc sắc tố, u nguyên bào thần kinh và u nguyên bào võng mạc.

Liều lượng và phác đồ điều trị cụ thể đối với bệnh nhân cụ thể bất kỳ sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm kháng thể cụ thể, biến thể hoặc dẫn xuất của chúng được sử dụng, tuổi của bệnh nhân, trọng lượng cơ thể, tình trạng sức khỏe chung, giới tính, và chế độ ăn, và thời gian dùng, tốc độ bài tiết, kết hợp thuốc, và mức độ nặng của bệnh cụ thể cần điều trị. Việc điều chỉnh các yếu tố này bởi người chăm sóc y tế nằm trong hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Lượng còn phụ thuộc vào bệnh nhân cụ thể cần điều trị, đường dùng, dạng bào chế, đặc điểm của hợp chất được sử dụng, mức độ nặng của bệnh, và tác dụng mong muốn. Lượng được sử dụng có thể được xác định bằng các nguyên lý dược học và dược động học đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật.

Phương pháp dùng kháng thể, mảnh, hoặc thể liên hợp kháng thể-dược chất bao gồm, nhưng không giới hạn ở, đường dùng trong da, trong cơ, trong màng bụng, trong tĩnh mạch, dưới da, trong mũi, ngoài màng cứng, và qua đường miệng. Polypeptit liên kết kháng nguyên hoặc chế phẩm có thể được dùng bằng đường dùng thích hợp bất kỳ, ví dụ bằng cách tiêm truyền hoặc tiêm viên liều lớn, bằng cách hấp thụ qua màng biểu mô hoặc có da-màng nhầy (ví dụ, niêm mạc miệng, và niêm mạc ruột và ruột thẳng, v.v.) và có thể được dùng cùng với chất có hoạt tính sinh học khác. Do đó, dược phẩm chứa polypeptit liên kết kháng nguyên theo sáng chế có thể được dùng qua đường miệng, qua ruột thẳng, ngoài đường tiêu hóa, trong bề, trong âm đạo, trong màng bụng, tại chỗ (bằng bột, thuốc mỡ, thuốc nhỏ giọt hoặc miếng dán qua da), đường miệng, hoặc dưới dạng phun qua đường miệng hoặc mũi.

Thuật ngữ “ngoài đường tiêu hóa” như được sử dụng trong bản mô tả chỉ phương thức dùng bao gồm tiêm và tiêm truyền trong tĩnh mạch, trong cơ, trong màng bụng, trong xương ức, dưới da và trong khớp.

Việc dùng có thể dùng toàn thân hoặc khu trú. Ngoài ra, mong muốn là đưa kháng thể theo sáng chế vào hệ thần kinh trung ương bằng đường dùng thích hợp bất kỳ, bao gồm tiêm trong não thất và trong vỏ; tiêm trong não thất có thể được hỗ trợ bởi ống thông đường tiểu trong não thất, ví dụ, được gắn với nguồn lưu trữ, chẳng hạn như nguồn lưu trữ Ommaya. Cũng có thể dùng qua phổi, ví dụ, bằng cách sử dụng thiết bị xông hít hoặc thiết bị khí dung, và dạng bào chế với tạo chất khí dung.

Có thể mong muốn dùng polypeptit liên kết kháng nguyên hoặc chế phẩm theo sáng chế theo cách khu trú vào vùng cần điều trị; việc này có thể đạt được bằng cách, ví dụ, và không giới hạn ở, tiêm truyền khu trú trong khi phẫu thuật, dùng tại chỗ, ví dụ, kết hợp với băng bó vết thương sau khi phẫu thuật, bằng cách tiêm, bằng cách dùng ống thông đường tiểu, bằng cách dùng thuốc đạn, hoặc bằng cách cấy ghép, vật cấy ghép này có thể là vật liệu xốp, không xốp, hoặc gelatin, bao gồm màng chẳng hạn như màng hoặc sợi sialastic. Tốt hơn là, khi dùng protein, bao gồm kháng thể, theo sáng chế, cần cẩn thận trong việc sử dụng vật liệu mà protein không hấp thụ được.

Lượng kháng thể, mảnh, hoặc thể liên hợp kháng thể-dược chất theo sáng chế có hiệu quả trong việc điều trị, ức chế và ngăn ngừa bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh viêm, miễn dịch hoặc ác tính có thể được xác định bằng các kỹ thuật lâm sàng tiêu chuẩn. Ngoài ra, thử nghiệm *in vitro* có thể tùy ý được dùng để giúp xác định khoảng liều lượng tối ưu. Liều chính xác cần dùng trong bào chế cũng sẽ phụ thuộc vào đường dùng, và độ nghiêm trọng của bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh, và nên được quyết định theo đánh giá của bác sĩ và tình trạng của mỗi bệnh nhân. Liều hữu hiệu có thể được ngoại suy từ đường cong liều-đáp ứng thu được từ hệ thử nghiệm mô hình động vật hoặc hệ thử nghiệm *in vitro*.

Là đề xuất chung, liều lượng kháng thể, mảnh, hoặc thể liên hợp kháng thể-dược chất theo sáng chế được dùng cho bệnh nhân thường nằm trong khoảng từ 0,1 mg/kg đến 100 mg/kg trọng lượng cơ thể của bệnh nhân, từ 0,1 mg/kg đến 20 mg/kg trọng lượng cơ thể của bệnh nhân, hoặc từ 1 mg/kg đến 10 mg/kg trọng lượng cơ thể của bệnh nhân. Thông thường, kháng thể của người có thời gian bán hủy trong cơ thể người dài

hơn so với kháng thể từ loài khác do đáp ứng miễn dịch đối với polypeptit ngoại lai. Do đó, thường có thể dùng liều thấp hơn kháng thể của người và dùng ít thường xuyên hơn. Ngoài ra, liều lượng và tần suất dùng kháng thể theo sáng chế có thể được giảm đi bằng cách tăng cường sự hấp thu và thâm nhập mô (ví dụ, vào trong não) của kháng thể bằng các cải biến chẳng hạn như, ví dụ, lipit hóa.

Theo một phương án khác, chế phẩm theo sáng chế được dùng kết hợp với xytokin. Xytokin có thể được dùng với chế phẩm theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, kháng CD40, CD40L, và TNF- α .

Theo các phương án khác, chế phẩm theo sáng chế được dùng kết hợp với phác đồ điều trị hoặc phòng ngừa khác, chẳng hạn như, ví dụ, xạ trị.

Chế phẩm

Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm. Chế phẩm này chứa lượng hữu hiệu của kháng thể, mảnh, hoặc thể liên hợp kháng thể-dược chất, và chất mang chấp nhận được. Theo một số phương án, chế phẩm này còn bao gồm chất chống ung thư thứ hai (ví dụ, chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch).

Theo một phương án cụ thể, thuật ngữ “dược dụng” có nghĩa là đã được phê chuẩn bởi cơ quan quản lý của liên bang hoặc chính phủ quốc gia hoặc được liệt kê trong dược điển Mỹ hoặc dược điển thường dùng khác để sử dụng ở động vật, và cụ thể hơn là ở người. Ngoài ra, “chất mang dược dụng” thường là chất độn, chất pha loãng, vật liệu kết nang hoặc chất phụ trợ bào chế thuộc loại bất kỳ dạng rắn, bán rắn hoặc lỏng, không độc.

Thuật ngữ “chất mang” chỉ chất pha loãng, chất bổ trợ, tá dược, hoặc chất dẫn thuốc mà chất điều trị được dùng cùng. Chất mang dược này có thể là chất lỏng vô trùng, chẳng hạn như nước và dầu, bao gồm dầu mỡ, dầu động vật, dầu thực vật hoặc có nguồn gốc tổng hợp, chẳng hạn như dầu lạc, dầu đậu nành, dầu khoáng, dầu vừng hoặc tương tự. Nước là chất mang ưu tiên khi dược phẩm được dùng trong tĩnh mạch. Dung dịch nước muối và dung dịch dextroza và glyxerol trong nước cũng có thể được dùng làm chất mang dạng lỏng, cụ thể là dung dịch tiêm được. Tá dược được lý thích hợp bao gồm tinh bột, glucoza, lactoza, sucroza, gelatin, mạch nha, gạo, bột mì, đá phấn, silica gel, natri stearat, glyxerol monostearat, talc, natri clorua, sữa tách béo dạng khô,

glyxerol, propylen, glycol, nước, etanol và chất tương tự. Chế phẩm, nếu muốn, cũng có thể chứa lượng nhỏ chất làm uớt hoặc chất nhũ hóa, chất đệm pH chẳng hạn như axetat, xitrat hoặc phosphat. Chất kháng khuẩn chẳng hạn như rượu benzylic hoặc metyl paraben; chất chống oxy hóa chẳng hạn như axit ascorbic hoặc natri bisulfit; chất tạo chelat chẳng hạn như axit etylendiamintetraaxetic; và chất điều chỉnh tính tương chẳng hạn như natri clorua hoặc dextroza cũng được dự kiến. Chế phẩm này có thể ở dạng dung dịch, hỗn dịch, nhũ tương, viên nén, viên tròn, viên nang, bột, dạng bào chế giải phóng kéo dài và dạng tương tự. Chế phẩm có thể được bào chế dưới dạng thuốc đạn, với chất kết dính và chất mang truyền thống chẳng hạn như triglyxerit. Dạng bào chế qua đường miệng có thể bao gồm chất mang tiêu chuẩn chẳng hạn như loại dùng cho dược phẩm như manitol, lactoza, tinh bột, magie stearat, natri sacarin, xenluloza, magie cacbonat, v.v.. Ví dụ về chất mang được thích hợp được mô tả trong Remington's Pharmaceutical Sciences bởi E. W. Martin, được đưa vào bản mô tả bằng cách viện dẫn. Chế phẩm này chứa lượng có hiệu quả điều trị của polypeptit liên kết kháng nguyên, tốt hơn là ở dạng tinh chế, cùng với lượng chất mang thích hợp để tạo ra dạng dùng thích hợp cho bệnh nhân. Dạng bào chế nên phù hợp với cách thức dùng. Chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa có thể kèm theo ống thuốc tiêm, xy lanh dùng một lần hoặc lọ nhiều liều làm từ thủy tinh hoặc nhựa.

Theo một phương án, chế phẩm được bào chế theo quy trình thường quy dưới dạng dược phẩm thích hợp cho việc dùng trong tĩnh mạch cho người. Thông thường, chế phẩm để dùng trong tĩnh mạch là dung dịch trong đệm chứa nước đẳng trương vô trùng. Khi cần thiết, chế phẩm cũng có thể bao gồm chất làm ổn định và thuốc gây mê khu trú chẳng hạn như lignocain để làm giảm đau ở vị trí tiêm. Thông thường, các thành phần được cung cấp hoặc tách riêng hoặc được kết hợp cùng nhau trong dạng liều đơn vị, ví dụ, dưới dạng bột đông khô dạng khô hoặc chất cô không chứa nước trong vật chứa được đóng kín chẳng hạn như ống thuốc tiêm hoặc thuốc bột đóng gói chỉ rõ lượng chất hoạt tính. Khi chế phẩm được dùng bằng cách tiêm truyền, nó có thể được phân phối trong chai tiêm truyền chứa nước hoặc nước muối loại được lý vô trùng. Khi chế phẩm được dùng bằng cách tiêm, ống thuốc chứa nước vô trùng để tiêm hoặc nước muối có thể được cung cấp để cho các thành phần có thể được trộn trước khi dùng.

Hợp chất theo sáng chế có thể được bào chế dưới dạng trung tính hoặc muối. Muối được dùng bao gồm các muối được tạo thành với anion chẳng hạn như anion có

nguồn gốc từ axit clohydric, phosphoric, axetic, oxalic, tartaric, v.v., và các muối được tạo thành với cation chẳng hạn như cation có nguồn gốc từ natri, kali, amoni, canxi, sắt (III) hydroxit, isopropylamin, trietylamin, 2-etylamin ethanol, histidin, procain, v.v..

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Tạo ra kháng thể đơn dòng của chuột kháng claudin 18 thể đồng dạng 2 (CLD 18A2) của người

a. Gây miễn dịch:

Chuột nhắt Balb/c và C57/BL6 được gây miễn dịch bằng vector biểu hiện nhân thực, mã hóa mảnh claudin 18.2 (CLD 18A2) của người. 50 µg ADN plasmit được tiêm vào cơ bốn đầu đùi (trong cơ) vào ngày 1 và 10. Sự có mặt của kháng thể hướng đến kháng CLD 18A2 của người trong huyết thanh của chuột nhắt được theo dõi vào ngày 20 bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy, sử dụng tế bào HEK293 được chuyển nhiễm tạm thời axit nucleic mã hóa CLD 18A2 của người. Chuột nhắt có đáp ứng miễn dịch có thể phát hiện được (FIG. 1) được tiêm thêm ba và hai ngày trước khi dung hợp bằng cách tiêm trong màng bụng 5×10^7 tế bào HEK293 được chuyển nhiễm tạm thời axit nucleic mã hóa CLD 18A2 của người.

b. Tạo ra tế bào lai sản sinh kháng thể đơn dòng của người kháng CLD18A2:

Tế bào lách của chuột nhắt được phân lập và dung hợp bằng PEG với dòng tế bào u tủy chuột nhắt dựa trên quy trình tiêu chuẩn. Tế bào lai tạo thành sau đó được sàng lọc để tạo ra globulin miễn dịch có tính đặc hiệu với CLD 18A2 bằng cách sử dụng tế bào HEK293 được chuyển nhiễm axit nucleic mã hóa CLD18 của người bằng kỹ thuật ELISA tế bào.

Huyền phù tế bào đơn của lympho bào lách từ chuột nhắt đã gây miễn dịch được dung hợp với tế bào u tủy của chuột nhắt không tiết P3X63Ag8U.1 (ATCC, CRL 1597) theo tỷ lệ 2:1 nhờ sử dụng PEG 50% (Roche Diagnostics, CRL 738641). Tế bào được gieo ở xấp xỉ 3×10^4 /giếng trong đĩa vi thể đáy phẳng, sau đó ủ khoảng hai tuần trong môi trường nuôi cấy chọn lọc chứa 10% huyết thanh thai bò, 2% thành phần bổ sung dung hợp tế bào lai và tách dòng (HFCS, Roche Diagnostics, CRL 1 363 735) thêm HEPES 10 mM, 2-mercaptoethanol 0,055 mM, gentamycin 50 µg/mL và HAT 1x (Sigma, CRL H0262). Sau 10 đến 14 ngày, các giếng riêng biệt được sàng lọc bằng kỹ

thuật ELISA tế bào đối với kháng thể đơn dòng kháng CLD 18A2 (FIG. 2). Tế bào lai tiết kháng thể được gieo lại, sàng lọc một lần nữa với HEK293 biểu hiện CLD 18A2 hoặc CLD 18A1 bằng kỹ thuật FACS và, nếu vẫn dương tính đối với CLD18A2 và âm tính đối với CLD18A1, được tách dòng phụ bằng cách pha loãng giới hạn. Các dòng phụ ổn định sau đó được nuôi cấy *in vitro* để tạo ra lượng nhỏ kháng thể trong môi trường nuôi cấy mô để xác định đặc điểm. Ít nhất một dòng từ mỗi tế bào lai, mà giữ lại được độ phản ứng của tế bào gốc (bằng kỹ thuật FACS), được chọn. Ba lọ tế bào lưu trữ được tạo ra cho mỗi dòng và lưu trữ trong nitơ lỏng.

c. Chọn kháng thể đơn dòng liên kết với CLD 18A2 không liên kết với CLD18A1:

Để xác định isotyp của kháng thể, kỹ thuật ELISA isotyp được thực hiện. Kit monoAB ID chuột nhất (Zymed, CRL 90-6550) được sử dụng để xác định lớp phụ Ig của kháng thể đơn dòng phản ứng với CLD18A2 đã nhận diện. 32 dòng tế bào lai được tạo ra: 64G11B4, 65G8B8, 56E8F10F4, 54A2C4, 44F6B11, 15C2B7, 20F1E10, 72C1B6A3, 58G2C2, 101C4F12, 103A10B2, 40C10E3, 78E8G9G6, 4F11E2, 10G7G11, 12F1F4, 78C10B6G4, 119G11D9, 113G12E5E6, 116A8B7, 105F7G12, 84E9E12, 103F4D4, 110C12B6, 85H12E8, 103H2B4, 103F6D3, 113E12F7, 120B7B2, 111B12D11, 111E7E2, và 100F4G12, chi tiết hơn được thể hiện dưới đây:

64G11B4, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhất

65G8B8, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhất

56E8F10F4, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhất

54A2C4, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhất

44F6B11, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhất

15C2B7, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhất

20F1E10, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhất

72C1B6A3, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhất

58G2C2, kháng thể IgG2a, κ đơn dòng của chuột nhất

101C4F12, kháng thể IgG2b, κ đơn dòng của chuột nhất

103A10B2, kháng thể IgG2b, κ đơn dòng của chuột nhất

40C10E3, kháng thể IgG1, λ đơn dòng của chuột nhất

78E8G9G6, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhắt
 4F11E2, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhắt
 10G7G11, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhắt
 12F1F4, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhắt
 78C10B6G4, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhắt
 119G11D9, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhắt
 113G12E5E6, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhắt
 116A8B7, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhắt
 105F7G12, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhắt
 84E9E12, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhắt
 103F4D4, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhắt
 110C12B6, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhắt
 85H12E8, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhắt
 103H2B4, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhắt
 103F6D3, kháng thể IgG1, κ đơn dòng của chuột nhắt
 113E12F7, kháng thể IgG2a, κ đơn dòng của chuột nhắt
 120B7B2, kháng thể IgG2a, κ đơn dòng của chuột nhắt
 111B12D11, kháng thể IgG2a, κ đơn dòng của chuột nhắt
 111E7E2, kháng thể IgG2a, κ đơn dòng của chuột nhắt
 100F4G12, kháng thể IgG3, κ đơn dòng của chuột nhắt.

Ví dụ 2. Giải trình tự tế bào lai

Tế bào lai (1×10^7) được thu gom và ARN tổng số được tách chiết bằng cách sử dụng chất phản ứng Tri Reagent như được mô tả ở trên đối với mô lách. cADN được tạo ra bằng cách sử dụng kit SuperScript III theo hướng dẫn của nhà sản xuất, được mô tả ở trên. Sản phẩm cADN tạo thành được sử dụng làm khuôn cho PCR với đoạn môi VhRevU và VhForU, sản phẩm PCR 300 bp tạo thành được rửa sạch bằng cách sử dụng kit rửa sạch PCR và được giải trình tự với cùng đoạn môi. Sản phẩm PCR cũng được

thực hiện với đoạn môi đặc hiệu vùng V chuỗi nhẹ VkRev7 và VkFor (đối với chỉ vùng biến đổi) hoặc đoạn môi KappaFor (đối với toàn bộ chuỗi nhẹ kapa). Phản ứng giải trình tự được thực hiện đối với sản phẩm PCR đã làm sạch để thu được trình tự ADN cho các kháng thể, 64G11B4, 65G8B8, 56E8F10F4, 54A2C4, 44F6B11, 15C2B7, 20F1E10, 72C1B6A3, 58G2C2, 101C4F12, 103A10B2, 40C10E3, 78E8G9G6, 4F11E2, 10G7G11, 12F1F4, 78C10B6G4, 119G11D9, 113G12E5E6, 116A8B7, 105F7G12, 84E9E12, 103F4D4, 110C12B6, 85H12E8, 103H2B4, 103F6D3, 113E12F7, 120B7B2, 111B12D11, 111E7E2, và 100F4G12. Trình tự vùng biến đổi (VH và VL) của chúng được thể hiện trong Bảng 1 dưới đây.

Bảng 1. Trình tự vùng biến đổi của kháng thể

Chuỗi kháng thể	Trình tự	SEQ ID NO :
Chuỗi nhẹ		
64G11B4	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMNCKSSQSLLNSGNQQRNYLT WYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQADDLAV YYCQNDYFY PFTFGAGTNLELK	117
65G8B8	DIMMTQSPSSLTVTTGEKVTLTCKSSQSLLNSGNLKNYLT WYQQKPGHPP KLLIYWASTRESGVPVRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLTV YYCQNVYIY PFTFGSGTKLEMR	118
56E8F10 F4	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLT WYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTYFTLTISSVQAADLAV YYCQNDYYF PFTFGSGTKLEIK	119
54A2C4	DTVMTQFPSSLSVSAGEKVTMSCKSSQSLLNGGNQKNYL AWYQQKPGQPP KLLIYGASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAV YYCQNDLYY PWTFGGGKLEFK	120
44F6B11	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVIMSCKSNQSLLNSGNQKKYLT WYQQKPGQSP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSESGTDFTLTISSVRAEDLAV YYCQNGYSY	121

	PFTFGSGTKLEMK	
15C2B7	DIVMTQSPSSLTVTAGGKVTVSCCKSSQSLLNSGNQKNYLT WYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQTEDLAV YYCQNNYYF PLTFGAGTKLELK	122
20F1E10	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSFLNSGNQRNYLT WYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFILTITKVQAEDLAV YYCQNVYSY PLTFGAGTKLELK	123
72C1B6A 3	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLT WYQQRPGQPP KLLIYRASSRESGVPVRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAV YYCQNDYIY PYTFGGGKLEMN	124
58G2C2	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLT WYQQKPGQPP TLLIFWAFTRRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTINSVQAEDLAV YYCQNSYSY PFTFGSGTKLEIK	125
101C4F1 2	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQRNYLT WYQQKPGQPP RLLIYWSSTRDSGVPDRFTGSGSRTDFTLTISSVQAEDLAV YYCQNNFIY PLTFGAGTKLELK	126
103B2	DIVMTQSPSSLTVTPGEKVTMSCRSSMSLFNSGNQKSYLS WYHQKPGQPP KLLIYWASTRDSGVPVRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAV YYCHNDYIY PLTFGAGTKLELK	127
78E8G9G 6	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMNCRSIQSLLNSGNQKNYLS WYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTIRSVLDEDLAV YYCQNSYSY PFTFGSGTKLEMK	128
4F11E2	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTLTCSRSSQSLLNSGNRKNYLT WYQQIPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTYFTLTISSVQAEDLAV YYCQNAYSY PFTFGSGTKLEKK	129
10G7G11	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMTCKSSQSFLNSGNQRNYLT WYQRKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTYFTLTVSSVQAEDLA VYYCQNAYYF	130

	PFTFGSGTKLEKK	
12F1F4	DIVMTQSPSSLTVTARERVSMTCCKSSQSLFNNSGNQRNYLT WYQQKPGQPP KLLIYWSSSTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAIY FCQNNYYY PFTFGSGTKLEIK	131
78C10B6 G4	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLT WYQQRPGQPP KLLIYRASSRESGVPVRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAV YYCQNDYIY PYTFGGGKLEMN	124
119G11D 9	DIVMTQSPSSLVTAGERVTMRCRSTQSLFNNSGNQKNYLT WYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFTGGGSGTDFTLTISSVQAEDLAV YYCQNAYYY PLTFGAGTKLERK	132
113G12E 5E6	DIVMTQSPSSLVTAGERVTMSCKPSQSLLNSGNQKNYLA WYQQKPGQPP KLLLYWASTRESGVPDRFKGSGSGTDFTLTISSVQAEDLA VYYCQNAIFY PCTFGGGTKLEMK	133
116A8B7	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMRCRSTQSLFNNSGNQRNYLT WYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAV YYCQNAYYY PLTFGVGKLERK	134
105F7G1 2	DIVMTQSPSSLVTAGERVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLA WYQQKPGQPP KLLLYWASTRESGVPDRFKGSGSGTDFTLTISSVQAEDLA VYYCQNAIFY PCTFGGGTKLEMK	135
84E9E12	DIVMTQSPSSLTVTTEKVTMSCKSSQSVFNNSGNQKNYLT WYQQKPGQPP KLLVYWASTRESGVPARFTGSGSGTVFTLTISSVQAEDLA VYYCQNDYYF PLTFGAGTRLELK	136
103F4D4	DIVMTQSPSSQTVTAGEKVTLSRSCSSQSLLNNGGNQKNYLT WYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTYFTFTISSVQAEDLAV YYCQNAIFY PFTFGAGTKLELK	137
110C12B 6	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMRCRSTQSLFNNSGNQRNYLT WYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAV YYCQNAYYY	134

	PLTFGVGKLERK	
85H12E8	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMNCKSSQSLLNSGNQRNYLS WYQQEPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNIQAEDLAL YFCQNAYFY PFTFGSGTKLEIK	138
103H2B4	DILMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLT WYQQKPGQSP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAV YYCQNNYFY PLTFGVGKLELK	139
103F6D3	DIVMTQSPSSQTVTAGEKVTLSCRSSQSLLNGGNQKNYLT WYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTYFTFTISSVQAEDLAV YYCQNAYFY PFTFGAGTKLELK	137
113E12F7	DIVMTQSPSSLTVTTGEKVTMSCKSSQSFLNSGNQKNYLT WYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTYFTLTISSVQAEDLAV YYCQNNYIY PLAFGTGKLELK	140
120B7B2	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLT WYQQRPGQPP KLLMYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSGQAEDLAI YFCQNGYYF PFTFGSGTKLETK	141
111B12D 11	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMRCSRSSQSFLNSGNQRNYLT WYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAV YYCQNNYIY PLAFGAGTKLELK	142
111E7E2	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSFLNSGNQKNYLT WYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAV YYCQNNYIY PLAFGAGTKLELK	143
100F4G1 2	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMRCKSTQSLLNSGNQRNYLT WYQQKPGQSP KLLIYWASTRESGVPERFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAV YYCQNAYYY PLTFGPGTKLERK	144
Chuỗi nặng		

64G11B4	QVQLHQSGTELVRPGTSVKVSCKASGYAFTNYLLEWVKQ RPGQGLEWIGE INPGNGGSNYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSVD SAVYFCARIY YGNSFAYWGQGTLVTVSA	145
65G8B8	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLTSYGVSWVRQPP GKGLEWLG IWGDGNTIYHSALKSRLSISRDN SKRQVFLKVNSLQIDDTA TYYCAKQGL YGHAMDYWGQGTSVIVSS	146
56E8F10 F4	DVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCTASGFTFNSFGMNWVRQ APEKGLEWVAF ISGGSNTIHYLDTVKGRFTISRDNPKNTLFLQMTSLRSED T AMYYCTRLA LGNAMDYWGQGTSVIVSS	147
54A2C4	EVQHVETGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTNAMNWVRQ APGKGLEWVAR IRSKSNNYATYYADSVKDRFTISRDDSQSMLYVQMNNLKT EDTAMYYCVS GAYYGNSKAFDYWGQGTLVTVSA	148
54A2C4'	QVQLHQSGTELVRPGTSVKVSCKASGYAFTNYLLEWVKQ RPGQGLEWIGE INPGNGGSNYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSVD SAVYFCARIY YGNSFAYWGQGTLVTVSA	145
54A2C4''	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFPTYSIHWLQK GPGQGLEWIGY INPSTIYTNYNQKFKYKATLTADKSSSTAYIQLSSLTSDDSA VYYCAREG YGRGNAMDYWGQGTSTVTVSS	149
44F6B11	EVQLVESGGDLVKPGGSLKLSCAASGFTFSNYGMSWVRQ TPDKRLEWVAT FSYGD SHNYYSDSVKGRFTISRDI AKDALYLQMSSLRSED T AIYYCARFG RGNTMDYWGQGTSTVTVSL	150
15C2B7	QIQLVQSGPELRKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQ APGKGLKWMW INANTGEPTYAEFEKGRFAFSLETSARSAYLQINSLKNED T ATYFCARLT RGNSFDYWGQGTTTLTVSS	151
20F1E10	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTKYGMNWVRQ APGKGLKWMGW ISTNTGEPTYAEFEKGRFAFSLETSASTAFLQINN LKNED TA TYFCARLV RGNSFDFWQG GITLTVSS	152

72C1B6A 3	QVQLQQSGGELVKPGASVKMSCKAFGYTFTTYPIEWMKQ NHGKSLEWIGN FHPYNDDTKYNEKFKGKAKLTVEKSSSTVYLEVSRLTSDD SAVYYCARRA YGYPYAMDYWGQGTSTVTVSS	153
58G2C2	QVHLQQSGAEVVRPGTSVKVSCKASGYAFTNYLIEWIKKR PGQGLEWVGV INPGRSGTNYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSDD SAVYFCARTR YGGNAMDYWGQGTSTVTVSS	154
101C4F1 2	QVQLKESGPGQVAPSQSLSIAC TVSGFSLSSYGVHWVRQP PGKGLEWLGV IWAGGSTNYDSALMSRLTISKDNSRTRVFLKMNSLQTDDT AIYYCARSLY GNSLDSWGP GTTLTVSS	155
103B2	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGLSLTSFGVHWIRQPP GKGLEWLGV IWAGGSTNYNSALMSRLSISKDNSKSQVYLKMHSLQTDDT AMYYCARSLY GNSFDYWGQGTALT VSS	156
40C10E3	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLSSYGVNWVRQPP GKGLEWLAA IRSDGIITYNSVLKSRLRISKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTA MFYCARWFR GNVLDYWGQGTSTVTVSS	157
78E8G9G 6	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLISYGVHWVRQPP GKGLEWLGV IWAGGRTNYNSALMSRLSISKDNSKSQVFLKMNSLQTYDT AMYYCARDRY GGNSLDYWGQGTSTVTVSS	158
4F11E2	DVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCAASGFTFSTFGMHWVRQ APEKGLEWVAY ITSGNSPIYFTDTVKGRFTISRDNPKNTLFLQMTSLGSEDTA VYYCARSS YYGNSMDYWGQGTSTVTVSS	159
10G7G11	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTISGFSLNTYGVHWVRQPP GKGLEWL VV MLSDGNTVYNSSLKSRLSLTKDNSKSQLLLKMNSLQTDDT AIYYCARHKA YGNAMDYWGQGTSTVTVSS	160
12F1F4	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLINYGVSWVRQPP GKGLEWLGV IWGDGNTNYQSALRSRLSIRKDTSKSQVFLKLNSVHTDGT ATYYCAKVGR GNAMDHWGQGGSIVIVSS	161

78C10B6 G4	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLNYGVSWVRQPP GKGLEWLGV IRGDGNTNYQSALRSRLSIRKDTSKSQVFLKLNSVHTDGTA TYYCAKVGR GNAMDHWGQGISVIVSS	162
119G11D 9	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTGFLMHWVKQ KPGQGLEWIGY INPYNDGTTYSEKFKGKATLTSDKSSSTAFMELSSLTSDDS AVYYCARLD YGNAMDYWGQGTSTVTVSS	163
113G12E 5E6	QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSDFSLTKYGVHWFRQSP GKGLEWLGV IWTGGNTDYNPALIPRLSFRKDNSKSQVFFKMNSLQSSDT AVYYCARNGY YGNAMDYWGQGTSTVTVSS	164
116A8B7	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKSSGYTFTGFLMHWVKQ KPGQGLEWIGY INPYNDGTTYSEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSDDS AVYYCGRLD YGNAMDYWGQGTSTVTVSS	165
105F7G1 2	QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSDFSLTKYGVHWFRQSP GKGLEWLGV IWTGGNTDYNPALIPRLSFRKDNSKSQVFFKMNSLQSSDT AVYYCARNGY YGNAMDYWGQGTSTVTVSS	164
84E9E12	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLSCSVTGYSITSGYFWTWFRQF PGNKLEWMG YISYDGSNNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTA TYYCASFR FFAYWGQGTSLTVSA	166
103F4D4	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFPTYSIHWLQK GPGQGLEWIGY INPSTIYTNYNQKFYKATLTADKSSSTAYIQLSSLTSDDSA VYYCAREG YGRGNAMDYWGQGTSTVTVSS	149
110C12B 6	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKSSGYTFTGFLMHWVKQ KPGQGLEWIGY INPYNDGTTYSEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSDDS AVYYCGRLD YGNAMDYWGQGTSTVTVSS	165
85H12E8	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLSNYGVSWVRQPP GKGLEWLGV IWAGGNTNYNSALMSRLRISKDNSKSQVFLKMNSLQTDD TARYYCARHGY GKGNAMDNWGQGTSTVTVSS	167

103H2B4	QVQLQQPGAEPVKPGASVKLSCKASGYSTNFLTHWVRQ RPGQGLEWIGE INPTNGRTYYNEKFKRKATLTVDKSSTTVYMQLSNLTPED SAVFYCARIY YGNSMDYWGQGTLVTVSA	168
103F6D3	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFPTYSIHWLQK GPGQGLEWIGY INPNTIYTNYNQKFKYKTTLTADKSSSTAYIQLSSLTSDDSA VYYCAREG YGRGNAMDYWGQGTSVTVSS	169
113E12F7	QVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVTGFSLSYGVHWVRQPP GKGLEWLGV IWAGGSTNYDSALMSRLSISKDRSKSQVFLKMTSLQTDDT AMYYCARSLY GNSFDHWGQGTTTLTVSS	170
120B7B2	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTGYIIQWMKQ KPGLGLEWIGF INPYNDGTKYNEQFKGKATLTSDKSSNAAYMELSSLTSED SAVYYCARAY FGNSFAYWGQGTLVTVSA	171
111B12D 11	QVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLTSYGVHWVRQPP GKGLEWLGV IWAGGSTNYDSTLMSRLSISKDRSKSQVFLKMTSLQTDDT AMYYCARSLY GNSFDHWGQGTTTLTVSS	172
111E7E2	QVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLTSYGAHWVRQPP GKGLEWLGV IWAGGSTNYDSALMSRLSISKDRSKSQVFLKMTSLQTDDT AMYYCARSLY GNSFDHWGQGTTTLTVSS	173
100F4G1 2	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTGFLMHWVKQ KPGQGLEWIGY INPYNDGTKYSERFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSDDS AVYYCARLD YGNAMDYWGQGTSVTVSS	174

Ví dụ 3. Tạo ra và tinh chế kháng thể đơn dòng phản ứng với CLD18A2

Để tạo ra lượng mg kháng thể cho việc xác định đặc điểm chức năng, tế bào lai được gieo trong bình phản ứng sinh học dựa trên thẩm tách (CELLLine CL1000, Integra, Chur, CH) ở nồng độ 2×10^6 tế bào/mL. Dịch nổi chứa kháng thể được thu gom một lần mỗi tuần. Mỗi kháng thể đơn dòng của chuột nhất được tinh chế bằng cách sử dụng Melon Gel (Pierce, Rockford, USA) và được cô bằng cách kết tủa amoni sulfat. Nồng

độ kháng thể và độ tinh chế được ước tính bằng điện di gel natri dodecylsulphat và nhuộm coomassie.

Ví dụ 4. Sự liên kết của kháng thể đơn dòng của chuột phản ứng với CLD18A2

Tế bào MKN45 biểu hiện quá mức CLD18A2 được thu gom từ bình thót cổ. 100 μ l tế bào ở nồng độ 1×10^6 tế bào/mL được ủ với kháng thể sơ cấp được chỉ ra trên FIG. 3 theo dải pha loãng 3 lần bắt đầu từ 100 nM đến 0,003 nM trong 30 phút trên đá. Sau khi được rửa bằng 200 μ l đệm FACS hai lần, tế bào được ủ với kháng thể thứ cấp trong 30 phút trên đá. Tế bào được rửa bằng 200 μ l đệm FACS hai lần và chuyển vào ống BD Falcon 5 mL và phân tích bằng kỹ thuật FACS. Kết quả của nghiên cứu thể hiện rằng kháng thể tinh chế của chuột có thể liên kết với tế bào MKN45 được chuyển nhiễm CLD18A2 của người bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy với EC50 cao, so với kháng thể tham chiếu dương.

Ví dụ 5. Sự liên kết của kháng thể đơn dòng của chuột phản ứng với thể đột biến CLD18A2

Tế bào SU620 biểu hiện nội sinh CLD18A2 mang đột biến M149L được thu gom từ bình thót cổ. 100 μ l tế bào ở nồng độ 1×10^6 tế bào/mL được ủ với kháng thể sơ cấp được chỉ ra trên FIG. 4 theo dải pha loãng 3 lần bắt đầu từ 100 nM đến 0,003 nM trong 30 phút trên đá. Sau khi được rửa bằng 200 μ l đệm FACS hai lần, tế bào được ủ với kháng thể thứ cấp trong 30 phút trên đá. Tế bào được rửa bằng 200 μ l đệm FACS hai lần và chuyển vào ống BD Falcon 5 mL và phân tích bằng kỹ thuật FACS. Kết quả của nghiên cứu thể hiện rằng kháng thể tinh chế của chuột có thể liên kết với tế bào SU620 biểu hiện nội sinh CLD18A2 của người mang đột biến M149L bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy với EC50 cao, trong khi kháng thể tham chiếu thì không (FIG. 4).

Ví dụ 6. Sự liên kết của kháng thể đơn dòng của chuột phản ứng với CLD18A2 của chuột nhắt và cyno

Để đánh giá tính phản ứng chéo của các kháng thể này với CLD18A2 của chuột nhắt và cyno, tế bào HEK293 biểu hiện quá mức CLD18A2 của chuột nhắt, cyno hoặc của người được thu gom từ bình thót cổ. 100 μ l tế bào ở nồng độ 1×10^6 tế bào/mL được ủ với kháng thể sơ cấp được chỉ ra trên FIG. 3 theo dải pha loãng 3 lần bắt đầu từ 100 nM đến 0,003 nM trong 30 phút trên đá. Sau khi được rửa bằng 200 μ l đệm FACS hai

lần, tế bào được ủ với kháng thể thứ cấp trong 30 phút trên đá. Tế bào được rửa bằng 200 μ l đệm FACS hai lần và chuyển vào ống BD Falcon 5 mL và phân tích bằng kỹ thuật FACS. Kết quả của nghiên cứu thể hiện rằng kháng thể tinh chế của chuột có thể liên kết với CLD18A2 của chuột nhắt và cyno bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy với EC50 cao, ít nhất là tương tự với kháng thể tham chiếu (FIG. 5, FIG. 6 và FIG. 7).

Ví dụ 7. Sự liên kết của kháng thể khảm phản ứng với CLD18A2

Gen VH và VK của chuột được tạo ra theo cách tổng hợp và sau đó được tách dòng tương ứng vào vectơ chứa miền hằng định gamma 1 của người và kappa của người. Kháng thể khảm tinh chế được tạo ra từ tế bào CHO được chuyển nhiễm.

Tế bào MKN45 biểu hiện ổn định CLD18A2 hoặc CLD18A1 của người được thu gom từ bình thót cổ. 100 μ l tế bào ở nồng độ 1×10^6 tế bào/mL được ủ với kháng thể khảm sơ cấp được chỉ ra trên FIG. 4 theo dải pha loãng 3 lần bắt đầu từ 100 nM đến 0,003 nM trong 30 phút trên đá. Sau khi được rửa bằng 200 μ l đệm FACS hai lần, tế bào được ủ với kháng thể thứ cấp trong 30 phút trên đá. Tế bào được rửa bằng 200 μ l đệm FACS hai lần và chuyển vào ống BD Falcon 5 mL và phân tích bằng kỹ thuật FACS. Kết quả của nghiên cứu thể hiện rằng kháng thể khảm có thể liên kết với CLD18A2 của người với EC50 cao, nhưng không liên kết với CLD18A1 (FIG. 8 và FIG. 9).

Ví dụ 8. Khả năng gây độc tế bào do tế bào phụ thuộc kháng thể (Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity - ADCC) của kháng thể khảm

Thử nghiệm sinh học báo cáo ADCC sử dụng chỉ báo luân phiên ở điểm gần hơn của quá trình hoạt hóa con đường ADCC MOA: hoạt hóa phiên mã gen qua con đường NFAT (yếu tố hạt nhân của tế bào T hoạt hóa) trong tế bào hiệu ứng. Ngoài ra, thử nghiệm sinh học báo cáo ADCC sử dụng tế bào Jurkat được thiết kế biểu hiện ổn định thụ thể Fc γ RIIIa, biến thể V158 (ái lực cao), và yếu tố đáp ứng NFAT điều khiển sự biểu hiện của luciferaza đom đóm làm tế bào hiệu ứng. Hoạt tính sinh học ADCC MOA của kháng thể được định lượng qua luciferaza được tạo ra là kết quả của sự hoạt hóa con đường NFAT; hoạt tính luciferaza ở tế bào hiệu ứng được định lượng bằng chỉ báo phát quang (FIG. 1). Tín hiệu là cao, và nền của thử nghiệm thấp.

Dải pha loãng của kháng thể đơn dòng khảm claudin 18.2 hoặc kháng thể tham chiếu được ủ trong 6 giờ cảm ứng ở 37°C với tế bào hiệu ứng Jurkat được thiết kế (tế

bào hiệu ứng của thử nghiệm sinh học ADCC), có hoặc không có tế bào đích của thử nghiệm sinh học ADCC (biểu hiện claudin 18.2). Hoạt tính luciferaza được định lượng bằng cách sử dụng chất phản ứng Bio-Glo™ (Bảng 2). Kết quả thể hiện các kháng thể khảm này có hoạt tính ADCC rất mạnh.

Bảng 2. EC50 của kháng thể thử nghiệm

Kháng thể	EC50 (pM)
4F11E2	22,18
12F1F4	36,77
64G11B4	125,7
72C186A3	46,32
78E8G9G6	15,86
103F6D3	79,53
120B7B2	5,806
Kháng thể tham chiếu	458,5

Ví dụ 9. Làm giống như của người mAb của chuột nhắt 4F11E2, 72C1B6A3 và 120B7B2

Gen vùng biến đổi của mAb 4F11E2, 72C1B6A3 và 120B7B2 được dùng để tạo ra mAb được làm giống như của người. Trong bước thứ nhất của quy trình này, trình tự axit amin của VH và VL của MAb được so sánh với cơ sở dữ liệu có sẵn về trình tự gen Ig của người để tìm kiếm trình tự gen Ig dòng mầm của người khớp nhất tổng thể.

Trình tự axit amin của kháng thể được làm giống như của người được liệt kê trong Bảng 3 dưới đây.

Bảng 3. Trình tự được làm giống như của người

Tên	Trình tự	SEQ ID NO :
4F11VH_1 (VH ghép)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTFGMHWVRQA PGKGLEWVSY ITSGNSPIYFTDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDT AVYYCARSS YYGNSMDYWGQGTLVTVSS	175

4F11VH _2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTFGMHWVRQA PGKGLEWVAY ITSGNSPIYFTDTVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDT AVYYCARSS YYGNSMDYWGQGTLVTVSS	176
4F11VH _3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTFGMHWVRQA PGKGLEWVAY ITSGNSPIYFTDTVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARSS YYGNSMDYWGQGTLVTVSS	177
4F11VL 1 (VL ghép)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSLLNSGNRKNYLTW YQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQNAYS PFTFGGGTKLEIK	178
4F11VL 2	DTVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSLLNSGNRKNYLT WYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSVQAEDVAV YYCQNAYS PFTFGGGTKLEIK	179
4F11VL 3	DTVMTQSPDSLAVSLGERVTLNCRSSQSLLNSGNRKNYLT WYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSVQAEDVAV YYCQNAYS PFTFGGGTKLEIK	180
72C1VH _1 (VH ghép)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYPIEWVRQA PGQRLEWMGN FHPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSED AVYYCARRA YGYPYAMDYWGQGTLVTVSS	181
72C1VH _2	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYTFTTYPIEWMRQ APGQRLEWMGN FHPYNDDTKYNEKFKGRVTITVDTSASTAYMELSSLRSED AVYYCARRA YGYPYAMDYWGQGTLVTVSS	182
72C1VH _3	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYTFTTYPIEWMKQ APGQRLEWMGN FHPYNDDTKYNEKFKGRVTITVDTSASTAYMEVSSLRSED TAVYYCARRA YGYPYAMDYWGQGTLVTVSS	183
72C1VH _4	QVQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTTYPIEWMKQ APGQRLEWMGN FHPYNDDTKYNEKFKGRVTLTVDTASTVYLEVSSLRSED TAVYYCARRA YGYPYAMDYWGQGTLVTVSS	184

72C1VL _1 (VL ghép)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQKNYLTW YQQKPGQPP KLLIYRASSRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQNDYIY PYTFGGGGTKLEIK	185
72C1VL _2	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCKSSQSLLNSGNQKNYLTW YQQKPGQPP KLLIYRASSRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQNDYIY PYTFGGGGTKLEIK	186
72C1VL _3	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLT WYQQKPGQPP KLLIYRASSRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSVQAEDVAVY YCQNDYIY PYTFGGGGTKLEIK	187
120B7V H_1 (VH ghép)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYIIQWVRQA PGQRLEWMGF INPYNDGTTYNEQFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSED TAVYYCARAY FGNSFAYWGQGTLVTVSS	188
120B7V H_2	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYTFTGYIIQWMRQ APGQRLEWMGF INPYNDGTTYNEQFKGRVTITSDTSASAAAYMELSSLRSED TAVYYCARAY FGNSFAYWGQGTLVTVSS	189
120B7V H_3	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKASGYTFTGYIIQWMKQ APGQRLEWIGF INPYNDGTTYNEQFKGRATITSDTSASAAAYMELSSLRSED TAVYYCARAY FGNSFAYWGQGTLVTVSS	190
120B7V H_4	EVQLVQSGAEVVKPGASVKMSCKASGYTFTGYIIQWMKQ APGQRLEWIGF INPYNDGTTYNEQFKGRATLTSDTSASAAAYMELSSLRSED TAVYYCARAY FGNSFAYWGQGTLVTVSS	191
120B7V L_1 (VL ghép)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQKNYLTW YQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQNGYYF PFTFGGGTKLEIK	192
120B7V L_2	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCKSSQSLLNSGNQKNYLTW YQQKPGQPP KLLMYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQNGYYF PFTFGGGTKLEIK	193

120B7V L_3	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCKSSQSLNLSGNQKNYLTW YQQKPGQPP KLLMYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSGQAEDVA VYFCQNGYYF PFTFGGGTKLEIK	194
120B7V L_4	DIVMTQSPDSLAVSLGERVTMSCKSSQSLNLSGNQKNYLT WYQQKPGQPP KLLMYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSGQAEDVA VYFCQNGYYF PFTFGGGTKLEIK	195

Gen VH và VL được làm giống như của người được tạo ra theo cách tổng hợp và sau đó được tách dòng tương ứng vào vector chứa miền hằng định gamma 1 của người và kappa của người. Việc ghép cặp VH của người và VL của người tạo ra kháng thể được làm giống như của người (xem Bảng 4).

Bảng 4. Kháng thể được làm giống như của người với các vùng VH và VL của chúng

4F11E2

VH	4F11VH_1	4F11VH_2	4F11VH_3
VL			
4F11VL_1	hu4F11.1	hu4F11.4	hu4F11.7
4F11VL_2	hu4F11.2	hu4F11.5	hu4F11.8
4F11VL_3	hu4F11.3	hu4F11.6	hu4F11.9

72C1B6A3

VH	72C1VH_1	72C1VH_2	72C1VH_3	72C1VH_4
VL				
72C1VL_1	hu72C1.10	hu72C1.13	hu72C1.16	hu72C1.19
72C1VL_2	hu72C1.11	hu72C1.14	hu72C1.17	hu72C1.20
72C1VL_3	hu72C1.12	hu72C1.15	hu72C1.18	hu72C1.21

120B7B2

VH	120B7VH_1	120B7VH_2	120B7VH_3	120B7VH_4
VL				
120B7VL_1	hu120B7.22	hu120B7.26	hu120B7.30	hu120B7.34
120B7VL_2	hu120B7.23	hu120B7.27	hu120B7.31	hu120B7.35
120B7VL_3	hu120B7.24	hu120B7.28	hu120B7.32	hu120B7.36
120B7VL_4	hu120B7.25	hu120B7.29	hu120B7.33	hu120B7.37

Ví dụ 10. Sự liên kết của kháng thể được làm giống như của người phản ứng với CLD18A2

Tế bào MKN45 biểu hiện ổn định CLD18A2 hoặc CLD18A1 của người được thu gom từ bình thót cổ. 100 μ l tế bào ở nồng độ 1×10^6 tế bào/mL được ủ với kháng thể sơ cấp được làm giống như của người được chỉ ra trên FIG. 4 theo dải pha loãng 3 lần bắt đầu từ 100 nM đến 0,003 nM trong 30 phút trên đá. Sau khi được rửa bằng 200 μ l đệm FACS hai lần, tế bào được ủ với kháng thể thứ cấp trong 30 phút trên đá. Tế bào được rửa bằng 200 μ l đệm FACS hai lần và chuyển vào ống BD Falcon 5 mL và phân tích bằng kỹ thuật FACS. Kết quả của nghiên cứu thể hiện rằng kháng thể được làm giống như của người đã nêu có thể liên kết với CLD18A2 của người với EC50 cao, nhưng không liên kết với CLD18A1 (FIG. 10 và FIG. 11).

Ví dụ 11. Sự liên kết của kháng thể được làm giống như của người loại bỏ rủi ro PTM (cải biến sau dịch mã) phản ứng với CLD18A2

Cải biến sau dịch mã (PTM) có thể gây ra vấn đề trong quá trình phát triển protein trị liệu chẳng hạn như tăng tính không đồng nhất, giảm hoạt tính sinh học, giảm độ ổn định, tính sinh miễn dịch, phân mảnh và kết tụ. Ảnh hưởng của PTM tiềm năng phụ thuộc vào vị trí của chúng và trong một số trường hợp phụ thuộc vào sự tiếp xúc với dung môi. CDR của trình tự được phân tích về các PTM tiềm năng sau đây: tách nhóm amit của asparagin, đồng phân hóa aspartat, nhóm thiol tự do của cystein, N-glycosyl hóa, oxy hóa, phân mảnh bởi vị trí thủy phân tiềm năng, v.v..

Để làm giảm nguy cơ phát triển PTM ở 4F11E2, 72C1B6A3 và 120B7B2, một số axit amin có liên quan trong VH và VL được gây đột biến. Và sau đó 9 kháng thể được tạo ra:

Dòng	HC:LC*	Số
4F11E2	HC N55Q-LC N31E	1
	HC N55Q-LC S32A	2
	HC N55E-LC S32A	3
	HC N55E&N104Q-LC S32A	8
	HC N55E&N104E-LC S32A	9
	HC N55E&S105A-LC S32A	10
72C1B6A3	HC WT-LC N31E	4

	HC WT-LC S32A	5
120B7B2	HC G57D&S104A-LC-N96E&N31E	6
	HC G57D&S104A-LC-S32A&G97A	7

*Vị trí axit amin (ví dụ, N55) tính theo số lượng gốc axit amin trong trình tự axit amin VH hoặc VL tương ứng, không phải theo Kabat hoặc Chothia.

Kháng thể	Thế đột biến	Trình tự (đột biến được làm nổi bật)	SEQ ID NO:
4F11E2	HC N55Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTFGMHW VRQAPGKGLEWVS ITSG <u>Q</u> SPIYFTDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLR AEDTAVYYCARSS YYGNSMDYWGQGTLVTVSS	196
	HC N55E	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTFGMHW VRQAPGKGLEWVS ITSG <u>E</u> SPIYFTDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLR AEDTAVYYCARSS YYGNSMDYWGQGTLVTVSS	197
	HC N55E & N104 Q	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTFGMHW VRQAPGKGLEWVS ITSG <u>E</u> SPIYFTDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLR AEDTAVYYCARSS YYG <u>Q</u> SMDYWGQGTLVTVSS	198
	HC N55E & N104E	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTFGMHW VRQAPGKGLEWVS ITSG <u>E</u> SPIYFTDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLR AEDTAVYYCARSS YYG <u>E</u> SMDYWGQGTLVTVSS	199
	HC N55E & S105A	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTFGMHW VRQAPGKGLEWVS ITSG <u>E</u> SPIYFTDTVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLR AEDTAVYYCARSS YYGN <u>A</u> MDYWGQGTLVTVSS	200
	LC N31E	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSLL <u>E</u> SGNRKN YLTWYQQKPGQP	201

		KLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAE DVAVYYCQNAYS PFTFGGGGTKLEIK	
	LC S32A	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSLLN <u>A</u> GNRK NYLTWYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAE DVAVYYCQNAYS PFTFGGGGTKLEIK	202
72C1B 6A3	HC WT	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYP WVRQAPGQRLEWMGN FHPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSL RSEDVAVYYCARA YGYPYAMDYWGQGTLLTVSS	181
	LC S32A	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLN <u>A</u> GNQK NYLTWYQQKPGQPP KLLIYRASSRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAED VAVYYCQNDYIY PYTFGGGGTKLEIK	203
	LC N31E	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLL <u>E</u> SGNQKN YLTWYQQKPGQPP KLLIYRASSRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAED VAVYYCQNDYIY PYTFGGGGTKLEIK	204
120B7 B2	HC G57D &S104 A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYIIQ WVRQAPGQRLEWMGF INPYND <u>D</u> TKYNEQFKGRVTITRDTSASTAYMELSSL RSEDVAVYYCARAY FGN <u>A</u> FAYWGQGTLLTVSS	205
	LC- S32A &G97 A	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLN <u>A</u> GNQK NYLTWYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAE DVAVYYCQN <u>A</u> YYF PFTFGGGGTKLEIK	206
	LC- N96E &N31 E	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLL <u>E</u> SGNQKN YLTWYQQKPGQPP KLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAE DVAVYYCQ <u>E</u> GYYF PFTFGGGGTKLEIK	207

Tế bào MKN45 biểu hiện ổn định CLD18A2 hoặc CLD18A1 của người được thu gom từ bình thốt cổ. 100 µl tế bào ở nồng độ 1×10^6 tế bào/mL được ủ với kháng thể

được làm giống như của người được gây đột biến sơ cấp được chỉ ra trên Fig. 4 theo dải pha loãng 3 lần bắt đầu từ 100 nM đến 0,003 nM trong 30 phút trên đá. Sau khi được rửa bằng 200 μ l đệm FACS hai lần, tế bào được ủ với kháng thể thứ cấp trong 30 phút trên đá. Tế bào được rửa bằng 200 μ l đệm FACS hai lần và chuyển vào ống BD Falcon 5 mL và phân tích bằng kỹ thuật FACS. Kết quả của thử nghiệm thể hiện rằng kháng thể đã nêu có thể liên kết với CLD18A2 của người với EC50 cao, nhưng không liên kết với CLD18A1 (FIG. 12 và FIG. 13).

Để đánh giá khả năng liên kết kháng nguyên của biến thể loại bỏ rủi ro của 4F11E2d (HC N55E/LC S32A) và 4F11E2d (H N55E N104Q/LC S32A), các biến thể này được thử nghiệm trong thử nghiệm liên kết dựa trên tế bào. Kháng thể kháng CLDN18.2 đã pha loãng theo dãy, bắt đầu từ 100 nM, được ủ với 10^5 tế bào trong 30 phút trên đá. Sau khi được rửa bằng đệm FACS, tế bào sau đó được ủ với kháng thể thứ cấp được đánh dấu APC trong thêm 30 phút trên đá. Tế bào đã liên kết với kháng thể được phân tích bằng kỹ thuật FACS. Các biến thể thể hiện liên kết hiệu lực với claudin 18.2 trên bề mặt tế bào (FIG. 14).

Ví dụ 12. Khả năng gây độc tế bào do tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) của kháng thể được làm giống như của người loại bỏ rủi ro PTM

Dãy pha loãng của kháng thể được làm giống như của người loại bỏ rủi ro PTM claudin 18.2 hoặc kháng thể tham chiếu được ủ trong 6 giờ cảm ứng ở 37°C với tế bào hiệu ứng Jurkat được thiết kế (tế bào hiệu ứng của thử nghiệm sinh học ADCC), có hoặc không có tế bào đích của thử nghiệm sinh học ADCC (biểu hiện claudin 18.2). Hoạt tính luciferaza được định lượng bằng cách sử dụng chất phản ứng Bio-Glo™ (Bảng 5). Kết quả thể hiện rằng các kháng thể được làm giống như của người này có hoạt tính ADCC rất mạnh.

Bảng 5. ADCC

Số	Kháng thể thử nghiệm	EC50
1	4F11E2 -HC N55Q-LC N31E	238,1
2	4F11E2 -HC N55Q-LC S32A	413,9
3	4F11E2 -HC N55E-LCS32A	148,1
4	72C1B6A3-HC WT-LC N31E	1651
5	72C1B6A3-HC WT- LCS32A	190,5

6	120B7B2-HC G57D&104A- LC-	492,6
7	120B7B2-HC G57D&10 4A- LC-	113,9
Kháng thể tham chiếu	Kháng thể tham chiếu	158,3

Ví dụ 13. Lập bản đồ epitop

Tất cả các axit amin của miền ngoại bào của claudin 18.2 được gây đột biến riêng biệt thành A. Mỗi claudin 18.2 được gây đột biến hoặc kiểu hoang được chuyển nhiễm vào tế bào HEK293. Sự biểu hiện của claudin 18.2 được đánh giá bởi các kháng thể đã nêu. Kết quả được thể hiện trên FIG. 15 (chỉ gốc axit amin ở vị trí mà đột biến làm giảm liên kết được thể hiện).

Như được thể hiện trên FIG. 15, axit amin W30, N45, Y46, G48, L49, W50, C53, V54, R55, E56, S58, F60, E62, C63, R80, Y169, và G172 liên quan đến liên kết của ba kháng thể thử nghiệm, 4F11E2 (H4F), 72C186A3 (H72C1) và 120B7B2 (120), hoặc kháng thể tham chiếu 175D10 (IMAB362). W30 dường như tạo thành cụm các gốc ở nửa đầu của miền ngoại bào thứ nhất của protein claudin 18.2. N45, Y46, G48, L49, W50, C53, V54, R55, E56, S58, F60, E62 và C63 dường như tạo cụm các gốc thứ hai trong cùng miền ngoại bào. Y169 và G172, mặt khác, nằm ở hoặc gần với miền ngoại bào thứ hai.

Cấu trúc tinh thể của các protein claudin khác nhau đã được phân tích. Như được thể hiện trên FIG. 20 (phỏng theo Suzuki *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1397: 25-34), protein claudin bao gồm bốn đoạn xuyên màng, đầu cùng N nội bào ngắn, vòng ngoại bào thứ nhất lớn (vòng 1, hoặc ECS1) mà chứa mô típ liên ứng W-LW-C-C, vòng ngoại bào thứ hai ngắn hơn (vòng 2, hoặc ECS2), và đuôi đầu cùng C nội bào. Vòng 1 bao gồm bốn sợi β , β 1, β 2, β 3, và β 4, và vòng bao gồm một sợi β , β 5.

Đột biến của W30, L49 và W50 thành alanin có thể làm bất ổn định cấu hình của vòng 1. Đột biến của C53 hoặc C63 có thể phá vỡ liên kết disulfua giữa β 3 và β 4. R80 có thể quan trọng trong việc duy trì tương tác giữa các phân tử claudin 18.2 song song trên bề mặt tế bào, hoặc để làm ổn định cấu hình của vòng 1. Các gốc còn lại, bao gồm N45, Y46, G48, V54, R55, E56, S58, F60, và E62 (trong vòng β 3 đến β 4), và Y169 và G172 (trong β 5), có thể có mặt ở mặt phân cách trong liên kết với kháng thể được thử nghiệm ở đây.

Ví dụ 14. So sánh kháng thể được làm giống như của người 4F11E2, 72C1B6A3 và 120B7B2 với kháng thể claudin 18.2 tiêu chuẩn 175D10

Liên kết dựa trên tế bào

Để so sánh các kháng thể kháng claudin 18.2 được làm giống như của người: 4F11E2 (HC N55E/LC S32A), 72C1B6A3 (HC WT/ LC S32A) và 120B7B2 (HC G57D S104A/LC S32A G97A) so với kháng thể tiêu chuẩn 175D10 (IMAB362), ví dụ này xác định sự liên kết dựa trên tế bào ở tế bào biểu hiện claudin 18.2 của người. Tế bào CHO-K1 biểu hiện ổn định CLD18A2 của người được phân loại về chất biểu hiện cao và chất biểu hiện thấp dựa trên mức độ biểu hiện CLDN18.2 của người. Kháng thể kháng CLDN18.2 đã pha loãng theo dãy, bắt đầu từ 100 nM, được ủ với 10^5 tế bào trong 30 phút trên đá. Sau khi được rửa bằng đệm FACS, tế bào sau đó được ủ với kháng thể thứ cấp được đánh dấu APC trong thêm 30 phút trên đá. Tế bào đã liên kết với kháng thể được phân tích bằng kỹ thuật FACS.

Như được thể hiện trên FIG 16, 4F11E2, 72C1B6A3 và 120B7B2 thể hiện liên kết vượt trội so với 175D10 ở cả tế bào CHO-K1 claudin 18.2 cao và thấp.

Thử nghiệm ADCC

Để so sánh thêm tác động ADCC của kháng thể kháng claudin18.2 được làm giống như của người: 4F11E2 (HC N55E/LC S32A), 72C1B6A3 (HC WT/ LC S32A) và 120B7B2 (HC G57D S104A/LC S32A G97A) so với kháng thể tiêu chuẩn 175D10 (IMAB362), ví dụ này thực hiện thử nghiệm ADCC dựa trên tế bào. Nói ngắn gọn, tế bào NK92 được nuôi cấy đồng thời với tế bào 293 biểu hiện quá mức claudin18.2 khi có mặt kháng thể kháng claudin 18.2 ở các liều khác nhau. Như được thể hiện trên FIG. 17, 4F11E2, 72C1B6A3 và 120B7B2 thể hiện hiệu lực ADCC vượt trội so với kháng thể 175D10.

Đối với kháng thể trị liệu nhất định, ADCC tăng cường có thể làm tăng cửa sổ điều trị (therapeutic window) cho liệu pháp đích dựa trên kháng thể. ADCC tăng cường có thể đạt được nhờ thiết kế vùng Fc chẳng hạn như có đột biến S239D/I332E. Trong thử nghiệm ADCC dựa trên tế bào NK92, kháng thể 4H11E2, 72C1B6A3 và 120B7B2 có đột biến S239D/I332E ở vùng Fc làm trung gian cho việc tiêu diệt tế bào tế bào 293 biểu hiện quá mức claudin 18.2 qua trung gian tế bào NK92 mạnh hơn so với kháng thể đối chứng 175D10 có cùng đột biến S239D/I332E (FIG. 18).

Thực bào do tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCP)

Tác động của mAb kháng CLDN 18.2 đối với sự thực bào tế bào khối u bởi đại thực bào được đánh giá trong thử nghiệm *in vitro* trong đó tế bào NUG-C4 dương tính với CLDN18.2 được nuôi cấy đồng thời với đại thực bào đã biệt hóa của người khi có mặt các nồng độ khác nhau của mAb kháng CLDN 18.2. Nói ngắn gọn, bạch cầu mono CD14+ được tinh chế từ tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC) của người và được biệt hóa *in vitro* thành đại thực bào trưởng thành trong 6 ngày. Đại thực bào có nguồn gốc từ bạch cầu mono (MDM) được thu gom và gieo lại trong đĩa 24 giếng qua đêm làm tế bào hiệu ứng. NUG-C4 biểu hiện CLDN 18.2-eGFP làm tế bào đích được bổ sung vào MDM ở tỷ lệ là 5 tế bào khối u trên mỗi thể thực bào khi có mặt các nồng độ khác nhau của mAb kháng CLDN 18.2. Sau 3 giờ ủ, tế bào đích không được thực bào được rửa bỏ bằng PBS và thể thực bào còn lại được thu gom và nhuộm bằng chất đánh dấu đại thực bào CD14 sau đó là phân tích đếm tế bào dòng chảy. Hệ số thực bào được tính bằng cách định lượng phần trăm tế bào GFP+ ở tế bào CD14+, chuẩn hóa so với phần trăm của đối chứng IgG.

Như được thể hiện trên FIG. 19, tất cả mAb C18.2 tăng cường đáng kể sự thực bào tế bào NUG-C4 theo cách phụ thuộc vào nồng độ. Ở cả IgG1 kiểu hoang và định dạng IgG1 được gây đột biến S239D/I332E, kháng thể 4H11E2, 72C1B6A3 và 120B7B2 thể hiện tác động ADCP mạnh hơn so với kháng thể tham chiếu 175D10.

Tóm lại, ví dụ này chứng minh rằng các kháng thể mới được phát triển 4F11E2, 72C1B6A3 và 120B7B2 có liên kết dựa trên tế bào và hiệu lực ADCC/ADCP mạnh hơn so với kháng thể tham chiếu 175D10. Dự định là các đặc tính cải thiện của các kháng thể mới này có thể là do tính đặc hiệu liên kết của các kháng thể này cao hơn so với tính đặc hiệu liên kết của kháng thể tham chiếu 175D10. Ví dụ, tương tác của 175D10 với claudin 18.2 là mạnh trong phổ trên FIG. 15, mà bao gồm liên kết mạnh với D28, Q33, N38 và V43, và sau đó là G59 và V79. Các kháng thể mới, 4F11E2, 72C1B6A3 và 120B7B2, ngược lại, có độ đặc hiệu cao hơn với W30 nằm trong nửa đầu của miền ngoại bào thứ nhất, và độ đặc hiệu cao hơn với G48 đến E56 nằm trong nửa thứ hai của miền ngoại bào thứ nhất. Các kháng thể mới cũng có liên kết mạnh hơn một chút với Y46 mà cũng ở nửa thứ hai. Liên kết của chúng với D28, Q33, N38, V43, G59 và V79 yếu hơn đáng kể, mà có thể góp phần vào sự cải thiện ADCC và ADCP của các kháng thể mới.

Ví dụ 15: Liên hợp pHAb với kháng thể claudin 18.2

Sự nội bào của kháng thể kháng claudin 18.2 đã liên kết với CLDN18.2 được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm nội bào dựa trên chất nhuộm phản ứng pHAb. Chất nhuộm pHAb là chất nhuộm cảm biến độ pH mà có độ phát huỳnh quang rất thấp ở độ pH > 7 và độ phát huỳnh quang tăng mạnh khi độ pH của dung dịch trở nên axit. Chất nhuộm pHAb có cực đại kích thích (Ex) ở 532nm và cực đại phát xạ (Em) ở 560nm. Kháng thể được liên hợp với chất nhuộm pHAb có thể được sử dụng để theo dõi sự nội bào của kháng thể qua trung gian thụ thể. Khi thể liên hợp kháng thể-chất nhuộm pHAb liên kết với thụ thể của nó trên màng tế bào, nó thể hiện độ phát huỳnh quang tối thiểu. Tuy nhiên, khi nội bào qua trung gian thụ thể, thể liên hợp kháng thể-chất nhuộm pHAb đi đến endosom và túi lysosom ở đó độ pH là axit, khiến cho chất nhuộm pHAb phát huỳnh quang. Sự phát huỳnh quang có thể phát hiện được nhờ sử dụng các kỹ thuật khác nhau, bao gồm chụp ảnh tế bào, đếm tế bào dòng chảy và máy đọc dựa trên đĩa phát huỳnh quang có thiết bị lọc thích hợp.

Quy trình thí nghiệm:

A. Tạo ra kháng thể

27 kháng thể khảm, 3 kháng thể được làm giống như của người và IgG1 đối chứng được tạo ra bằng tế bào ExpiCHO chuyển nhiễm tạm thời và được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký ái lực Protein A.

B. Liên hợp kháng thể vào hạt sử dụng chất nhuộm phản ứng pHAb Thiol

1. Lắc nhẹ hoặc sử dụng máy trộn lật ngược để tạo huyền phù lại đồng nhất hạt Protein A AmMag® (LC00695). Giữ huyền phù đồng nhất khi tạo các phân phân ước của hạt.

2. Bổ sung 50µl huyền phù đặc của hạt vào ống ly tâm nhỏ 1,5 mL. Đặt ống vào vị trí có từ tính trong 10 giây.

3. Loại bỏ và thải đệm lưu trữ.

4. Bổ sung 250µl PBS (độ pH 7,4). Trộn và đặt ống lên vị trí có từ tính trong 10 giây. Loại bỏ và thải đệm.

5. Bổ sung 1,0 mL mẫu chứa 100 µg kháng thể vào hạt.

6. Trộn mẫu trong 60 phút ở nhiệt độ phòng. Giữ hạt trong huyền phù bằng cách tiếp tục trộn.

7. Đặt ống lên vị trí có từ tính trong 10 giây. Loại bỏ dịch nổi.

8. Bổ sung 250µl đệm liên hợp thiol (đệm phosphat 10mM chứa EDTA 1mM, độ pH 7,0) và trộn. Đặt ống lên vị trí có từ tính trong 10 giây. Loại bỏ và thải đệm. Lặp lại bước này để tổng số lần rửa là 2 lần.

9. Bổ sung 100µl đệm liên hợp thiol.

10. Bổ sung DTT vào nồng độ cuối cùng 2,5 mM.

11. Trộn mẫu trong 60 phút ở nhiệt độ phòng. Giữ hạt trong huyền phù bằng cách tiếp tục trộn.

12. Đặt ống ở vị trí có từ tính trong 10 giây và thải đệm.

13. Bổ sung 250µl đệm liên hợp thiol và trộn. Đặt ống lên vị trí có từ tính trong 10 giây. Loại bỏ và thải đệm. Lặp lại bước này để tổng số lần rửa là 2 lần.

14. Bổ sung 100µl đệm liên hợp thiol.

15. Ly tâm nhanh chất nhuộm phản ứng pHAb Thiol (G9835) (tức là, $14.000 \times g$ trong máy ly tâm để bàn trong 5–10 giây) và hòa tan ở 10 mg/mL bằng cách bổ sung 25µl hỗn hợp 1:1 DMSO-nước vào 0,25mg chất nhuộm. Trộn bằng cách trộn xoáy. Chờ 1–3 phút cho đến khi chất nhuộm hòa tan hoàn toàn. Tạo dung dịch này ngay trước khi sử dụng.

16. Bổ sung 1,2µl chất nhuộm phản ứng pHAb Thiol cho 100µg kháng thể để tạo lượng dư chất nhuộm 20 mol.

17. Trộn trong 60 phút. Giữ hạt trong huyền phù bằng cách tiếp tục trộn.

18. Đặt ống lên vị trí có từ tính trong 10 giây. Loại bỏ và thải dịch nổi.

19. Bổ sung 250µl đệm liên hợp thiol và trộn. Đặt lên vị trí có từ tính trong 10 giây. Loại bỏ và thải chất đệm liên kết/rửa (PBS, độ pH 7,4).

20. Lặp lại bước 19 để tổng số lần rửa là 2 lần.

21. Bổ sung 100µl đệm rửa giải (glyxin 0,1M, độ pH 3,0) vào hạt.

22. Trộn trong 5 phút ở nhiệt độ phòng.

23. Đặt ống lên vị trí có từ tính trong 10 giây. Loại bỏ mẫu đã rửa giải và chuyển vào ống ly tâm nhỏ mới chứa 5µl đệm trung hòa (Tris-HCl 1M, độ pH 9,0).

Nồng độ kháng thể và tỷ lệ chất nhuộm so với kháng thể (dye-to-antibody ratio - DAR) đối với kháng thể thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 6.

Bảng 6. Tỷ lệ chất nhuộm so với kháng thể (DAR)

Dòng	DAR
64G11B4	2,5
65G8B8	4,2
56E8F10F4	3,2
44F6B11	3,0
15C2B7	3,0
20F1E10	2,7
58G2C2	3,1
101C4F12	2,4
103A10B2	3,5
78E8G9G6	2,3
10G7G11	3,1
12F1F4	2,4
78C10B6G4	2,9
119G11D9	3,2
113G12E5E6	2,9
116A8B7	2,6
105F7G12	2,8
84E9E12	2,8
103F4D4	2,1
110C12B6	2,8
85H12E8	3,8
103H2B4	2,7
103F6D3	3,1
113E12F7	3,9
111B12D11	2,7
111E7E2	3,5

100F4G12	3,0
4F11E2 HC N55E-LC S32A (BG2001-C)	3,0
72C1B6A3 HC WT-LC S32A(BG2001-D)	2,6
120B7B2 HC G57D&S104A-LC S32A&G97A (BG2001-E)	3,0
IMAB362 (kháng thể tham chiếu)	3,3
IgG (Đối chứng)	2,9

Ví dụ 16: Sàng lọc sự nội bào của kháng thể claudin 18.2

Tế bào MKN45 được chuyển nhiễm ổn định CLDN18.2 của người được thu gom bằng Trypsin/EDTA 0,05% (Gibco, 25300-054) và được đặt vào đĩa 96 giếng màu đen (Thermo Scientific #165305) ở mật độ 20 K trên mỗi 90 μ l trên mỗi giếng. Đĩa được ủ trong 20–24 giờ trước khi điều trị bằng kháng thể được đánh dấu pHAb.

Để nội bào, kháng thể claudin 18.2 được liên hợp pHAb được bổ sung vào tế bào ở hai nồng độ (20nM và 100nM) và được trộn nhẹ nhàng trong 1–2 phút trên máy trộn đĩa và sau đó ủ qua đêm để sự nội bào xảy ra (sự nội bào có thể được phát hiện trong một vài giờ). Đĩa được đọc trên máy đọc đĩa huỳnh quang ở Ex/Em: 532 nm/560 nm trên Tecan Infinity M1000 Pro. Để thu được độ nhạy cao hơn, môi trường được thay thế bằng PBS trước khi đọc đĩa.

Kết quả được chuẩn hóa bởi DAR được thể hiện trong Bảng 7. Hiệu quả nội bào của kháng thể thử nghiệm là lớn hơn so với kháng thể tham chiếu IMAB362.

Bảng 7. Kết quả nội bào

Dòng	Phát huỳnh quang	
	20nM	100nM
64G11B4	24030	33742
65G8B8	15101	20466
56E8F10F4	19865	28672
44F6B11	18438	26089
15C2B7	19400	33174
20F1E10	21146	45093

58G2C2	18645	33059
101C4F12	15179	44394
103A10B2	11998	31328
78E8G9G6	26815	41148
10G7G11	9603	35549
12F1F4	29457	43854
78C10B6G4	16190	29146
119G11D9	21438	34049
113G12E5E6	11003	28896
116A8B7	21356	41720
105F7G12	14848	43122
84E9E12	18710	35080
103F4D4	31176	49098
110C12B6	19335	40139
85H12E8	19710	29070
103H2B4	23459	35834
103F6D3	23023	41266
113E12F7	13181	29861
111B12D11	15926	37384
111E7E2	12335	28040
100F4G12	17093	33537
4F11E2 HC N55E-LC S32A (BG2001-C)	19008	28208
72C1B6A3 HC WT-LC S32A (BG2001-D)	26203	36535
120B7B2 HC G57D&S104A- LC S32A&G97A (BG2001-E)	19204	31321
IMAB362 (kháng thể tham chiếu)	7951	18907
IgG (Đối chứng)	854	2705

Ví dụ 17: EC50 của sự nội bào của kháng thể khảm claudin 18.2 ở tế bào CHO-claudin 18.2

Tế bào CHO được chuyển nhiễm ổn định CLDN18.2 của người được thu gom bằng Trypsin/EDTA 0,05% (Gibco, 25300-054) và được đặt vào đĩa 96 giếng màu đen

(Thermo Scientific #165305) ở mật độ 10 K trên mỗi 90 μ l trên mỗi giếng. Đĩa được ủ trong 20–24 giờ trước khi điều trị bằng kháng thể được đánh dấu pHAb.

Để nội bào, kháng thể khả năng claudin 18.2 được liên hợp pHAb được bổ sung vào tế bào ở các nồng độ khác nhau (100nM, 30nM, 10nM, 3nM, 1nM, 0,3nM, 0,1nM, 0,03nM và 0,01nM) và được trộn nhẹ nhàng trong 1–2 phút trên máy trộn đĩa và sau đó được ủ qua đêm để cho phép sự nội bào xảy ra (sự nội bào có thể được phát hiện trong vài giờ). Đĩa được đọc trên máy đọc đĩa huỳnh quang ở Ex/Em: 532 nm/560 nm trên Tecan Infinity M1000 Pro. Để thu được độ nhạy cao hơn, môi trường được thay thế bằng PBS trước khi đọc đĩa.

Kết quả được chuẩn hóa bằng DAR được thể hiện trên FIG. 21. Một lần nữa, hiệu quả nội bào của kháng thể thử nghiệm là lớn hơn so với kháng thể tham chiếu IMAB362.

Ví dụ 18: EC50 của sự nội bào của kháng thể claudin 18.2 được làm giống như của người ở tế bào CHO-claudin 18.2

Tế bào CHO được chuyển nhiễm ổn định CLDN18.2 của người được thu gom bằng Trypsin/EDTA 0,05% (Gibco, 25300-054) và được đặt vào đĩa 96 giếng màu đen (Thermo Scientific #165305) ở mật độ 10 K trên mỗi 90 μ l trên mỗi giếng. Đĩa được ủ trong 20–24 giờ trước khi điều trị bằng kháng thể được đánh dấu pHAb.

Để nội bào, kháng thể claudin 18.2 được làm giống như của người được liên hợp pHAb được bổ sung vào tế bào ở các nồng độ khác nhau (100nM, 30nM, 10nM, 3nM, 1nM, 0,3nM, 0,1nM, 0,03nM và 0,01nM) và được trộn nhẹ nhàng trong 1–2 phút trên máy trộn đĩa và sau đó được ủ qua đêm để cho phép sự nội bào xảy ra (sự nội bào có thể được phát hiện trong một vài giờ). Đĩa được đọc trên máy đọc đĩa huỳnh quang ở Ex/Em: 532 nm/560 nm trên Tecan Infinity M1000 Pro. Để thu được độ nhạy cao hơn, môi trường được thay thế bằng PBS trước khi đọc đĩa.

Kết quả được chuẩn hóa bằng DAR được thể hiện trên FIG. 22, thể hiện hiệu quả nội bào của kháng thể thử nghiệm tốt hơn so với kháng thể tham chiếu IMAB362.

Ví dụ 19: EC50 của sự nội bào của kháng thể claudin 18.2 được làm giống như của người ở tế bào MKN45-caludin 18.2

Tế bào MKN45 được chuyển nhiễm ổn định CLDN18.2 của người được thu gom bằng Trypsin/EDTA 0,05% (Gibco, 25300-054) và được đặt vào đĩa 96 giếng màu đen

(Thermo Scientific #165305) ở mật độ 10 K trên mỗi 90 μ l trên mỗi giếng. Đĩa được ủ trong 20–24 giờ trước khi điều trị bằng kháng thể được đánh dấu pHAb.

Để nội bào, kháng thể claudin 18.2 được làm giống như của người được liên hợp pHAb được bổ sung vào tế bào ở các nồng độ khác nhau (100nM, 30nM, 10nM, 3nM, 1nM, 0,3nM, 0,1nM, 0,03nM và 0,01nM) và được trộn nhẹ nhàng trong 1–2 phút trên máy trộn đĩa và sau đó được ủ qua đêm để cho phép sự nội bào xảy ra (sự nội bào có thể được phát hiện trong một vài giờ). Đĩa được đọc trên máy đọc đĩa huỳnh quang ở Ex/Em: 532 nm/560 nm trên Tecan Infinity M1000 Pro. Để thu được độ nhạy cao hơn, môi trường được thay thế bằng PBS trước khi đọc đĩa.

Kết quả được chuẩn hóa bằng DAR được thể hiện trên FIG. 23, thể hiện hiệu quả nội bào của kháng thể thử nghiệm là lớn hơn so với kháng thể tham chiếu IMAB362.

Ví dụ 20: Thể liên hợp kháng thể được chất

Mỗi kháng thể được trộn với xấp xỉ 3 lần TCEP và khuấy trong 2 giờ ở 37°C. Hệ phản ứng được làm rơi xuống nhanh trên 8 lần đối với VC - MMAE và ủ trong 1 giờ trên đá, và lượng cystein dư 20 lần được bổ sung qua thành phần liên kết được chất để dập tắt phản ứng. Cuối cùng, sản phẩm ADC được tinh chế bằng cách rửa giải qua Sephadex G-25 được làm cân bằng trong PBS và cô bằng kỹ thuật siêu lọc ly tâm. Thể liên hợp được lọc qua thiết bị lọc 0,2 μ m trong điều kiện vô trùng và lưu trữ ở -80°C để phân tích và thử nghiệm. Tỷ lệ được chất so với kháng thể được phân tích bằng máy đo phổ UV, hàm lượng monome bằng SEC-HPLC và hàm lượng được chất tự do bằng RP-HPLC. DAR của kháng thể liên hợp vcMMAE được thể hiện trong Bảng 8.

Bảng 8. DAR của kháng thể liên hợp vcMMAE

Kháng thể	DAR
4F11E2 HC N55E-LC S32A	3,76
72C1B6A3 HC WT-LC S32A	3,93
IMAB362 (kháng thể tham chiếu)	4,00
IgG1 (đối chứng)	3,81

Ví dụ 21: Ái lực liên kết và độ đặc hiệu tương đối của kháng thể trần kháng CLDN 18.2 và thể liên hợp kháng thể được chất

Ví dụ này xác định ái lực liên kết và độ đặc hiệu tương đối của kháng thể trần kháng CLDN 18.2 và thể liên hợp kháng thể được chất bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy sử dụng dòng tế bào dương tính và âm tính với CLDN18.2.

Tế bào từ nuôi cấy sinh trưởng theo hàm mũ được thu gom bằng Trypsin/EDTA 0,05% (Gibco, 25300-054), và được đếm nhờ sử dụng buồng đếm Neubauer. Tế bào được quay ly tâm 5 phút ở 1.500 vòng/phút (468×g), dịch nổi được thải và tế bào được tạo huyền phù lại trong đệm FACS (PBS chứa 2% FCS (Gibco, 10270-106) để phân tích với kháng thể được liên hợp độc tố, PBS chứa 2% FCS và EDTA 2 mM để sàng lọc kháng thể trần phản ứng với CLDN18.2) ở mật độ 2×10^6 tế bào/mL. 100 µl huyền phù tế bào trên mỗi giếng (tương ứng với 2×10^5 tế bào/giếng) được chuyển vào đĩa vi chuẩn đáy tròn 96 giếng. Sau khi ly tâm trong 1 phút ở 1500 vòng/phút, dịch nổi được thải và tế bào được tạo huyền phù lại trong đệm FACS chứa kháng thể được liên hợp độc tố hoặc kháng thể trần ở các nồng độ thích hợp (lên đến 20 µg/mL để đo ái lực tương đối hoặc 50 µg/mL đối với đối chứng biểu hiện) và được ủ trong 30-45 phút ở 4°C. (Bảng 8). Tế bào được quay ly tâm trong 1 phút ở 1500 vòng/phút và dịch nổi được thải. Sau khi tế bào được rửa ba lần bằng đệm FACS, tế bào được tạo huyền phù lại trong đệm FACS chứa kháng IgG người được liên hợp APC (Jackson Immuno Research, 109-136-170) hoặc kháng IgG chuột nhắt của dê được liên hợp APC (Jackson Immuno Research, 115-136-146) hoặc Protein L-FITC (1 µg/mL, phân tích mAB294 khảm) và được ủ trong 30 phút ở 4°C. (Bảng 3). Sau khi ủ, 100 µl đệm FACS được bổ sung vào mỗi mẫu, tế bào được quay ly tâm trong 1 phút ở 1500 vòng/phút và dịch nổi được thải. Bước rửa với đệm FACS được lặp lại hai lần. Cuối cùng, tế bào được tạo huyền phù lại trong 100 µl đệm FACS và liên kết được xác định bằng cách sử dụng thiết bị phân tích sinh học BD FACS Array.

Lưu ý rằng kháng thể liên hợp độc tố và kháng thể trần được dùng ở cùng nồng độ. Kết quả được thể hiện trên FIG. 24.

Ví dụ 22: Độc tính tế bào của kháng thể claudin 18.2 được làm giống như của người với MMAE có hiệu lực hơn so với IMAB362 với MMAE ở tế bào chuyển nhiễm DAN-G, NUGC hoặc SCG-7901

Tế bào biểu hiện quá mức claudin 18.2 của người (tế bào chuyển nhiễm DAN-G, NUGC hoặc SCG-7901) được thu gom bằng Trypsin/EDTA 0,05% (Gibco, 25300-054), được tạo huyền phù lại trong môi trường nuôi cấy tế bào và 50 µl huyền phù tế bào với lượng tế bào tương ứng được gieo trên mỗi giếng trong đĩa nuôi cấy tế bào 96 giếng. Sau 24 giờ, IMAB362 hoặc kháng thể đối chứng được liên hợp độc tố được pha loãng trong 50 µl môi trường nuôi cấy ở các nồng độ thích hợp được bổ sung và tế bào được nuôi cấy trong thêm 72 giờ nữa. Ảnh hưởng của kháng thể claudin 18.2 được làm giống như của người với MMAE đối với khả năng sống sót của tế bào được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm khả năng sống sót của tế bào phát quang CellTiter-Glo® (G7572).

Quy trình thử nghiệm khả năng sống sót của tế bào phát quang CellTiter-Glo® (G7572) được sử dụng là như sau:

1. Chuẩn bị đĩa nhiều giếng có thành không trong suốt với tế bào động vật có vú trong môi trường nuôi cấy, 100µl trên mỗi giếng đối với đĩa 96 giếng hoặc 25µl trên mỗi giếng đối với đĩa 384 giếng. Đĩa nhiều giếng cần phải tương thích với máy đo phát quang được sử dụng.

2. Chuẩn bị giếng đối chứng chứa môi trường nuôi cấy mà không có tế bào để thu được giá trị độ phát quang nền.

3. Bổ sung hợp chất thử nghiệm vào giếng thí nghiệm, và ủ theo quy trình nuôi cấy.

4. Làm cân bằng đĩa và hàm lượng của nó ở nhiệt độ phòng trong xấp xỉ 30 phút.

5. Bổ sung thể tích của chất phản ứng CellTiter-Glo® bằng thể tích của môi trường nuôi cấy tế bào có trong mỗi giếng (ví dụ, bổ sung 100µl chất phản ứng vào 100µl môi trường nuôi cấy chứa tế bào đối với đĩa 96 giếng, hoặc bổ sung 25µl chất phản ứng vào 25µl môi trường nuôi cấy chứa tế bào đối với đĩa 384 giếng).

6. Trộn hàm lượng trong 2 phút trong máy lắc quỹ đạo để cảm ứng sự phân giải tế bào.

7. Cho đĩa ủ ở nhiệt độ phòng trong 10 phút để làm ổn định tính hiệu phát quang.
 Lưu ý: Tín hiệu phát quang thất thường trong đĩa tiêu chuẩn có thể là do gradien nhiệt độ, gieo tế bào không đều hoặc hiệu ứng cạnh của đĩa nhiều giếng.

8. Ghi lại độ phát quang.

Kết quả thử nghiệm được thể hiện trên FIG. 25A-C. Cả BG2001-C và BG2001-D, khi được liên hợp với MMAE, đã làm tăng mạnh độ tính tế bào so với thể liên hợp IMAB362-NMAE tham chiếu, ở tất cả các tế bào được thử nghiệm. Do đó, kết quả này chứng minh khả năng cải thiện của kháng thể theo sáng chế trong việc nội bào được chất được liên hợp.

Ví dụ 23: Độ tính tế bào của kháng thể claudin 18.2 được làm giống như của người với MMAE có hiệu lực hơn so với IMAB362 với MMAE ở SNU620 biểu hiện nội sinh claudin 18.2 của người

Tế bào SNU620 được tạo huyền phù lại trong môi trường nuôi cấy tế bào và 50 μ l huyền phù tế bào với lượng tế bào tương ứng được gieo trên mỗi giếng trong đĩa nuôi cấy tế bào 96 giếng. Sau 24 giờ, kháng thể được liên hợp độc tố, bao gồm kháng thể tham chiếu IMAB362, được pha loãng trong 50 μ l môi trường nuôi cấy ở các nồng độ thích hợp được bổ sung và tế bào được nuôi cấy trong 72 giờ nữa. Tác dụng của kháng thể claudin 18.2 được làm giống như của người với MMAE đối với khả năng sống sót của tế bào được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm khả năng sống sót của tế bào phát quang CellTiter-Glo® (G7572). Như được thể hiện trên FIG. 26, cả BG2001-C và BG2001-D có hiệu quả tốt hơn trong việc phân phối MMAE được liên hợp vào tế bào SNU620 so với kháng thể tham chiếu IMAB362, kháng thể kháng claudin 18.2 dẫn đầu trong quá trình phát triển lâm sàng.

Ví dụ 24: Hiệu lực *in vivo* của thể liên hợp kháng thể được chất

Ví dụ này thử nghiệm hiệu lực của một trong số các thể liên hợp kháng thể-được chất (ADC), so với một mình kháng thể (mAb), trong việc làm giảm sự tăng trưởng của khối u ở chuột nhắt trần được cấy tế bào khối u của người.

0,1 mL (5×10^5 tế bào) tế bào có nguồn gốc từ bệnh nhân người (được trộn với Matrigel 1:1) được cấy truyền dưới da ở lưng bên phải của mỗi chuột nhắt. Khi thể tích khối u trung bình đạt 60~80 mm³, 30 chuột nhắt được chọn cho thử nghiệm điều trị.

18 ngày sau khi cấy truyền, 5 chuột nhất có kích cỡ khối u nằm trong khoảng 330-520 mm³ được chọn cho mỗi điều trị (1 mg/kg, 3 mg/mk, 10 mg/kg hoặc 20 mg/kg ADC, QW) trong 3 tuần. Để so sánh, việc điều trị bằng chỉ riêng kháng thể (mAb) là ở liều 10 mg/kg (BIW).

Kết quả được thể hiện trên FIG. 27. ADC ở cả liều 10 mg/kg và 20 mg/kg ức chế hoàn toàn sự tăng trưởng của khối u, mà không làm giảm trọng lượng cơ thể của động vật. FIG. 28 thể hiện tác dụng làm giảm khối u trung bình và riêng lẻ ở mỗi động vật. Do đó, tác dụng làm giảm khối u của ADC tốt hơn đáng kể so với một mình kháng thể.

Sáng chế không giới hạn phạm vi ở các phương án cụ thể được mô tả mà được dự định là chỉ minh họa cho các khía cạnh riêng biệt của sáng chế, và chế phẩm hoặc phương pháp bất kỳ tương đương về chức năng đều nằm trong phạm vi của sáng chế. Rõ ràng với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật rằng các cải biến và biến đổi khác nhau có thể được thực hiện trong phương pháp và chế phẩm theo sáng chế mà không đi lệch khỏi phạm vi của sáng chế. Do đó, dự định là sáng chế bao gồm các cải biến và biến đổi theo sáng chế với điều kiện là chúng nằm trong phạm vi của yêu cầu bảo hộ đi kèm và các phương án tương đương.

Tất cả các công bố và đơn yêu cầu cấp patent được đề cập trong bản mô tả này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn ở cùng phạm vi như thể là từng công bố hoặc đơn yêu cầu cấp patent riêng rẽ được chỉ ra cụ thể và riêng rẽ là được đưa vào bằng cách viện dẫn.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Thở liên hợp kháng thể-được chất, chứa gốc được chất được gắn cộng hóa trị với kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này có tính đặc hiệu liên kết với protein claudin 18.2 của người kiêu hoang, trong đó kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa vùng quyết định bổ sung chuỗi nhẹ CDRL1, CDRL2, và CDRL3 và vùng biến đổi chuỗi nặng chứa vùng quyết định bổ sung chuỗi nặng CDRH1, CDRH2, và CDRH3, trong đó:

- (a) CDRL1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:304, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:227, CDRL3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:19, CDRH1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:253, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:306, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:307, hoặc
- (b) CDRL1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:309, CDRL2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:227, CDRL3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:13, CDRH1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:246, CDRH2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:311, và CDRH3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:294, và

gốc được chất bao gồm monomethyl auristatin E (MMAE).

2. Thở liên hợp kháng thể-được chất theo điểm 1, trong đó:

- CDRL1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:304,
- CDRL2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:227,
- CDRL3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:19,
- CDRH1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:253,

CDRH2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:306, và

CDRH3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:307.

3. Thở liên hợp kháng thể-được chất theo điểm 2, trong đó kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:206 và vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:205.

4. Thở liên hợp kháng thể-được chất theo điểm 1, trong đó:

CDRL1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:309,

CDRL2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:227,

CDRL3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:13,

CDRH1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:246,

CDRH2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:311, và

CDRH3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:294.

5. Thở liên hợp kháng thể-được chất theo điểm 4, trong đó kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:202 và vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:197.

6. Thở liên hợp kháng thể-được chất theo điểm 1, trong đó gốc được chất được gắn với kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này thông qua thành phần liên kết.

7. Thở liên hợp kháng thể-được chất theo điểm 6, trong đó thành phần liên kết có thể thủy phân được trong điều kiện axit.

8. Thở liên hợp kháng thể-được chất theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này được làm giống như của người.

9. Thở liên hợp kháng thể-được chất theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này chứa vùng hằng định chuỗi nặng.

10. Thử liên hợp kháng thể-dược chất theo điểm 9, trong đó vùng hằng định chuỗi nặng có các miền có nguồn gốc từ phân tử IgG₁.
11. Thử liên hợp kháng thể-dược chất theo điểm 10, trong đó vùng hằng định chuỗi nặng chứa đột biến S239D/I332E theo đánh số EU.
12. Thử liên hợp kháng thể-dược chất theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này chứa vùng hằng định chuỗi nhẹ.
13. Thử liên hợp kháng thể-dược chất theo điểm 12, trong đó vùng hằng định chuỗi nhẹ chứa miền hằng định kapa hoặc miền hằng định lambda.
14. Thử liên hợp kháng thể-dược chất theo điểm 6, trong đó thành phần liên kết bao gồm valin-xitrulin (Val-Cit), phenylalanin-lysin (Phe-Lys), maleimidocapronic-valin-xitrulin-p-aminobenzyloxycarbonyl (mc-Val-Cit-PABA), sulfosuccinimidyl-4-[N-maleimidomethyl]xyclohexan-1-carboxylat (smcc), hoặc maleimidocaproyl (mc).
15. Thử liên hợp kháng thể-dược chất theo điểm 1, trong đó tỷ lệ của gốc dược chất so với kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này nằm trong khoảng từ 1:1 đến 20:1.
16. Thử liên hợp kháng thể-dược chất theo điểm 1, trong đó tỷ lệ của gốc dược chất so với kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này nằm trong khoảng từ 2:1 đến 6:1.
17. Thử liên hợp kháng thể-dược chất theo điểm 1, trong đó tỷ lệ của gốc dược chất so với kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này là khoảng 2:1, 2,5:1, 3:1, 3,5:1, 4:1, 4,5:1, hoặc 5:1.
18. Thử liên hợp kháng thể-dược chất, chứa gốc dược chất được gắn cộng hóa trị với kháng thể được làm giống như của người có tính đặc hiệu liên kết với protein claudin 18.2 của người kiểu hoang, trong đó kháng thể này chứa:
 - (1) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:206 và vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:205,
 - (2) vùng hằng định chuỗi nặng có các miền có nguồn gốc từ phân tử IgG₁ và đột biến S239D/I332E theo đánh số EU,

- (3) vùng hằng định chuỗi nhẹ chứa miền hằng định kapa hoặc miền hằng định lambda;

gốc dược chất bao gồm monomethyl auristatin E (MMAE);

trong đó gốc dược chất được gắn với kháng thể qua thành phần liên kết bao gồm maleimidocapronic-valin-xitrulin-p-aminobenzyloxycarbonyl (mc-Val-Cit-PABA); và

trong đó tỷ lệ của gốc dược chất so với kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này là khoảng 2:1, 2,5:1, 3:1, 3,5:1, 4:1, 4,5:1, hoặc 5:1.

19. Thể liên hợp kháng thể-dược chất, chứa gốc dược chất được gắn cộng hóa trị với kháng thể được làm giống như của người có tính đặc hiệu liên kết với protein claudin 18.2 của người kiểu hoang, trong đó kháng thể này chứa:

- (1) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:202 và vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:197,
- (2) vùng hằng định chuỗi nặng có các miền có nguồn gốc từ phân tử IgG₁ và đột biến S239D/I332E theo đánh số EU,
- (3) vùng hằng định chuỗi nhẹ chứa miền hằng định kapa hoặc miền hằng định lambda;

gốc dược chất bao gồm monomethyl auristatin E (MMAE);

trong đó gốc dược chất được gắn với kháng thể qua thành phần liên kết bao gồm maleimidocapronic-valin-xitrulin-p-aminobenzyloxycarbonyl (mc-Val-Cit-PABA); và

trong đó tỷ lệ của gốc dược chất so với kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này là khoảng 2:1, 2,5:1, 3:1, 3,5:1, 4:1, 4,5:1, hoặc 5:1.

20. Dược phẩm chứa:

- (i) thể liên hợp kháng thể-dược chất chứa gốc dược chất được gắn cộng hóa trị với kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này có tính đặc hiệu liên kết với protein claudin

18.2 của người kiểu hoang, trong đó kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ chứa vùng quyết định bổ sung chuỗi nhẹ CDRL1, CDRL2, và CDRL3 và vùng biến đổi chuỗi nặng chứa vùng quyết định bổ sung chuỗi nặng CDRH1, CDRH2, và CDRH3, trong đó:

- (a) CDRL1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:304,
CDRL2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:227,
CDRL3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:19,
CDRH1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:253,
CDRH2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:306, và
CDRH3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:307, hoặc
 - (b) CDRL1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:309,
CDRL2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:227,
CDRL3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:13,
CDRH1 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:246,
CDRH2 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:311, và
CDRH3 bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:294; và
- gốc dược chất bao gồm monomethyl auristatin E (MMAE); và
- (ii) chất mang dược dụng.

21. Dược phẩm theo điểm 20, trong đó thể liên hợp kháng thể-dược chất chứa gốc dược chất được gắn cộng hóa trị với kháng thể được làm giống như của người có tính đặc hiệu liên kết với protein claudin 18.2 của người kiểu hoang, trong đó kháng thể này chứa:

- (1) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:206 và vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:205,

- (2) vùng hằng định chuỗi nặng có các miền có nguồn gốc từ phân tử IgG₁ và đột biến S239D/I332E theo đánh số EU,
- (3) vùng hằng định chuỗi nhẹ chứa miền hằng định kapa hoặc miền hằng định lambda;

gốc dược chất bao gồm monomethyl auristatin E (MMAE);

trong đó gốc dược chất được gắn với kháng thể qua thành phần liên kết bao gồm maleimidocapronic-valin-xitrulin-p-aminobenzyloxycarbonyl (mc-Val-Cit-PABA); và

trong đó tỷ lệ của gốc dược chất so với kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này là khoảng 2:1, 2,5:1, 3:1, 3,5:1, 4:1, 4,5:1, hoặc 5:1.

22. Dược phẩm theo điểm 20, trong đó thể liên hợp kháng thể-dược chất chứa gốc dược chất được gắn cộng hóa trị với kháng thể được làm giống như của người có tính đặc hiệu liên kết với protein claudin 18.2 của người kiểu hoang, trong đó kháng thể này chứa:

- (1) vùng biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:202 và vùng biến đổi chuỗi nặng bao gồm trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:197,
- (2) vùng hằng định chuỗi nặng có các miền có nguồn gốc từ phân tử IgG₁ và đột biến S239D/I332E theo đánh số EU,
- (3) vùng hằng định chuỗi nhẹ chứa miền hằng định kapa hoặc miền hằng định lambda;

gốc dược chất bao gồm monomethyl auristatin E (MMAE);

trong đó gốc dược chất được gắn với kháng thể qua thành phần liên kết bao gồm maleimidocapronic-valin-xitrulin-p-aminobenzyloxycarbonyl (mc-Val-Cit-PABA); và

trong đó tỷ lệ của gốc dược chất so với kháng thể hoặc mảnh của kháng thể này là khoảng 2:1, 2,5:1, 3:1, 3,5:1, 4:1, 4,5:1, hoặc 5:1.

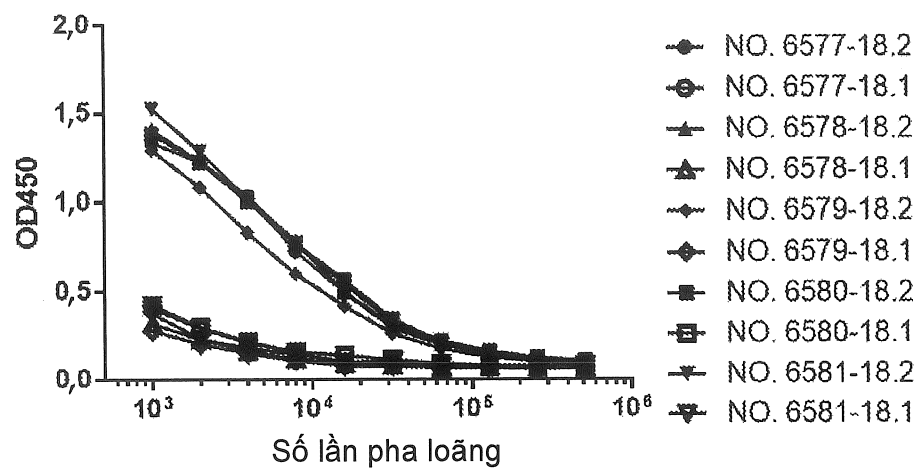


FIG. 1

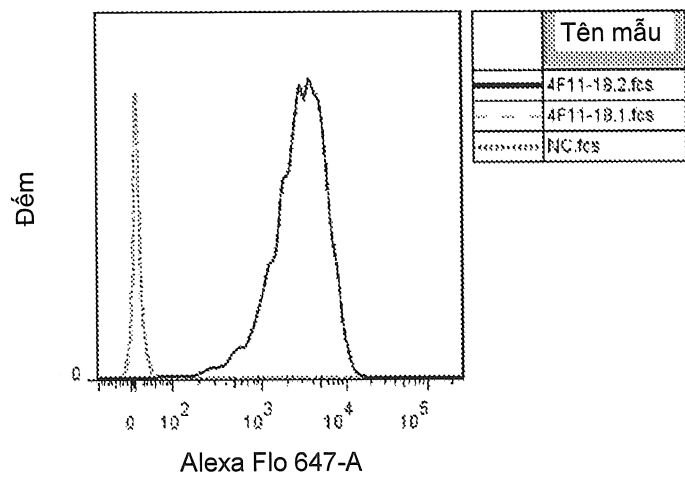
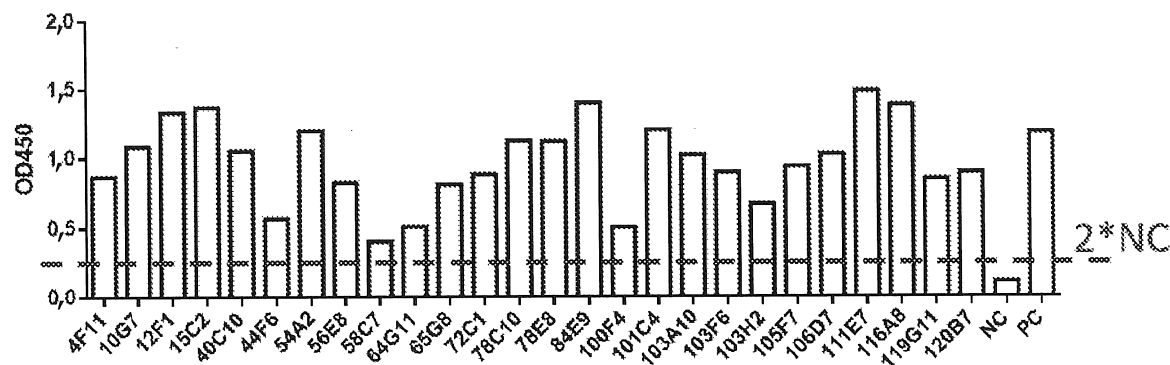
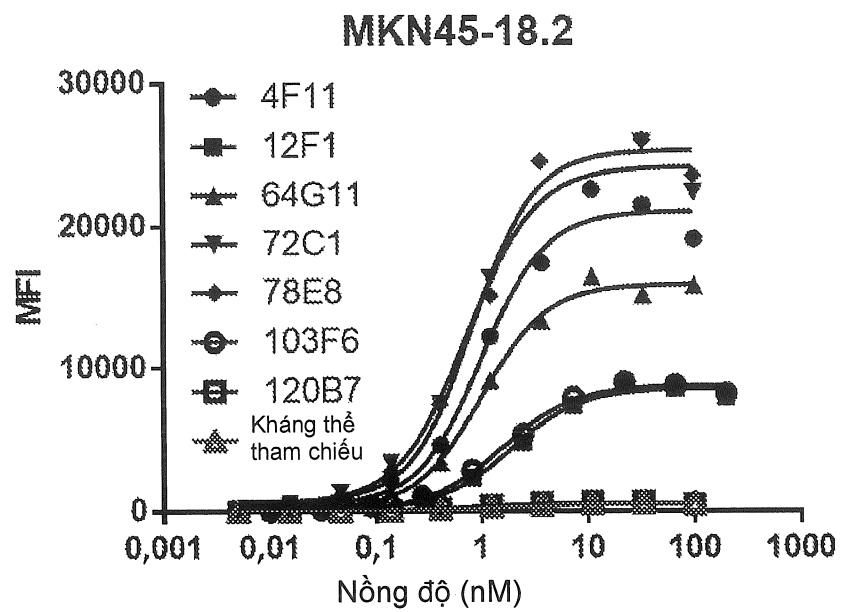
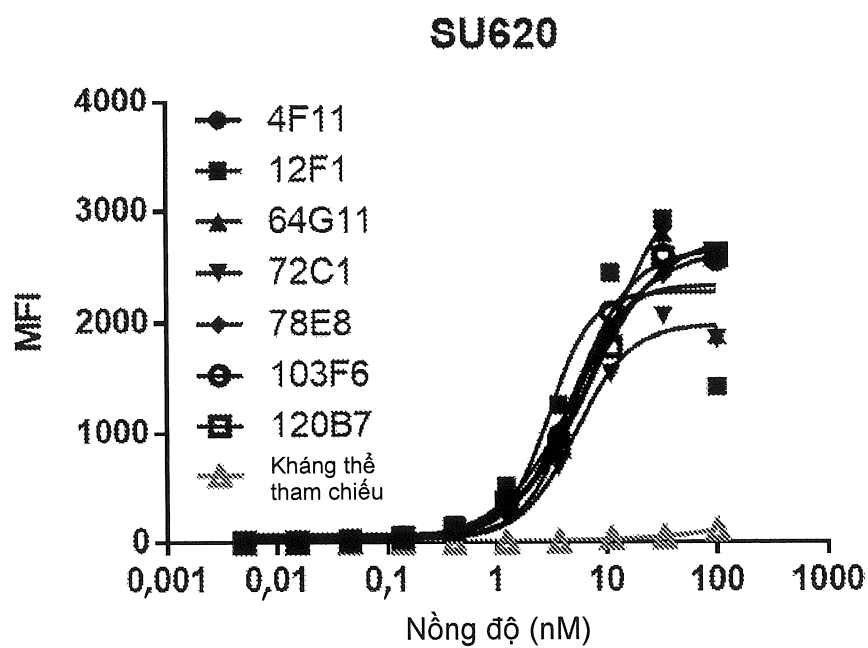


FIG. 2

2/18

**FIG. 3****FIG. 4**

3/18

18.2 của chuột nhắt

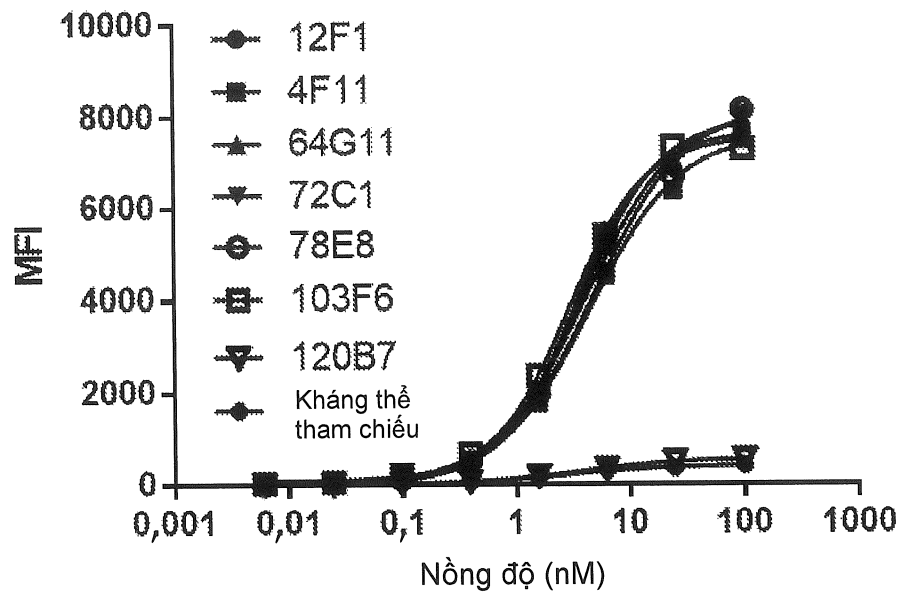


FIG. 5

18.2 của khỉ

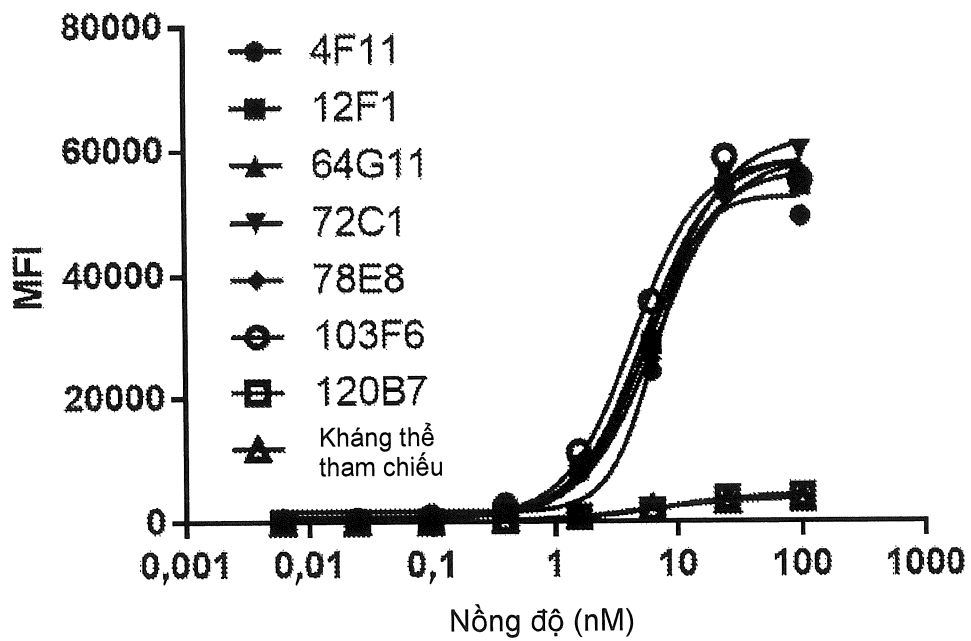


FIG. 6

4/18

18.2 của người

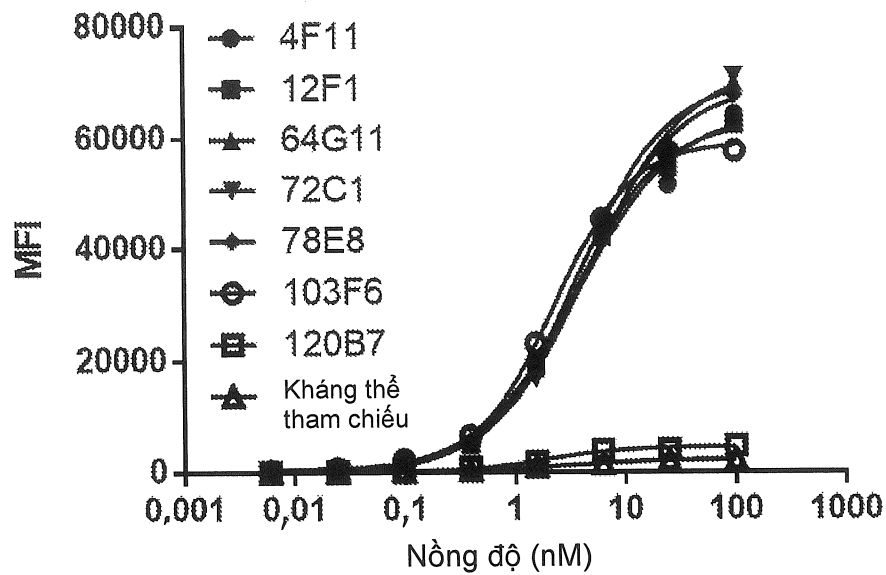


FIG. 7

MKN45-18.2

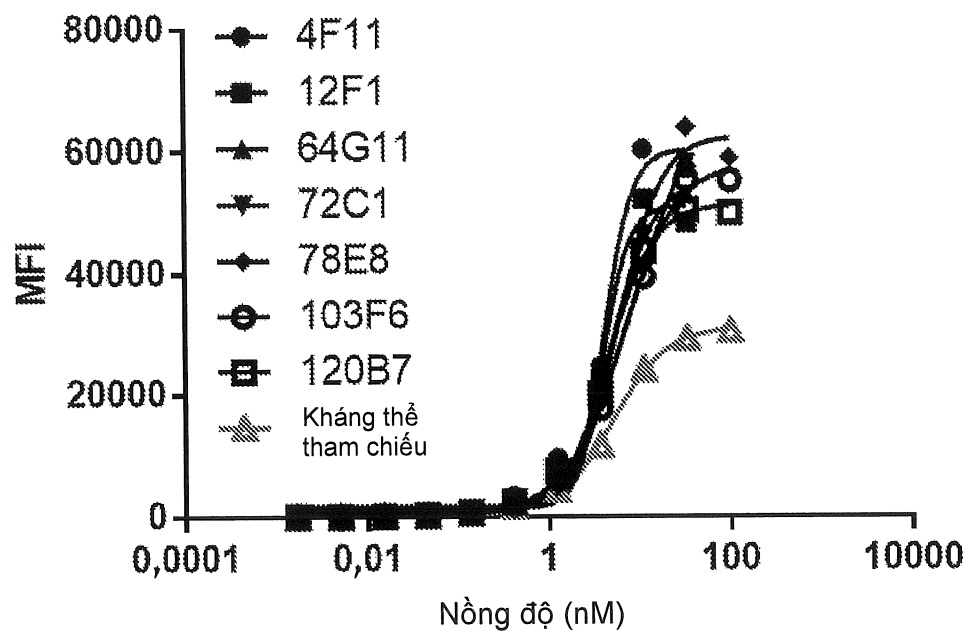
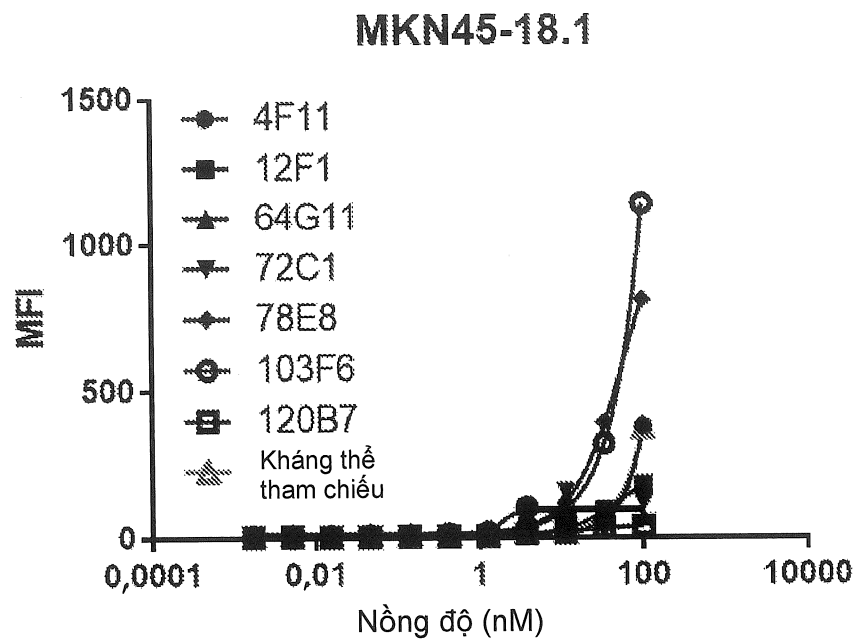
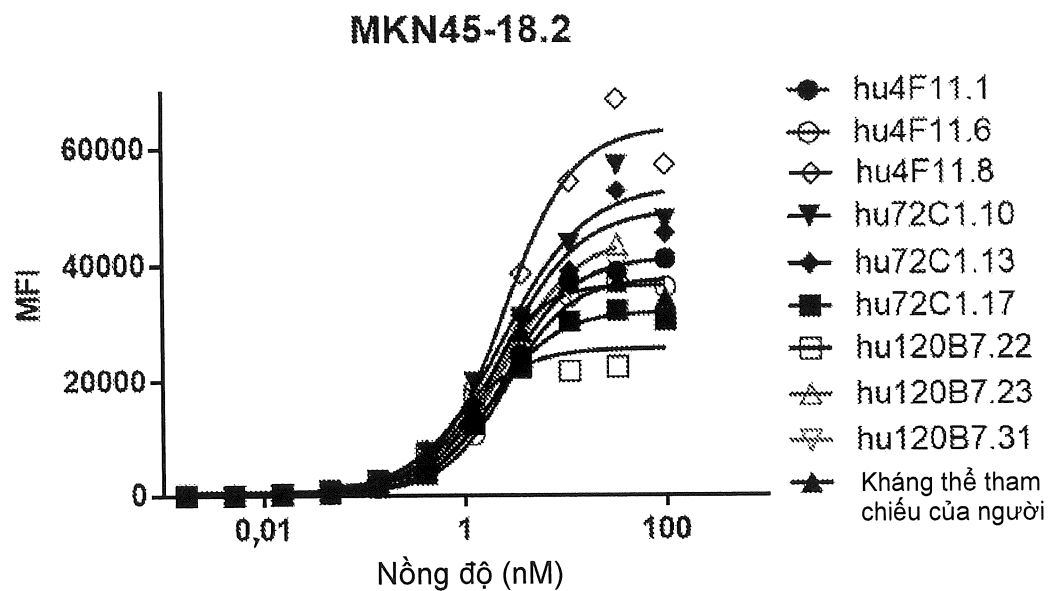
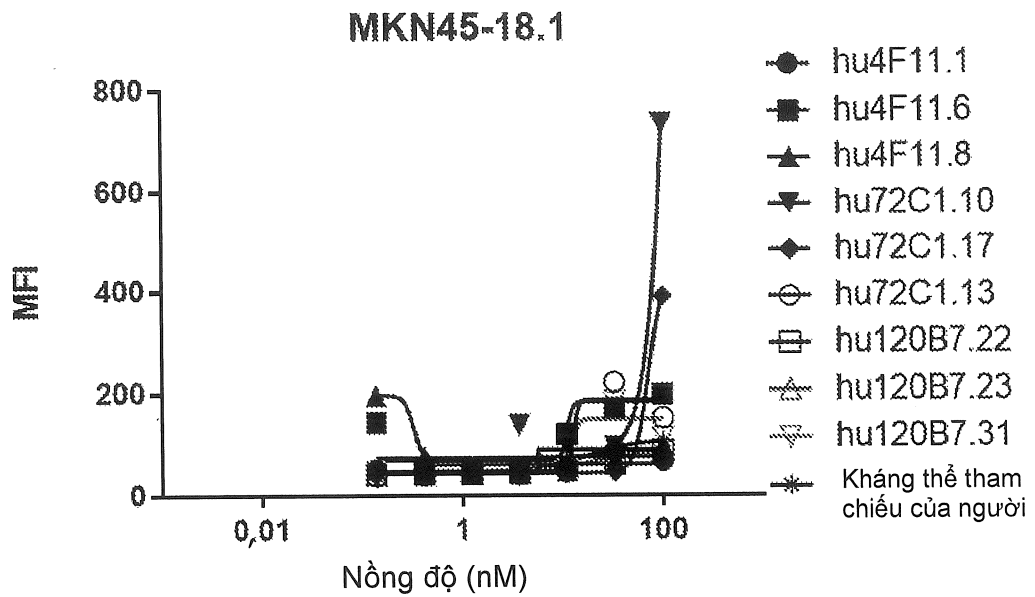
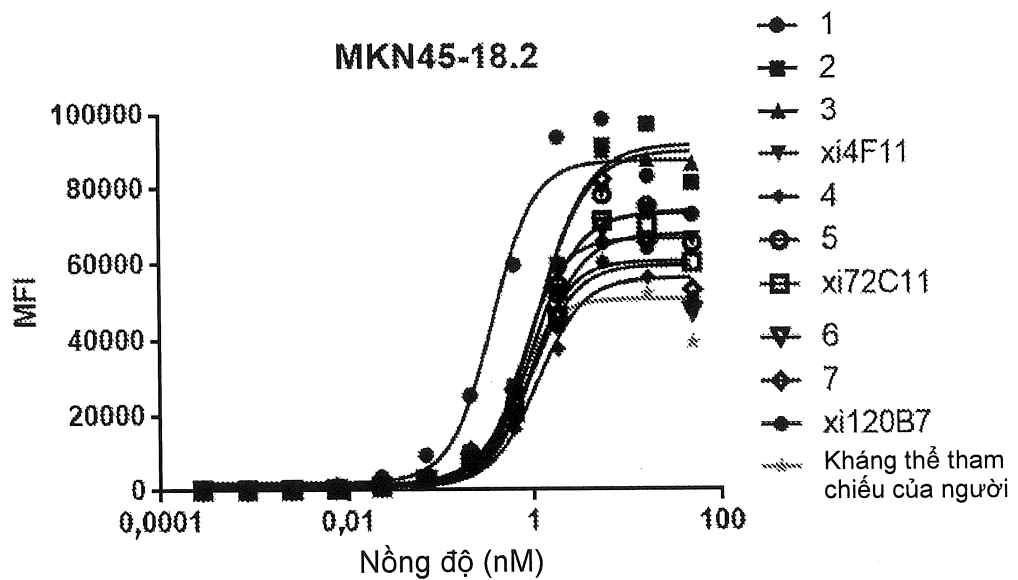


FIG. 8

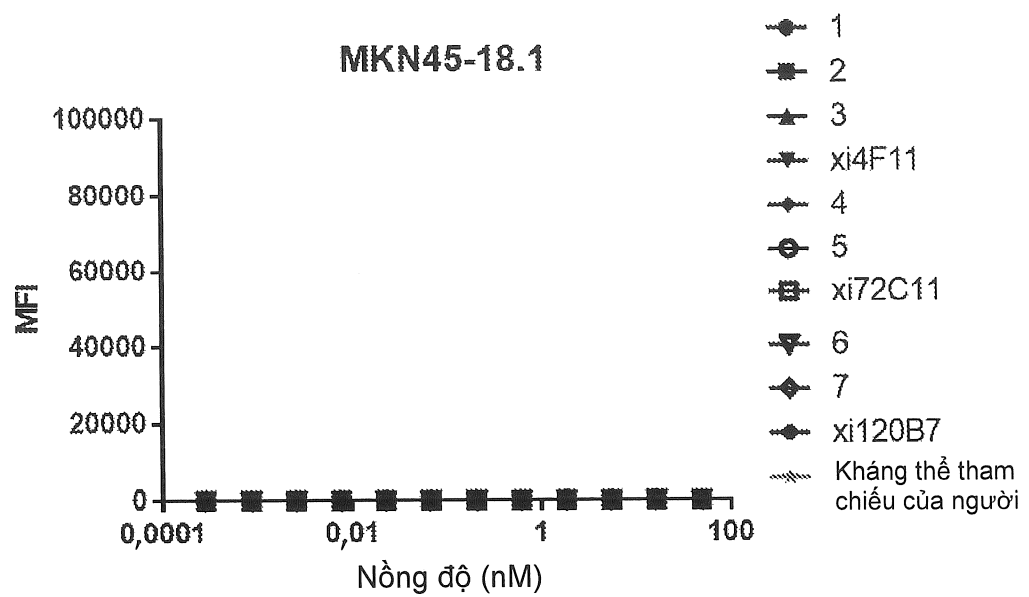
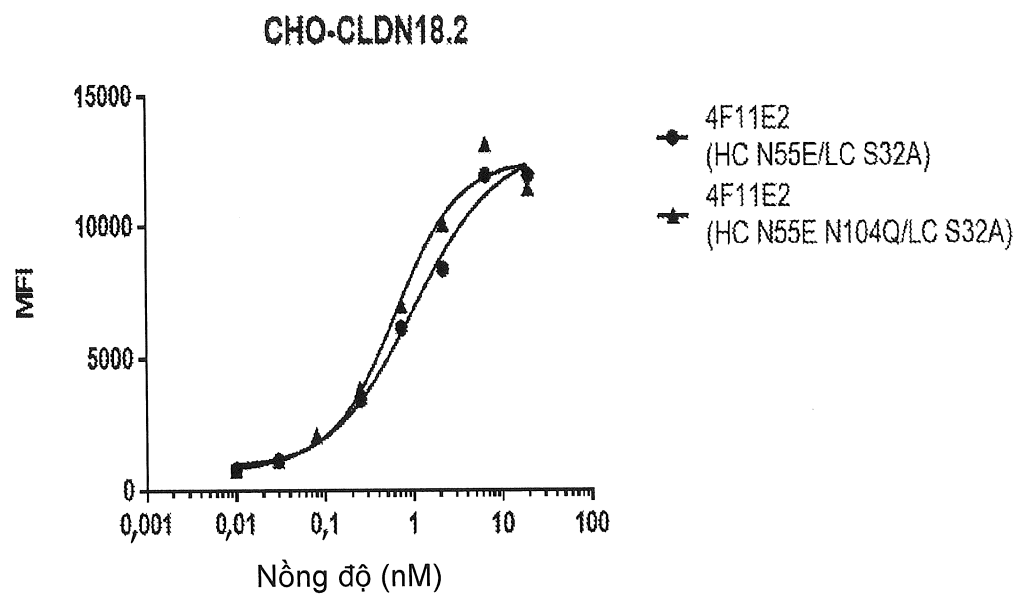
5/18

**FIG. 9****FIG. 10**

6/18

**FIG. 11****FIG. 12**

7/18

**FIG. 13****FIG. 14**

8/18

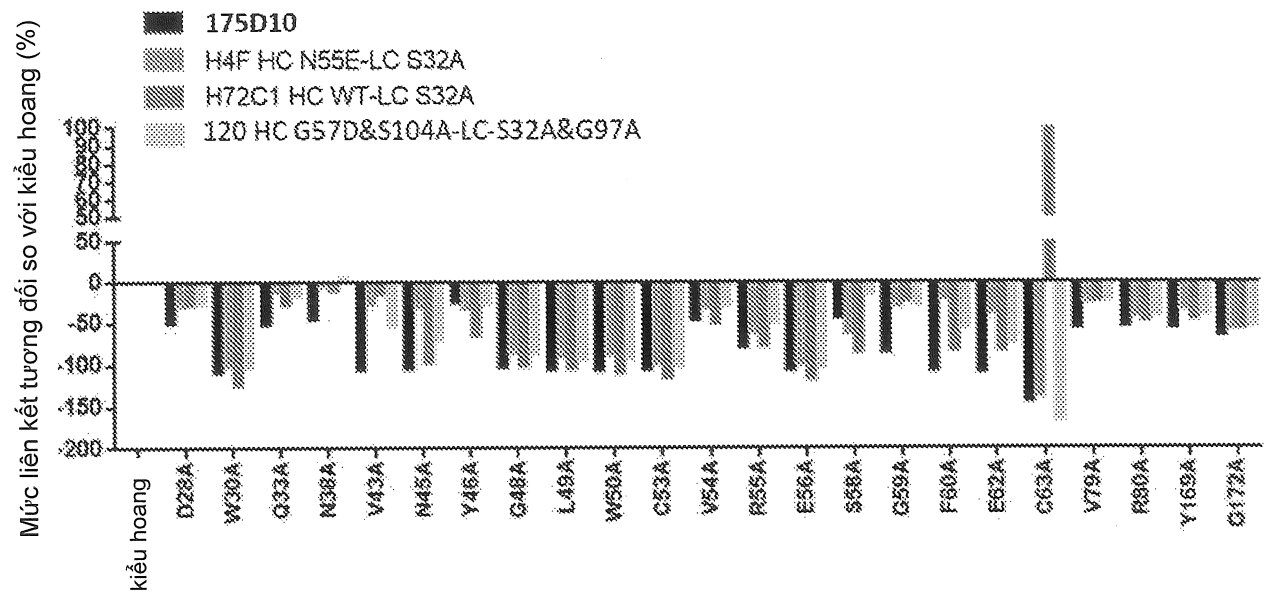
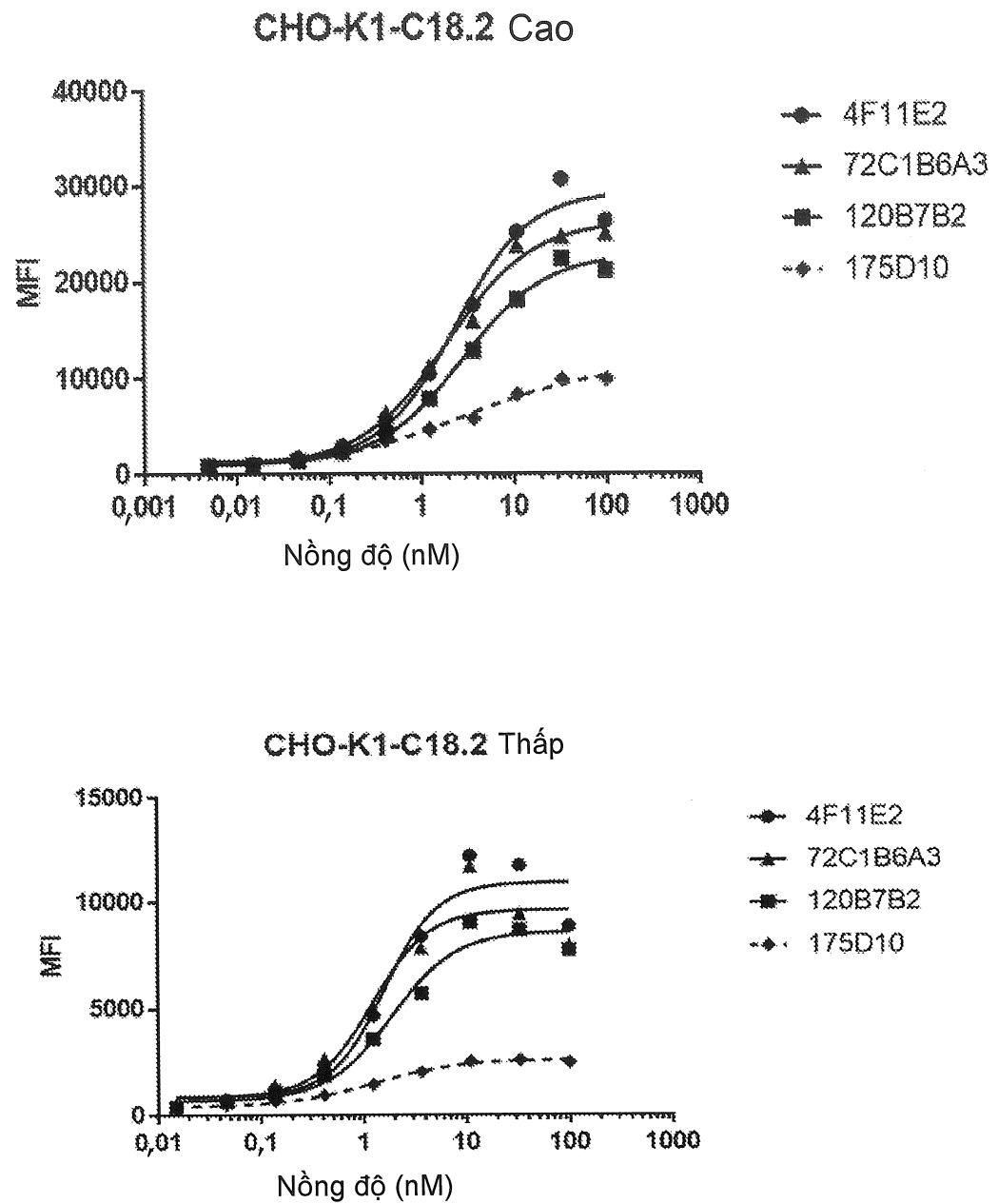
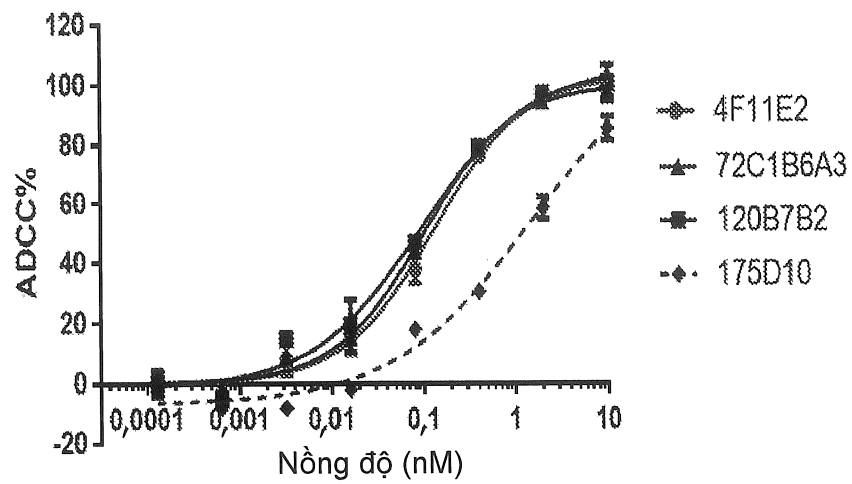
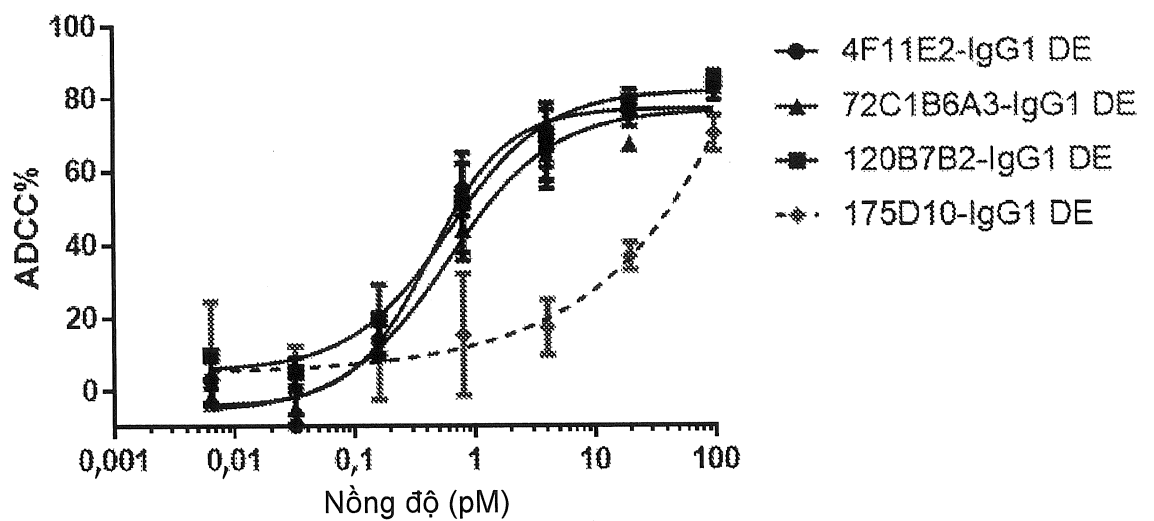


FIG. 15

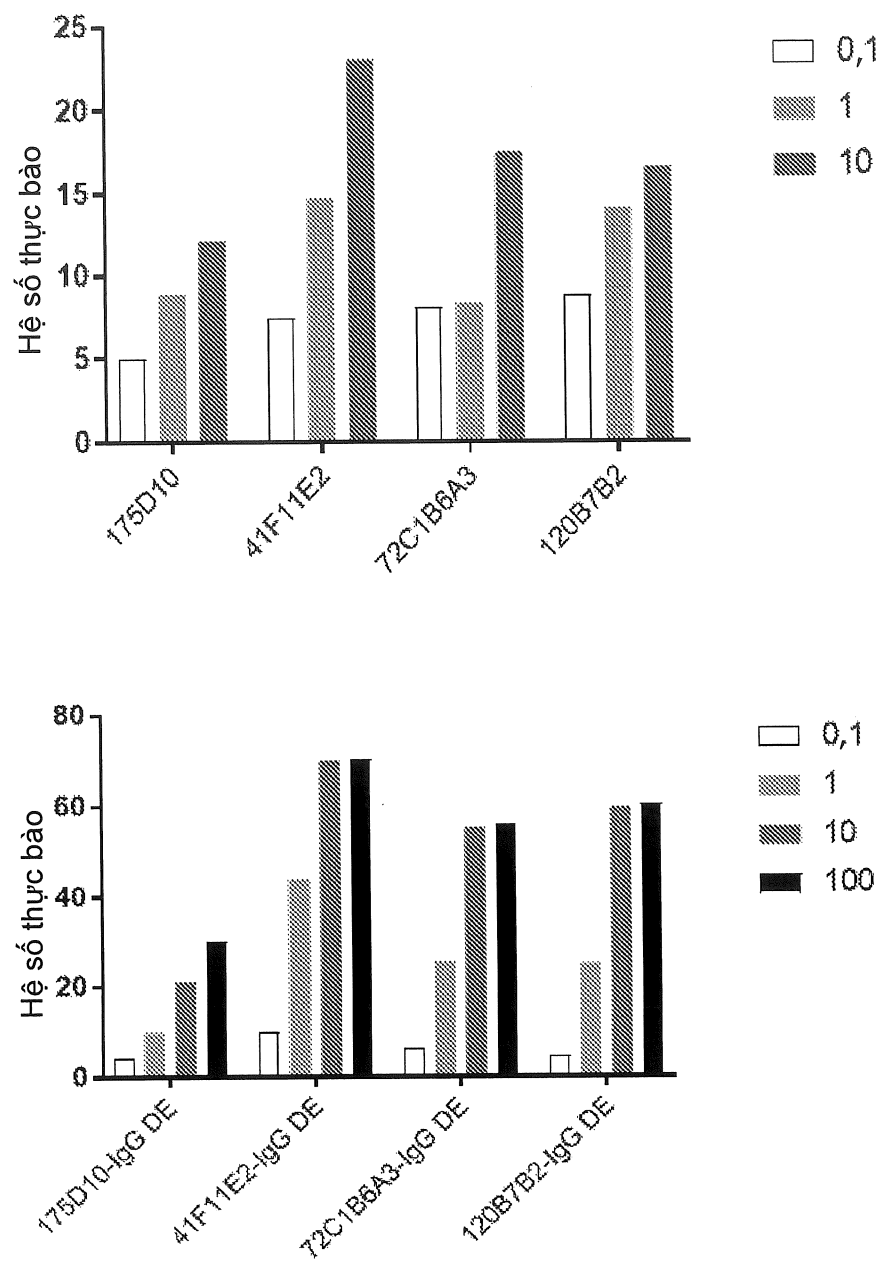
9/18

**FIG. 16**

10/18

**FIG. 17****FIG. 18**

11/18

**FIG. 19**

12/18

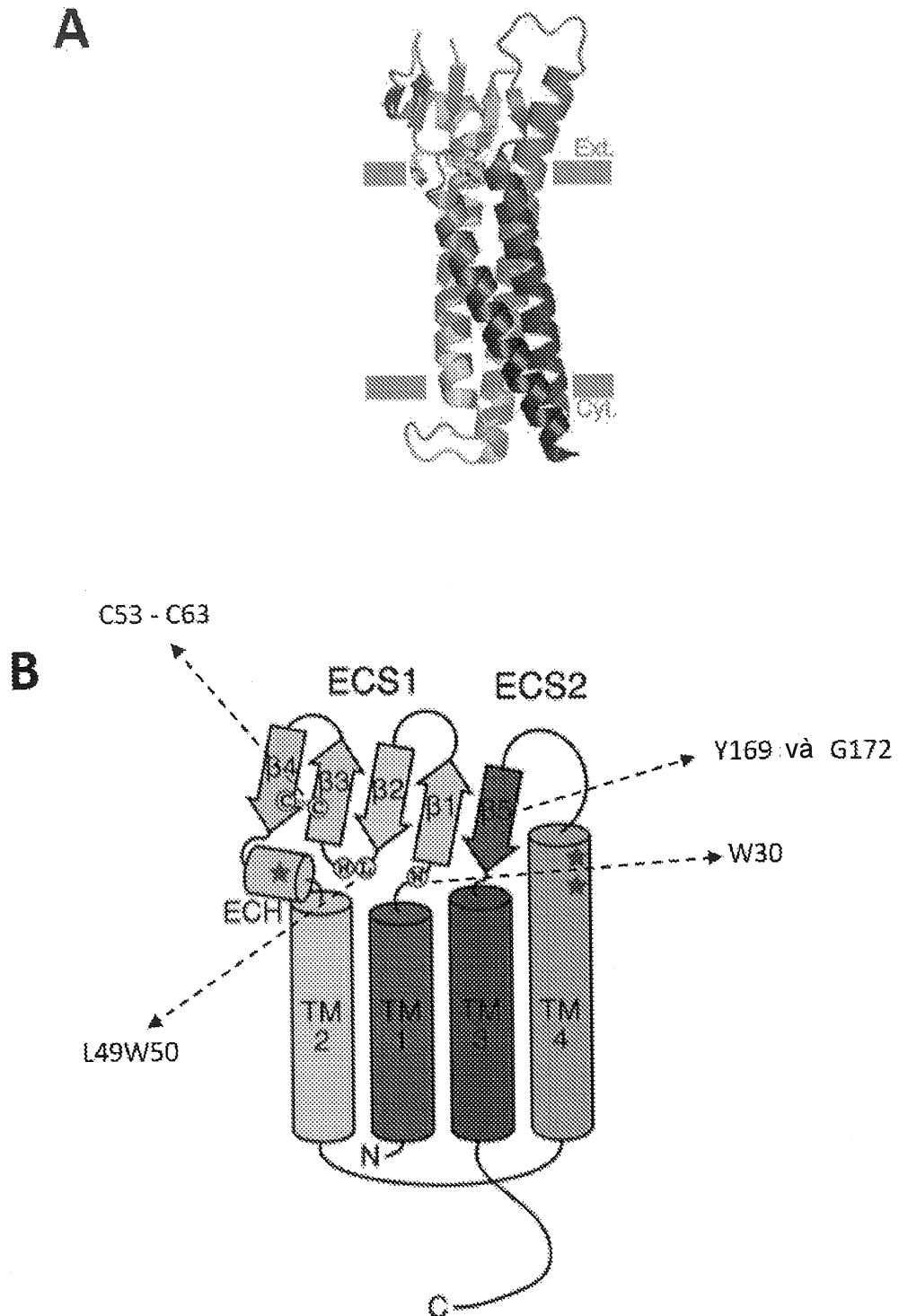


FIG. 20

13/18

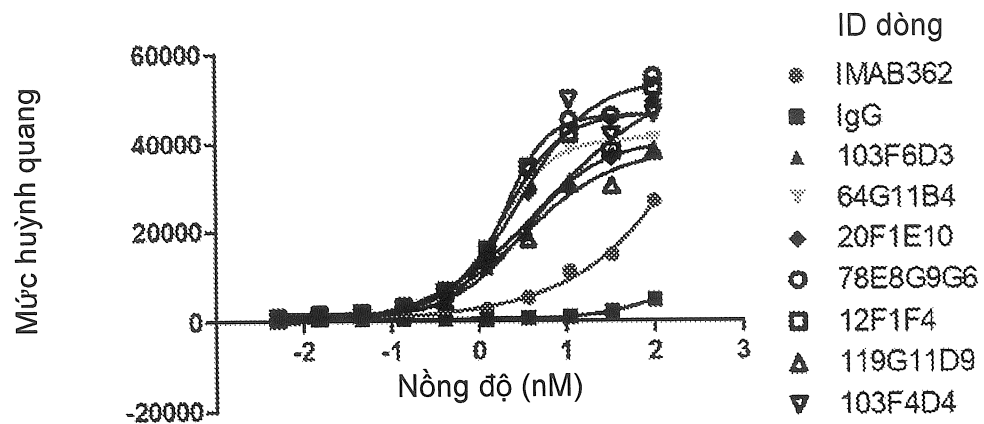


FIG. 21

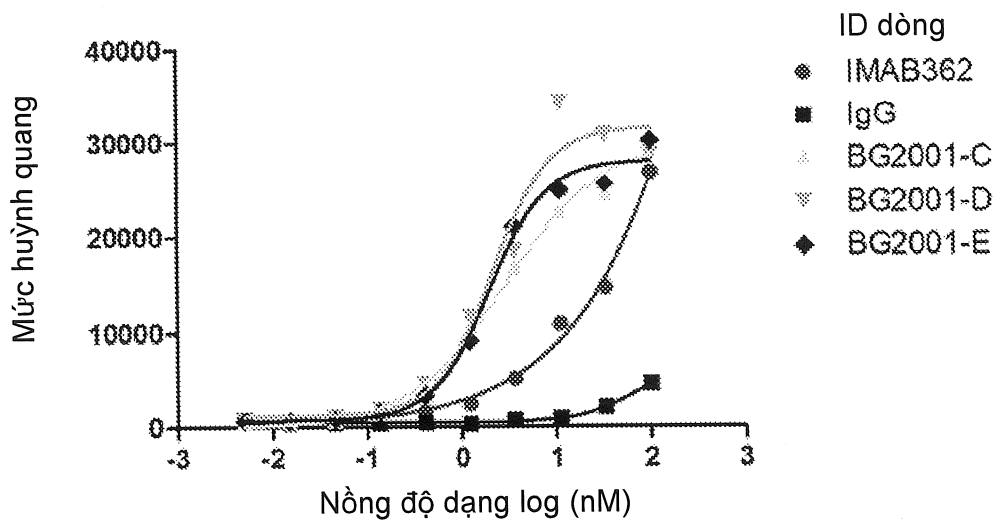
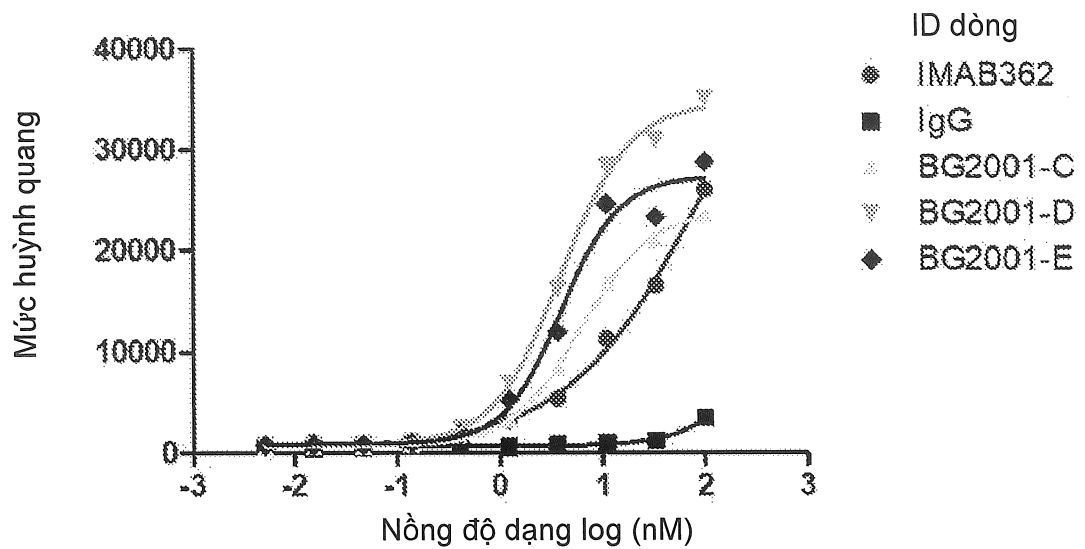
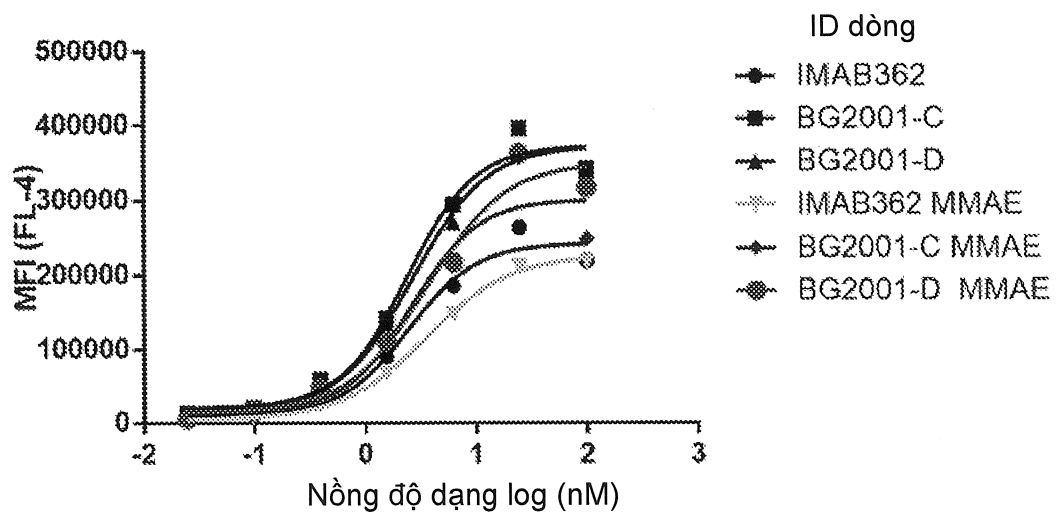


FIG. 22

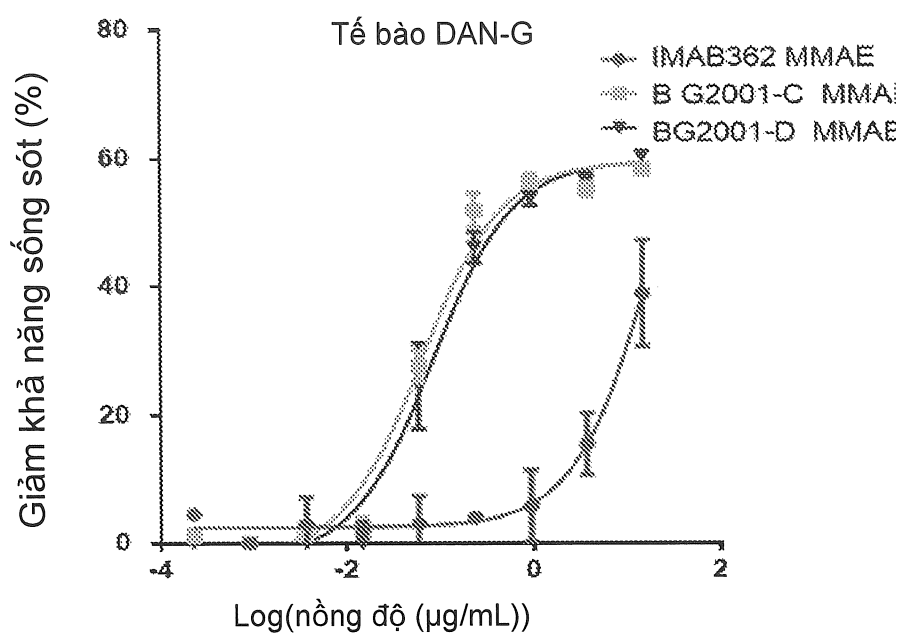
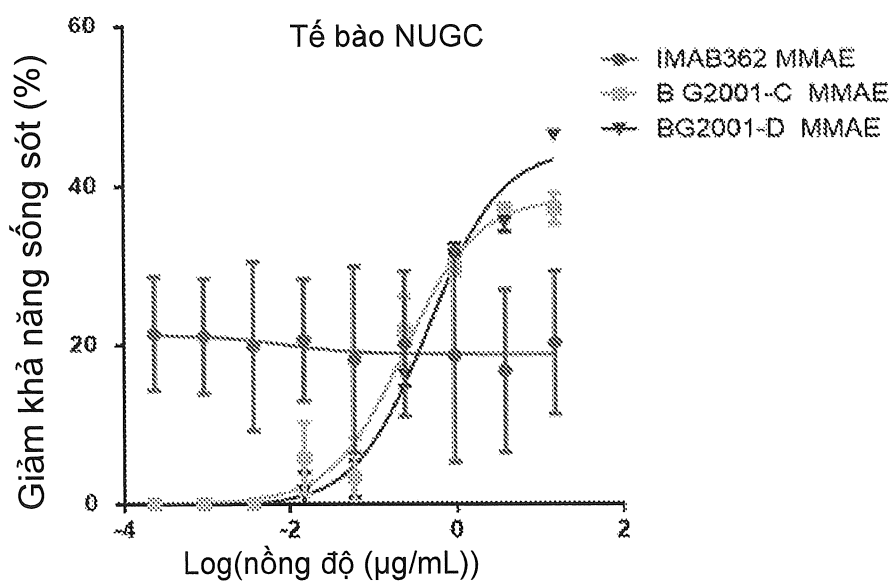
14/18

**FIG. 23**

Đường cong: Hiệu chỉnh không tuyến tính chuyển đổi dữ liệu 1

**FIG. 24**

15/18

**FIG. 25A****FIG. 25B**

16/18

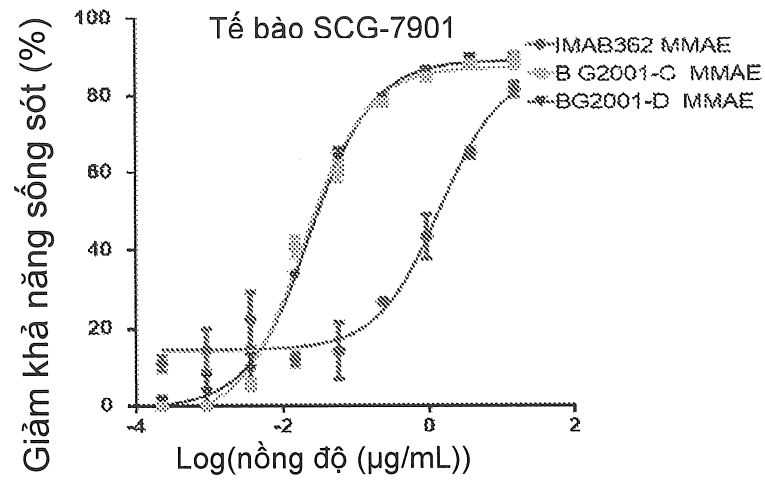


FIG. 25C

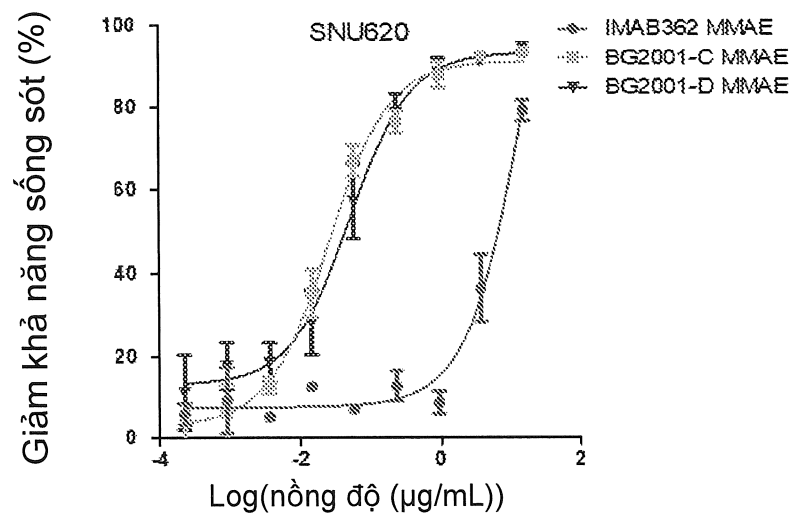
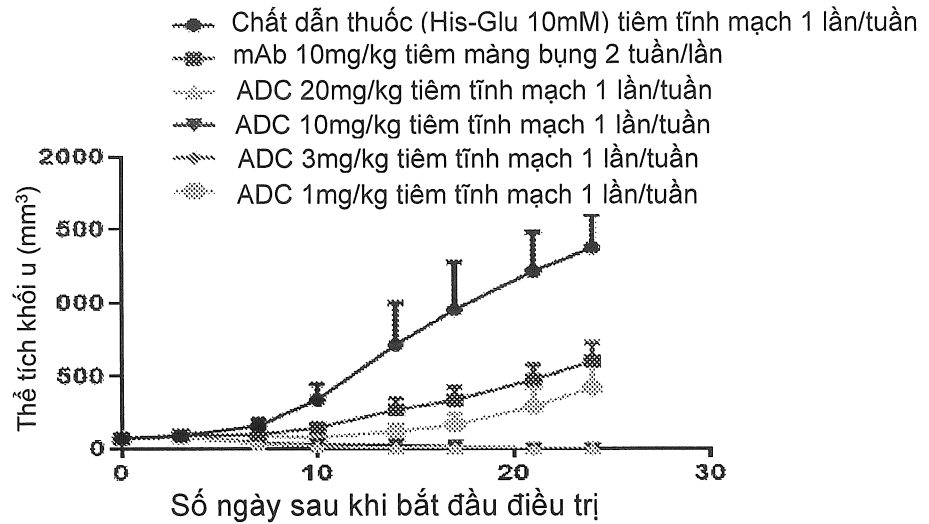


FIG. 26

17/18

Đường cong độ tăng trưởng khối u



Trọng lượng cơ thể

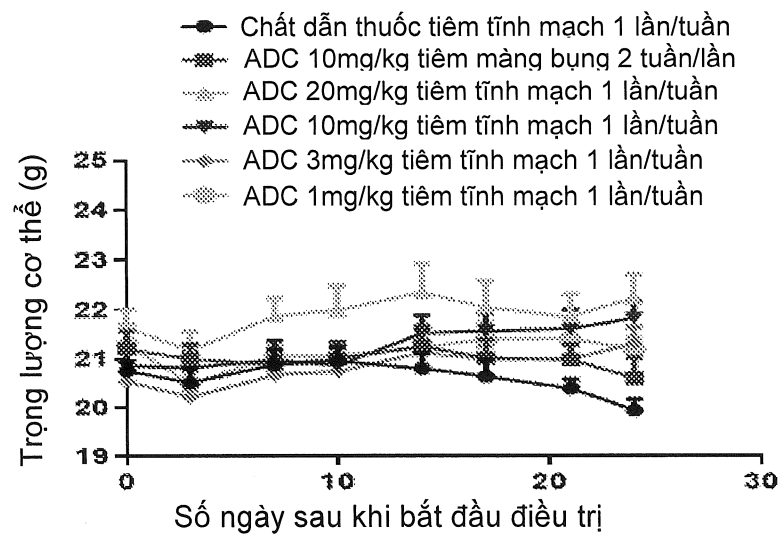
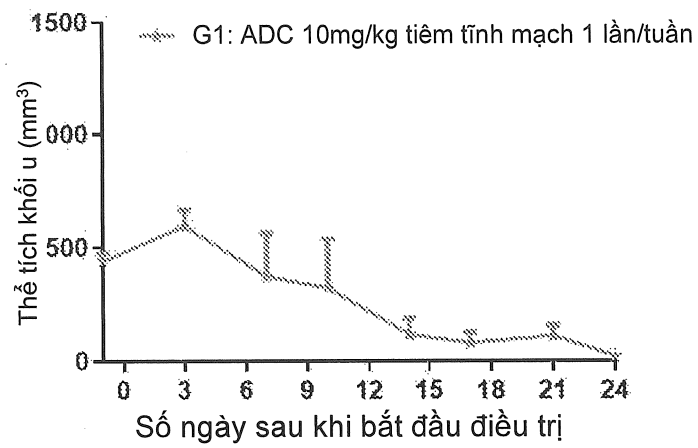


FIG. 27

18/18

Đường cong tăng trưởng của khối u



Đường cong tăng trưởng của khối u riêng lẻ

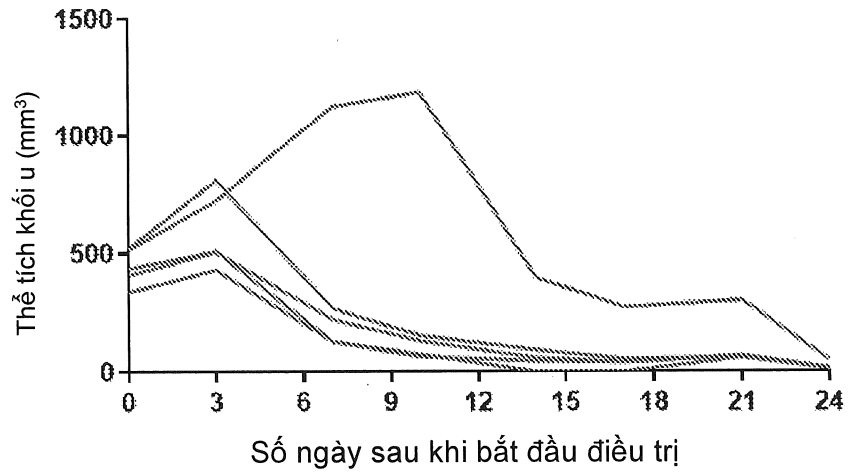


FIG. 28

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> LANOVA MEDICINES LIMITED COMPANY

<120> Thể liên hợp kháng thể-dược chất nhắm đích Claudin 18.2 và dược phẩm chứa thể liên hợp này

<130> 70LG308092-WO2

<150> PCT/CN2019/115760

<151> 2019-11-05

<160> 314

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 1

Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Lys	Asn	Tyr
1				5					10		

<210> 2

<211> 4

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<220>

<221> X

<222> (4)..(4)

<223> Trống

<400> 2

Trp Ala Ser Xaa

1

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 3

Gln Asn Gly Tyr Tyr Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 4

Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Ile
1 5

<210> 5

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 5

Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr
1 5

<210> 6

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 6

Ala Arg Ala Tyr Phe Gly Asn Ser Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 7

<211> 4

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<220>

<221> X

<222> (4)..(4)

<223> Trồng

<400> 7

Arg Ala Ser Xaa

1

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 8

Gln Asn Asp Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr

1

5

<210> 9

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 9

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Pro

1

5

<210> 10

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 10

Phe His Pro Tyr Asn Asp Asp Thr
1 5

<210> 11
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 11

Ala Arg Arg Ala Tyr Gly Tyr Pro Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

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

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 12

Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Arg Lys Asn Tyr
1 5 10

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 13

Gln Asn Ala Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 14
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 14

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe Gly
1 5

<210> 15

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 15

Ile Thr Ser Gly Asn Ser Pro Ile
1 5

<210> 16

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 16

Ala Arg Ser Ser Tyr Tyr Gly Asn Ser Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 17

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 17

Gln Ser Leu Leu Asn Ala Gly Asn Gln Lys Asn Tyr
1 5 10

<210> 18

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 18

Gln Ser Leu Leu Glu Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr
1 5 10

<210> 19

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 19

Gln Asn Ala Tyr Tyr Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 20

Gln Glu Gly Tyr Tyr Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 21

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 21

Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Asp Thr
1 5

<210> 22

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 22

Ala	Arg	Ala	Tyr	Phe	Gly	Asn	Ala	Phe	Ala	Tyr
1				5					10	

<210> 23

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 23

Gln	Ser	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Asn	Arg	Lys	Asn	Tyr
1				5					10		

<210> 24

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 24

Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ala	Gly	Asn	Arg	Lys	Asn	Tyr
1				5					10		

<210> 25

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 25

Ile	Thr	Ser	Gly	Gln	Ser	Pro	Ile
1				5			

<210> 26

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

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 26

Ile Thr Ser Gly Glu Ser Pro Ile
1 5

<210> 27
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 27

Ala Arg Ser Ser Tyr Tyr Gly Gln Ser Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 28
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 28

Ala Arg Ser Ser Tyr Tyr Gly Glu Ser Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 29
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 29

Ala Arg Ser Ser Tyr Tyr Gly Asn Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 30
 <211> 261
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 30

Met Ala Val Thr Ala Cys Gln Gly Leu Gly Phe Val Val Ser Leu Ile
 1 5 10 15

Gly Ile Ala Gly Ile Ile Ala Ala Thr Cys Met Asp Gln Trp Ser Thr
 20 25 30

Gln Asp Leu Tyr Asn Asn Pro Val Thr Ala Val Phe Asn Tyr Gln Gly
 35 40 45

Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Glu Ser Ser Gly Phe Thr Glu Cys Arg
 50 55 60

Gly Tyr Phe Thr Leu Leu Gly Leu Pro Ala Met Leu Gln Ala Val Arg
 65 70 75 80

Ala Leu Met Ile Val Gly Ile Val Leu Gly Ala Ile Gly Leu Leu Val
 85 90 95

Ser Ile Phe Ala Leu Lys Cys Ile Arg Ile Gly Ser Met Glu Asp Ser
 100 105 110

Ala Lys Ala Asn Met Thr Leu Thr Ser Gly Ile Met Phe Ile Val Ser
 115 120 125

Gly Leu Cys Ala Ile Ala Gly Val Ser Val Phe Ala Asn Met Leu Val
 130 135 140

Thr Asn Phe Trp Met Ser Thr Ala Asn Met Tyr Thr Gly Met Gly Gly
 145 150 155 160

Met Val Gln Thr Val Gln Thr Arg Tyr Thr Phe Gly Ala Ala Leu Phe
 165 170 175

Val Gly Trp Val Ala Gly Gly Leu Thr Leu Ile Gly Gly Val Met Met
180 185 190

Cys Ile Ala Cys Arg Gly Leu Ala Pro Glu Glu Thr Asn Tyr Lys Ala
195 200 205

Val Ser Tyr His Ala Ser Gly His Ser Val Ala Tyr Lys Pro Gly Gly
210 215 220

Phe Lys Ala Ser Thr Gly Phe Gly Ser Asn Thr Lys Asn Lys Lys Ile
225 230 235 240

Tyr Asp Gly Gly Ala Arg Thr Glu Asp Glu Val Gln Ser Tyr Pro Ser
245 250 255

Lys His Asp Tyr Val
260

<210> 31
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 31

Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Arg Asn Tyr
1 5 10

<210> 32
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 32

Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Leu Lys Asn Tyr
1 5 10

<210> 33

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 33

Gln Ser Leu Leu Asn Gly Gly Asn Gln Lys Asn Tyr
 1 5 10

<210> 34
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 34

Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Lys Tyr
 1 5 10

<210> 35
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 35

Gln Ser Leu Phe Asn Ser Gly Asn Gln Arg Asn Tyr
 1 5 10

<210> 36
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 36

Met Ser Leu Phe Asn Ser Gly Asn Gln Lys Ser Tyr
 1 5 10

<210> 37
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 37

Gln	Ser	Leu	Phe	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Lys	Asn	Tyr
1				5					10		

<210> 38
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 38

Gln	Ser	Val	Phe	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Lys	Asn	Tyr
1				5					10		

<210> 39
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<220>
 <221> X
 <222> (4)..(4)
 <223> Trống

<400> 39

Gly	Ala	Ser	Xaa
1			

<210> 40
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<220>
<221> X
<222> (4)..(4)
<223> Trồng

<400> 40

Trp Ala Phe Xaa
1

<210> 41
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<220>
<221> X
<222> (4)..(4)
<223> Trồng

<400> 41

Trp Ser Ser Xaa
1

<210> 42
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 42

Gln Asn Asp Tyr Phe Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 43

Gln Asn Val Tyr Ile Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 44

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 44

Gln Asn Asp Tyr Tyr Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 45

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 45

Gln Asn Asp Leu Tyr Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 46

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 46

Gln Asn Gly Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 47

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 47

Gln Asn Asn Tyr Tyr Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 48

Gln Asn Val Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 49

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 49

Gln Asn Ser Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 50

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 50

Gln Asn Asn Phe Ile Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 51

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

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 51

His Asn Asp Tyr Ile Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 52
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 52

Gln Asn Asn Tyr Tyr Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 53

Gln Asn Ala Tyr Tyr Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 54

Gln Asn Ala Tyr Phe Tyr Pro Cys Thr
1 5

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 55

Gln Asn Asp Tyr Tyr Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 56
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 56

Gln Asn Ala Tyr Phe Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 57
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 57

Gln Asn Asn Tyr Phe Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 58

Gln Asn Asn Tyr Ile Tyr Pro Leu Ala

1

5

<210> 59
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 59

Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Leu
1 5

<210> 60
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 60

Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr Gly
1 5

<210> 61
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 61

Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe Gly
1 5

<210> 62
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 62

Gly Phe Thr Phe Asn Thr Asn Ala
1 5

<210> 63
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 63

Gly Tyr Thr Phe Pro Thr Tyr Ser
1 5

<210> 64
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 64

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly
1 5

<210> 65
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 65

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly
1 5

<210> 66
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 66

Gly Tyr Thr Phe Thr Lys Tyr Gly
1 5

<210> 67

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 67

Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr Gly
1 5

<210> 68

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 68

Gly Leu Ser Leu Thr Ser Phe Gly
1 5

<210> 69

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 69

Gly Phe Ser Leu Ile Ser Tyr Gly
1 5

<210> 70

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 70

Gly Phe Ser Leu Asn Thr Tyr Gly
1 5

<210> 71
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 71

Gly Phe Ser Leu Ile Asn Tyr Gly
1 5

<210> 72
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 72

Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Phe Leu
1 5

<210> 73
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 73

Asp Phe Ser Leu Thr Lys Tyr Gly
1 5

<210> 74
<211> 9
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 74

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly Tyr Phe
1 5

<210> 75

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 75

Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr Gly
1 5

<210> 76

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 76

Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Phe Leu
1 5

<210> 77

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 77

Ile Asn Pro Gly Asn Gly Gly Ser
1 5

<210> 78

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

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 78

Ile Trp Gly Asp Gly Asn Thr
1 5

<210> 79
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 79

Ile Ser Gly Gly Ser Asn Thr Ile
1 5

<210> 80
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 80

Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr
1 5 10

<210> 81
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 81

Ile Asn Pro Gly Asn Gly Gly Ser Asn
1 5

<210> 82
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 82

Ile Asn Pro Ser Thr Ile Tyr Thr
1 5

<210> 83
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 83

Phe Ser Tyr Gly Asp Ser His Asn
1 5

<210> 84
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 84

Ile Asn Ala Asn Thr Gly Glu Pro
1 5

<210> 85
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 85

Ile Ser Thr Asn Thr Gly Glu Pro

1

5

<210> 86
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 86

Ile Asn Pro Gly Arg Ser Gly Thr
1 5

<210> 87
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 87

Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 88
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 88

Ile Trp Ala Gly Gly Arg Thr
1 5

<210> 89
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 89

Met Leu Ser Asp Gly Asn Thr
1 5

<210> 90
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 90

Ile Arg Gly Asp Gly Asn Thr
1 5

<210> 91
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 91

Ile Trp Thr Gly Gly Asn Thr
1 5

<210> 92
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 92

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn
1 5

<210> 93
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 93

Ile Trp Ala Gly Gly Asn Thr
1 5

<210> 94

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 94

Ile Asn Pro Thr Asn Gly Arg Thr
1 5

<210> 95

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 95

Ile Asn Pro Asn Thr Ile Tyr Thr
1 5

<210> 96

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 96

Ala Arg Ile Tyr Tyr Gly Asn Ser Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 97

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 97

Ala Lys Gln Gly Leu Tyr Gly His Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 98

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 98

Thr Arg Leu Ala Leu Gly Asn Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 99

<211> 14

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 99

Val Ser Gly Ala Tyr Tyr Gly Asn Ser Lys Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 100

<211> 13

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 100

Ala Arg Glu Gly Tyr Gly Arg Gly Asn Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 101

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 101

Ala	Arg	Phe	Gly	Arg	Gly	Asn	Thr	Met	Asp	Tyr
1				5					10	

<210> 102

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 102

Ala	Arg	Leu	Thr	Arg	Gly	Asn	Ser	Phe	Asp	Tyr
1				5					10	

<210> 103

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 103

Ala	Arg	Leu	Val	Arg	Gly	Asn	Ser	Phe	Asp	Phe
1				5					10	

<210> 104

<211> 12

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 104

Ala	Arg	Thr	Arg	Tyr	Gly	Gly	Asn	Ala	Met	Asp	Tyr
1				5					10		

<210> 105

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

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 105

Ala	Arg	Ser	Leu	Tyr	Gly	Asn	Ser	Leu	Asp	Ser
1				5					10	

<210> 106
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 106

Ala	Arg	Ser	Leu	Tyr	Gly	Asn	Ser	Phe	Asp	Tyr
1				5					10	

<210> 107
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 107

Ala	Arg	Asp	Arg	Tyr	Gly	Gly	Asn	Ser	Leu	Asp	Tyr
1				5					10		

<210> 108
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 108

Ala	Arg	His	Lys	Ala	Tyr	Gly	Asn	Ala	Met	Asp	Tyr
1				5					10		

<210> 109
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 109

Ala	Lys	Val	Gly	Arg	Gly	Asn	Ala	Met	Asp	His
1				5					10	

<210> 110
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 110

Ala	Arg	Leu	Asp	Tyr	Gly	Asn	Ala	Met	Asp	Tyr
1				5					10	

<210> 111
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 111

Ala	Arg	Asn	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Asn	Ala	Met	Asp	Tyr
1				5					10		

<210> 112
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 112

Gly Arg Leu Asp Tyr Gly Asn Ala Met Asp Tyr

1

5

10

<210> 113
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 113

Ala Ser Phe Arg Phe Phe Ala Tyr
 1 5

<210> 114
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 114

Ala Arg His Gly Tyr Gly Lys Gly Asn Ala Met Asp Asn
 1 5 10

<210> 115
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 115

Ala Arg Ile Tyr Tyr Gly Asn Ser Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 116
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 116

Ala Arg Ser Leu Tyr Gly Asn Ser Phe Asp His
 1 5 10

<210> 117
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 117

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Arg Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Asp Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Asp Tyr Phe Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ala Gly Thr Asn Leu Glu Leu
 100 105 110

Lys

<210> 118
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 118

Asp Ile Met Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Thr Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Leu Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Leu Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly His
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Val Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Thr Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Val Tyr Ile Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Met
 100 105 110

Arg

<210> 119

<211> 113

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 119

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45
 Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Tyr Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Val Gln Ala Ala Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95
 Asp Tyr Tyr Phe Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110

Lys

<210> 120
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 120

Asp Thr Val Met Thr Gln Phe Pro Ser Ser Leu Ser Val Ser Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Gly
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

85

90

95

Asp Leu Tyr Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Phe
 100 105 110

Lys

<210> 121

<211> 113

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 121

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Ile Met Ser Cys Lys Ser Asn Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Lys Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Glu Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Arg Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Gly Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Met
 100 105 110

Lys

<210> 122

<211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 122

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Gly Lys Val Thr Val Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Thr Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Asn Tyr Tyr Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
 100 105 110

Lys

<210> 123
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 123

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Arg Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Thr
65 70 75 80

Ile Thr Lys Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Val Tyr Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110

Lys

<210> 124
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 124

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Ser Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Val Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Asp Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met
100 105 110

Asn

<210> 125
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 125

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Thr Leu Leu Ile Phe Trp Ala Phe Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Asn Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Ser Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 126
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 126

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Arg Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Trp Ser Ser Thr Arg Asp Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Asn Phe Ile Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
 100 105 110

Lys

<210> 127
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 127

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Arg Ser Ser Met Ser Leu Phe Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Ser Tyr Leu Ser Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Asp Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Val Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys His Asn
 85 90 95

Asp Tyr Ile Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
 100 105 110

Lys

<210> 128

<211> 113

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 128

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Asn Cys Arg Ser Ile Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45
 Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Arg Ser Val Leu Asp Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95
 Ser Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Met
 100 105 110

Lys

<210> 129
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 129

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Arg Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Tyr Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

85

90

95

Ala Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Lys
 100 105 110

Lys

<210> 130

<211> 113

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 130

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Arg Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Arg Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Tyr Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Val Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Ala Tyr Tyr Phe Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Lys
 100 105 110

Lys

<210> 131

<211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 131

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Arg
 1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Met Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Arg Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ser Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Phe Cys Gln Asn
 85 90 95

Asn Tyr Tyr Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110

Lys

<210> 132
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 132

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Met Arg Cys Arg Ser Thr Gln Ser Leu Phe Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Ala Tyr Tyr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Arg
100 105 110

Lys

<210> 133
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 133

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Pro Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Leu Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Ala Tyr Phe Tyr Pro Cys Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met
100 105 110

Lys

<210> 134
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 134

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Arg Cys Arg Ser Thr Gln Ser Leu Phe Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Arg Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Ala Tyr Tyr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Val Gly Thr Lys Leu Glu Arg
100 105 110

Lys

<210> 135
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 135

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Leu Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Lys Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Ala Tyr Phe Tyr Pro Cys Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Met
 100 105 110

Lys

<210> 136
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 136

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Thr Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Phe Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Val Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Ala Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Val Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Asp Tyr Tyr Phe Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Arg Leu Glu Leu
 100 105 110

Lys

<210> 137

<211> 113

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 137

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Gln Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Leu Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Gly
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45
 Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Tyr Phe Thr Phe Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95
 Ala Tyr Phe Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
 100 105 110

Lys

<210> 138
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 138

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

85

90

95

Ala Tyr Phe Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110

Lys

<210> 139

<211> 113

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 139

Asp Ile Leu Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Asn Tyr Phe Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Val Gly Thr Lys Leu Glu Leu
 100 105 110

Lys

<210> 140

<211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 140

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Thr Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Tyr Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Asn Tyr Ile Tyr Pro Leu Ala Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Glu Leu
 100 105 110

Lys

<210> 141
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 141

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Met Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Gly Gln Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Phe Cys Gln Asn
85 90 95

Gly Tyr Tyr Phe Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Thr
100 105 110

Lys

<210> 142
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 142

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Arg Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Arg Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Asn Tyr Ile Tyr Pro Leu Ala Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110

Lys

<210> 143
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 143

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Asn Tyr Ile Tyr Pro Leu Ala Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110

Lys

<210> 144
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 144

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Arg Cys Lys Ser Thr Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Arg Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Glu Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Ala Tyr Tyr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Arg
 100 105 110

Lys

<210> 145
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 145

Gln Val Gln Leu His Gln Ser Gly Thr Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Leu Leu Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Gly Asn Gly Gly Ser Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Val Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Ile Tyr Tyr Gly Asn Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 146

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 146

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
20 25 30

Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35

40

45

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Asn Thr Ile Tyr His Ser Ala Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Arg Gln Val Phe Leu
65 70 75 80

Lys Val Asn Ser Leu Gln Ile Asp Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Gln Gly Leu Tyr Gly His Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Ile Val Ser Ser
115

<210> 147

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 147

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Arg Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Phe Ile Ser Gly Gly Ser Asn Thr Ile His Tyr Leu Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Pro Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95
 Thr Arg Leu Ala Leu Gly Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Ser Val Ile Val Ser Ser
 115
 <210> 148
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Tổng hợp
 <400> 148
 Glu Val Gln His Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Asn
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Met
 65 70 75 80
 Leu Tyr Val Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Ser Gly Ala Tyr Tyr Gly Asn Ser Lys Ala Phe Asp Tyr
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
 115 120
 <210> 149

<211> 120
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 149

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Pro Thr Tyr
 20 25 30

Ser Ile His Trp Leu Lys Gln Gly Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Thr Ile Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

Lys Tyr Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Glu Gly Tyr Gly Arg Gly Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 150
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 150

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Phe Ser Tyr Gly Asp Ser His Asn Tyr Tyr Ser Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ile Ala Lys Asp Ala Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Phe Gly Arg Gly Asn Thr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Leu
115

<210> 151
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 151

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Arg 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

Ala Trp Ile Asn Ala Asn Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Glu Glu Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Arg Ser Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Thr Arg Gly Asn Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 152

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 152

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 Lys Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Ser Thr Asn Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Glu Glu Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Phe
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 Leu Val Arg Gly Asn Ser Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Ile
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 153
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 153

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Gly Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
20 25 30

Pro Ile Glu Trp Met Lys Gln Asn His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asn Phe His Pro Tyr Asn Asp Asp Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Lys Leu Thr Val Glu Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Val Ser Arg Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Ala Tyr Gly Tyr Pro Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 154
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 154

Gln Val His Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Arg Pro Gly Thr
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Leu Ile Glu Trp Ile Lys Lys Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Gly Arg Ser Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Thr Arg Tyr Gly Gly Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 155

<211> 117

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 155

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Gln Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Ala Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45
 Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Asp Ser Ala Leu Met
 50 55 60
 Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Arg Thr Arg Val Phe Leu
 65 70 75 80
 Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Ser Leu Tyr Gly Asn Ser Leu Asp Ser Trp Gly Pro Gly Thr Thr
 100 105 110
 Leu Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 156
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Tổng hợp
 <400> 156
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Leu Ser Leu Thr Ser Phe
 20 25 30
 Gly Val His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45
 Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met
 50 55 60
 Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Lys Met His Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95
 Arg Ser Leu Tyr Gly Asn Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ala
 100 105 110
 Leu Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 157
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Tổng hợp
 <400> 157
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Val Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45
 Ala Ala Ile Arg Ser Asp Gly Ile Ile Thr Tyr Asn Ser Val Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Leu Arg Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
 65 70 75 80
 Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Phe Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Trp Phe Arg Gly Asn Val Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 158

<211> 118
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 158

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ile Ser Tyr
 20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45

Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met
 50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
 65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Asp Arg Tyr Gly Gly Asn Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 159
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 159

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Arg Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Thr Ser Gly Asn Ser Pro Ile Tyr Phe Thr Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Pro Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Thr Ser Leu Gly Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Ser Tyr Tyr Gly Asn Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 160

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 160

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Ile Ser Gly Phe Ser Leu Asn Thr Tyr
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Val Val Met Leu Ser Asp Gly Asn Thr Val Tyr Asn Ser Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Leu Thr Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Leu Leu Leu
65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg His Lys Ala Tyr Gly Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 161
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 161

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ile Asn Tyr
20 25 30

Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Gly Asp Gly Asn Thr Asn Tyr Gln Ser Ala Leu Arg
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Arg Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80

Lys Leu Asn Ser Val His Thr Asp Gly Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Val Gly Arg Gly Asn Ala Met Asp His Trp Gly Gln Gly Ile Ser
100 105 110

Val Ile Val Ser Ser
115

<210> 162
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 162

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ile Asn Tyr
20 25 30

Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Arg Gly Asp Gly Asn Thr Asn Tyr Gln Ser Ala Leu Arg
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Arg Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80

Lys Leu Asn Ser Val His Thr Asp Gly Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Lys Val Gly Arg Gly Asn Ala Met Asp His Trp Gly Gln Gly Ile Ser
100 105 110

Val Ile Val Ser Ser
115

<210> 163
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 163

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Phe
20 25 30

Leu Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Phe
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Asp Tyr Gly Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 164

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 164

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Asp Phe Ser Leu Thr Lys Tyr
20 25 30

Gly Val His Trp Phe Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45
 Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Pro Ala Leu Ile
 50 55 60
 Pro Arg Leu Ser Phe Arg Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe
 65 70 75 80
 Lys Met Asn Ser Leu Gln Ser Ser Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Asn Gly Tyr Tyr Gly Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Ser Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 165
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Tổng hợp
 <400> 165
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ser Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Phe
 20 25 30
 Leu Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Ser Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
 Gly Arg Leu Asp Tyr Gly Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

 Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

 <210> 166
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

 <220>
 <223> Tổng hợp

 <400> 166

 Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15

 Ser Leu Ser Leu Ser Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
 20 25 30

 Tyr Phe Trp Thr Trp Phe Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
 35 40 45

 Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

 Lys Asn Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
 65 70 75 80

 Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
 85 90 95

 Ala Ser Phe Arg Phe Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

 Val Ser Ala
 115

 <210> 167

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 167

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Tyr
 20 25 30

Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45

Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met
 50 55 60

Ser Arg Leu Arg Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
 65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg His Gly Tyr Gly Lys Gly Asn Ala Met Asp Asn Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 168
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 168

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Pro Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Phe
20 25 30

Leu Thr His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Thr Asn Gly Arg Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Arg Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Asn Leu Thr Pro Glu Asp Ser Ala Val Phe Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ile Tyr Tyr Gly Asn Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 169
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 169

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Pro Thr Tyr
20 25 30

Ser Ile His Trp Leu Lys Gln Gly Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Asn Thr Ile Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Tyr Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Ile Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Gly Tyr Gly Arg Gly Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 170
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 170

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Thr Gly Phe Ser Leu Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Asp Ser Ala Leu Met
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Arg Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80

Lys Met Thr Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ser Leu Tyr Gly Asn Ser Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 171
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 171

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Ile Ile Gln Trp Met Lys Gln Lys Pro Gly Leu Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Gln Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Asn Ala Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Tyr Phe Gly Asn Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 172
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 172

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Asp Ser Thr Leu Met
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Arg Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80

Lys Met Thr Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ser Leu Tyr Gly Asn Ser Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 173

<211> 117

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 173

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
20 25 30

Gly Ala His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45
 Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Asp Ser Ala Leu Met
 50 55 60
 Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Arg Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
 65 70 75 80
 Lys Met Thr Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Ser Leu Tyr Gly Asn Ser Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110
 Leu Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 174
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Tổng hợp
 <400> 174
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Phe
 20 25 30
 Leu Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Ser Glu Arg Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
 Ala Arg Leu Asp Tyr Gly Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Ser Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 175
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Tổng hợp
 <400> 175
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Thr Ser Gly Asn Ser Pro Ile Tyr Phe Thr Asp Thr Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Ser Tyr Tyr Gly Asn Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 176

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 176

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Tyr Ile Thr Ser Gly Asn Ser Pro Ile Tyr Phe Thr Asp Thr Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Ser Ser Tyr Tyr Gly Asn Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 177
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 177

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Thr Ser Gly Asn Ser Pro Ile Tyr Phe Thr Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Ser Tyr Tyr Gly Asn Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 178
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 178

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Arg Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Ala Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 179
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 179

Asp Thr Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Arg Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Ala Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 180
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 180

Asp Thr Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Leu Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Arg Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Ala Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110

Lys

<210> 181
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 181

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30

Pro Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Asn Phe His Pro Tyr Asn Asp Asp Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Arg Ala Tyr Gly Tyr Pro Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 182

<211> 120

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 182

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30

Pro Ile Glu Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met

35 40 45
 Gly Asn Phe His Pro Tyr Asn Asp Asp Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Ala Tyr Gly Tyr Pro Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 183
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Tổng hợp
 <400> 183
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30
 Pro Ile Glu Trp Met Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Asn Phe His Pro Tyr Asn Asp Asp Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Val Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
 Ala Arg Arg Ala Tyr Gly Tyr Pro Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 184
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Tổng hợp
 <400> 184
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
 20 25 30
 Pro Ile Glu Trp Met Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Asn Phe His Pro Tyr Asn Asp Asp Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ala Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Glu Val Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Ala Tyr Gly Tyr Pro Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 185

<211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 185

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Ser Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Asp Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110

Lys

<210> 186
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 186

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Ser Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Asp Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110

Lys

<210> 187
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 187

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Ser Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Asp Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 188
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 188

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Ile Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Phe Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Gln Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Tyr Phe Gly Asn Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 189
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 189

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Ile Ile Gln Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Phe Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Gln Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ser Asp Thr Ser Ala Ser Ala Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Tyr Phe Gly Asn Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 190
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 190

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30

Ile Ile Gln Trp Met Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Phe Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Gln Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Ile Thr Ser Asp Thr Ser Ala Ser Ala Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Ala Tyr Phe Gly Asn Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 191

<211> 118

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 191

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30

Ile Ile Gln Trp Met Lys Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile

35 40 45
 Gly Phe Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Gln Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ser Asp Thr Ser Ala Ser Ala Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ala Tyr Phe Gly Asn Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 192
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Tổng hợp
 <400> 192
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30
 Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

85

90

95

Gly Tyr Tyr Phe Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110

Lys

<210> 193

<211> 113

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 193

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Met Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Gly Tyr Tyr Phe Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110

Lys

<210> 194

<211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 194

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Met Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Gly Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Phe Cys Gln Asn
 85 90 95

Gly Tyr Tyr Phe Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110

Lys

<210> 195
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 195

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Met Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Gly Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Phe Cys Gln Asn
85 90 95

Gly Tyr Tyr Phe Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 196
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 196

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Thr Ser Gly Gln Ser Pro Ile Tyr Phe Thr Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Ser Tyr Tyr Gly Asn Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 197
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 197

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Thr Ser Gly Glu Ser Pro Ile Tyr Phe Thr Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Ser Tyr Tyr Gly Asn Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 198
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 198

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Thr Ser Gly Glu Ser Pro Ile Tyr Phe Thr Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Ser Tyr Tyr Gly Gln Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 199
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 199

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Tyr Ile Thr Ser Gly Glu Ser Pro Ile Tyr Phe Thr Asp Thr Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Ser Ser Tyr Tyr Gly Glu Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 200

<211> 119

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 200

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45
 Ser Tyr Ile Thr Ser Gly Glu Ser Pro Ile Tyr Phe Thr Asp Thr Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Ser Tyr Tyr Gly Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 201
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Tổng hợp
 <400> 201
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Glu Ser
 20 25 30
 Gly Asn Arg Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn

85 90 95

Ala Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 202
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 202

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ala
20 25 30

Gly Asn Arg Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Ala Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 203

<211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 203

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ala
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Ser Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
 85 90 95

Asp Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110

Lys

<210> 204
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 204

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Glu Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Ser Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Asp Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 205
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 205

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Ile Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Phe Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Asp Thr Lys Tyr Asn Glu Gln Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Tyr Phe Gly Asn Ala Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 206
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 206

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ala
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Ala Tyr Tyr Phe Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 207
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 207

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Glu Ser
 20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Glu
 85 90 95

Gly Tyr Tyr Phe Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110

Lys

<210> 208
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 208

Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Arg	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Thr

<210> 209

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 209

Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ser	Gly	Asn	Leu	Lys	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Thr

<210> 210

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 210

Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Lys	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Thr

<210> 211

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 211

Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Gly	Gly	Asn	Gln	Lys	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Ala

<210> 212

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 212

Lys	Ser	Asn	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Lys	Lys	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Thr

<210> 213

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 213

Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Phe	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Arg	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Thr

<210> 214

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 214

Arg	Ser	Ser	Met	Ser	Leu	Phe	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Lys	Ser	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Ser

<210> 215

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 215

Arg	Ser	Ile	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Lys	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Ser

<210> 216

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 216

Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ser	Gly	Asn	Arg	Lys	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Thr

<210> 217

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 217

Arg	Ser	Thr	Gln	Ser	Leu	Phe	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Lys	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Thr

<210> 218

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 218

Lys	Pro	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Lys	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Ala

<210> 219

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 219

Arg	Ser	Thr	Gln	Ser	Leu	Phe	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Arg	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Thr

<210> 220

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 220

Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Lys	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Ala

<210> 221

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 221

Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Val	Phe	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Lys	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Thr

<210> 222

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 222

Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Gly	Gly	Asn	Gln	Lys	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Thr

<210> 223

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 223

Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Arg	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Ser

<210> 224

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 224

Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Phe	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Lys	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Thr

<210> 225

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 225

Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Phe	Asn	Ser	Gly	Asn	Gln	Arg	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Thr

<210> 226

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 226

Lys Ser Thr Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Arg Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Thr

<210> 227

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 227

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 228

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 228

Gly Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 229

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 229

Arg Ala Ser Ser Arg Glu Ser
1 5

<210> 230

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

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 230

Trp Ala Phe Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 231
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 231

Trp Ser Ser Thr Arg Asp Ser
1 5

<210> 232
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 232

Trp Ala Ser Thr Arg Asp Ser
1 5

<210> 233
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 233

Trp Ser Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 234
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 234

Asn Tyr Leu Leu Glu
1 5

<210> 235
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 235

Ser Tyr Gly Val Ser
1 5

<210> 236
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 236

Ser Phe Gly Met Asn
1 5

<210> 237
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 237

Thr Asn Ala Met Asn

1

5

<210> 238
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 238

Thr Tyr Ser Ile His
1 5

<210> 239
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 239

Asn Tyr Gly Met Ser
1 5

<210> 240
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 240

Asn Tyr Gly Met Asn
1 5

<210> 241
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 241

Lys Tyr Gly Met Asn
1 5

<210> 242
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 242

Thr Tyr Pro Ile Glu
1 5

<210> 243
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 243

Asn Tyr Leu Ile Glu
1 5

<210> 244
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 244

Ser Tyr Gly Val His
1 5

<210> 245
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 245

Ser Phe Gly Val His
1 5

<210> 246

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 246

Thr Phe Gly Met His
1 5

<210> 247

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 247

Thr Tyr Gly Val His
1 5

<210> 248

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 248

Asn Tyr Gly Val Ser
1 5

<210> 249

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 249

Gly Phe Leu Met His
1 5

<210> 250

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 250

Lys Tyr Gly Val His
1 5

<210> 251

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 251

Ser Gly Tyr Phe Trp
1 5

<210> 252

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 252

Asn Phe Leu Thr His
1 5

<210> 253

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 253

Gly Tyr Ile Ile Gln
1 5

<210> 254

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 254

Ser Tyr Gly Ala His
1 5

<210> 255

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 255

Glu Ile Asn Pro Gly Asn Gly Gly Ser Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 256

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 256

Val Ile Trp Gly Asp Gly Asn Thr Ile Tyr His Ser Ala Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 257
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 257

Phe Ile Ser Gly Gly Ser Asn Thr Ile His Tyr Leu Asp Thr Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 258
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 258

Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
 1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 259
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 259

Tyr Ile Asn Pro Ser Thr Ile Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Tyr

<210> 260
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 260

Thr	Phe	Ser	Tyr	Gly	Asp	Ser	His	Asn	Tyr	Tyr	Ser	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 261
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 261

Trp	Ile	Asn	Ala	Asn	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Glu	Glu	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 262
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 262

Trp	Ile	Ser	Thr	Asn	Thr	Gly	Glu	Pro	Thr	Tyr	Ala	Glu	Glu	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 263
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 263

Asn	Phe	His	Pro	Tyr	Asn	Asp	Asp	Thr	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 264
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 264

Val	Ile	Asn	Pro	Gly	Arg	Ser	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 265
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 265

Val	Ile	Trp	Ala	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asp	Ser	Ala	Leu	Met	Ser
1				5					10					15	

<210> 266

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 266

Val	Ile	Trp	Ala	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asn	Ser	Ala	Leu	Met	Ser
1				5					10					15	

<210> 267
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 267

Val	Ile	Trp	Ala	Gly	Gly	Arg	Thr	Asn	Tyr	Asn	Ser	Ala	Leu	Met	Ser
1				5					10					15	

<210> 268
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 268

Tyr	Ile	Thr	Ser	Gly	Asn	Ser	Pro	Ile	Tyr	Phe	Thr	Asp	Thr	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 269
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 269

Val	Met	Leu	Ser	Asp	Gly	Asn	Thr	Val	Tyr	Asn	Ser	Ser	Leu	Lys	Ser
1				5					10					15	

<210> 270
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 270

Val	Ile	Trp	Gly	Asp	Gly	Asn	Thr	Asn	Tyr	Gln	Ser	Ala	Leu	Arg	Ser
1				5					10					15	

<210> 271
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 271

Val	Ile	Arg	Gly	Asp	Gly	Asn	Thr	Asn	Tyr	Gln	Ser	Ala	Leu	Arg	Ser
1				5					10					15	

<210> 272
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 272

Tyr	Ile	Asn	Pro	Tyr	Asn	Asp	Gly	Thr	Lys	Tyr	Ser	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 273
 <211> 16
 <212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 273

Val	Ile	Trp	Thr	Gly	Gly	Asn	Thr	Asp	Tyr	Asn	Pro	Ala	Leu	Ile	Pro
1				5					10					15	

<210> 274

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 274

Tyr	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Asn	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys	Asn
1				5					10					15	

<210> 275

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 275

Val	Ile	Trp	Ala	Gly	Gly	Asn	Thr	Asn	Tyr	Asn	Ser	Ala	Leu	Met	Ser
1				5					10					15	

<210> 276

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 276

Glu	Ile	Asn	Pro	Thr	Asn	Gly	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Arg

<210> 277
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 277

Tyr	Ile	Asn	Pro	Asn	Thr	Ile	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Tyr

<210> 278
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 278

Phe	Ile	Asn	Pro	Tyr	Asn	Asp	Gly	Thr	Lys	Tyr	Asn	Glu	Gln	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 279
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 279

Val	Ile	Trp	Ala	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asp	Ser	Thr	Leu	Met	Ser
1				5					10					15	

<210> 280

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

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 280

Tyr	Ile	Asn	Pro	Tyr	Asn	Asp	Gly	Thr	Lys	Tyr	Ser	Glu	Arg	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 281
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 281

Ile	Tyr	Tyr	Gly	Asn	Ser	Phe	Ala	Tyr
1				5				

<210> 282
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 282

Gln	Gly	Leu	Tyr	Gly	His	Ala	Met	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 283
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 283

Leu Ala Leu Gly Asn Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 284
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 284

Gly Ala Tyr Tyr Gly Asn Ser Lys Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 285
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 285

Glu Gly Tyr Gly Arg Gly Asn Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 286
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 286

Phe Gly Arg Gly Asn Thr Met Asp Tyr
1 5

<210> 287
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 287

Leu Thr Arg Gly Asn Ser Phe Asp Tyr
1 5

<210> 288

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 288

Leu Val Arg Gly Asn Ser Phe Asp Phe
1 5

<210> 289

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 289

Arg Ala Tyr Gly Tyr Pro Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 290

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 290

Thr Arg Tyr Gly Gly Asn Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 291

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 291

Ser Leu Tyr Gly Asn Ser Leu Asp Ser
1 5

<210> 292

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 292

Ser Leu Tyr Gly Asn Ser Phe Asp Tyr
1 5

<210> 293

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 293

Asp Arg Tyr Gly Gly Asn Ser Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 294

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 294

Ser Ser Tyr Tyr Gly Asn Ser Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 295

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 295

His	Lys	Ala	Tyr	Gly	Asn	Ala	Met	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 296

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 296

Val	Gly	Arg	Gly	Asn	Ala	Met	Asp	His
1				5				

<210> 297

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 297

Leu	Asp	Tyr	Gly	Asn	Ala	Met	Asp	Tyr
1				5				

<210> 298

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 298

Asn	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Asn	Ala	Met	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 299

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

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 299

Phe Arg Phe Phe Ala Tyr
1 5

<210> 300
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 300

His Gly Tyr Gly Lys Gly Asn Ala Met Asp Asn
1 5 10

<210> 301
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 301

Ile Tyr Tyr Gly Asn Ser Met Asp Tyr
1 5

<210> 302
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 302

Ser Leu Tyr Gly Asn Ser Phe Asp His
1 5

<210> 303
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 303

Ala Tyr Phe Gly Asn Ser Phe Ala Tyr
1 5

<210> 304
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 304

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ala Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Thr

<210> 305
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 305

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Glu Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Thr

<210> 306
<211> 17
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 306

Phe	Ile	Asn	Pro	Tyr	Asn	Asp	Asp	Thr	Lys	Tyr	Asn	Glu	Gln	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 307

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 307

Ala	Tyr	Phe	Gly	Asn	Ala	Phe	Ala	Tyr
1				5				

<210> 308

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 308

Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Asn	Arg	Lys	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Thr

<210> 309

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 309

Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ala	Gly	Asn	Arg	Lys	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Thr

<210> 310

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 310

Tyr	Ile	Thr	Ser	Gly	Gln	Ser	Pro	Ile	Tyr	Phe	Thr	Asp	Thr	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 311

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 311

Tyr	Ile	Thr	Ser	Gly	Glu	Ser	Pro	Ile	Tyr	Phe	Thr	Asp	Thr	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 312

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 312

Ser	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Gln	Ser	Met	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 313

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 313

Ser	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Glu	Ser	Met	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 314

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 314

Ser	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Asn	Ala	Met	Asp	Tyr
1				5					10