



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

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



1-0047794

(51)^{2020.01} C07K 16/30; C07K 16/28; A61K 39/00; (13) B
A61P 35/00

-
- (21) 1-2021-00495 (22) 02/07/2019
(86) PCT/US2019/040296 02/07/2019 (87) WO 2020/010079 09/01/2020
(30) 62/693,216 02/07/2018 US; 62/800,259 01/02/2019 US
(45) 25/06/2025 447 (43) 26/07/2021 400A
(73) 1. AMGEN INC. (US)
One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, CA 91320-1799, United States of America
2. XENCOR, INC (US)
111 West Lemon Avenue, Monrovia, CA 91016, United States of America
(72) NOLAN-STEVAUX, Olivier (US); LI, Cong (US); MURAWSKY, Christopher, M. (CA); ALBA, Benjamin, M. (US); AGRAMAL, Neeraj Jagdish (US); GRAHAM, Kevin (US); STEVENS, Jennitte, LeAnn (US); MOORE, Gregory (US).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)
-

(54) PROTEIN LIÊN KẾT KHÁNG NGUYÊN ĐẶC HIỆU KÉP MÀ LIÊN KẾT
STEAP1 VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA PROTEIN NÀY

(21) 1-2021-00495

(57) Sáng chế đề cập đến protein liên kết kháng nguyên mà liên kết STEAP1 và được phân chứa protein này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề xuất protein liên kết kháng nguyên mà liên kết kháng nguyên biểu mô sáu vùng xuyên màng của tuyến tiền liệt 1 (Six Trans-membrane Epithelial Antigen of the Prostate 1 - STEAP1) và được phẩm chứa protein này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh ung thư tuyến tiền liệt vẫn là một trong các bệnh ung thư phổ biến nhất ở người tại Hoa Kỳ. U.S. Cancer Statistics Working Group. United States Cancer Statistics: 1999–2014 Incidence and Mortality Web-based Report. Atlanta (GA): Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, and National Cancer Institute; 2017. Mặc dù tỉ lệ sống sót đối với bệnh ung thư tuyến tiền liệt tương đối cao so với các loại bệnh ung thư khác, các lựa chọn điều trị hiện nay đi kèm với nguy cơ và các tác dụng phụ không mong muốn. Ví dụ như, phẫu thuật đi kèm với nguy cơ hư hỏng thần kinh và bệnh liệt dương, và xạ trị có thể làm tăng nguy cơ phát triển các bệnh ung thư bàng quang hoặc dạ dày-ruột. Hóa trị liệu truyền thống kèm theo các tác dụng phụ ở vật chủ mà làm hạn chế chất lượng cuộc sống của bệnh nhân trong quá trình điều trị.

Trị liệu dựa trên kháng thể đã thành công trong việc điều trị nhiều bệnh khác nhau, bao gồm ung thư và các rối loạn tự miễn/viêm. Bệnh ung thư tuyến tiền liệt được cho là đặc biệt phù hợp với liệu pháp dựa trên kháng thể, ít nhất là một phần, là do sự tồn tại của kháng nguyên đặc hiệu bệnh ung thư tuyến tiền liệt. Mặc dù gần đây có sự tiến triển trong việc làm sáng tỏ cơ chế sinh học cơ bản của sự phát sinh ung thư và các chỉ thị sinh học tiềm năng, vẫn có nhu cầu về các lựa chọn trị liệu dựa trên kháng thể thay thế đối với bệnh ung thư, bao gồm bệnh ung thư tuyến tiền liệt.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất protein liên kết kháng nguyên mà liên kết STEAP1 có trình tự SEQ ID NO: 2 và có chứa: (a) các CDR chuỗi nặng có chứa các trình tự axit amin mà khác ở không nhiều hơn 3, 2, hoặc 1 axit amin so với i) vhCDR1 SEQ ID NO: 14, vhCDR2 SEQ ID NO:15 hoặc vhCDR2 SEQ ID NO: 21, và vhCDR3 SEQ ID NO: 16,

hoặc ii) vhCDR1 SEQ ID NO: 33, vhCDR2 SEQ ID NO: 34, và vhCDR3 SEQ ID NO: 35; hoặc (b) các CDR chuỗi nhẹ có chứa các trình tự axit amin mà khác ở không nhiều hơn 3, 2, hoặc 1 axit amin so với i) vlCDR1 SEQ ID NO: 11, vlCDR2 SEQ ID NO: 12, và vlCDR3 SEQ ID NO: 13; hoặc ii) vlCDR1 SEQ ID NO: 30, vlCDR2 SEQ ID NO: 31, và vlCDR3 SEQ ID NO: 32; hoặc (c) miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% với SEQ ID NO: 183 hoặc SEQ ID NO: 186; hoặc (d) miền biến đổi chuỗi nặng có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% với SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 184, hoặc SEQ ID NO: 185. Theo các khía cạnh khác nhau, protein liên kết kháng nguyên có chứa vhCDR1 có chứa SEQ ID NO: 14, vhCDR2 có chứa SEQ ID NO: 15 hoặc SEQ ID NO: 21, vhCDR3 có chứa SEQ ID NO: 16, vlCDR1 có chứa SEQ ID NO: 11, vlCDR2 có chứa SEQ ID NO: 12, và vlCDR3 có chứa SEQ ID NO: 13. Theo cách khác, protein liên kết kháng nguyên có chứa vhCDR1 có chứa SEQ ID NO: 33, vhCDR2 có chứa SEQ ID NO: 34, vhCDR3 có chứa SEQ ID NO: 35, vlCDR1 có chứa SEQ ID NO: 30, vlCDR2 có chứa SEQ ID NO: 31, và vlCDR3 có chứa SEQ ID NO: 32. Theo các khía cạnh khác nhau, protein liên kết kháng nguyên có chứa miền biến đổi chuỗi nặng có chứa SEQ ID NO: 182 hoặc SEQ ID NO: 184 và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa SEQ ID NO: 183; ví dụ như, protein liên kết kháng nguyên có chứa miền biến đổi chuỗi nặng có chứa SEQ ID NO: 182 và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa SEQ ID NO: 183, hoặc miền biến đổi chuỗi nặng có chứa SEQ ID NO: 184 và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa SEQ ID NO: 183. Theo cách khác, protein liên kết kháng nguyên có chứa miền biến đổi chuỗi nặng có chứa SEQ ID NO: 185 và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa SEQ ID NO: 186. Sáng chế còn đề xuất protein liên kết kháng nguyên có chứa chuỗi nặng có chứa SEQ ID NO: 201 và chuỗi nhẹ có chứa SEQ ID NO: 200; hoặc chuỗi nặng có chứa SEQ ID NO: 203 và chuỗi nhẹ có chứa SEQ ID NO: 200.

Sáng chế còn đề xuất kháng thể đime khác loại có chứa monome thứ nhất có chứa chuỗi nặng thứ nhất có chứa: 1) miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất; 2) chuỗi nặng không đổi thứ nhất có chứa miền CH1 thứ nhất và miền Fc thứ nhất; và 3) scFv mà liên kết CD3 người và có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ scFv, cầu nối scFv, và miền biến đổi chuỗi nặng scFv; trong đó scFv được gắn cộng hóa trị giữa đầu tận cùng C của miền CH1 và đầu tận cùng N của miền Fc thứ nhất bằng cách sử dụng (các) cầu nối miền. Kháng thể đime khác loại còn chứa monome thứ hai có chứa chuỗi nặng thứ hai có chứa

miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai và chuỗi nặng không đổi thứ hai có chứa miền Fc thứ hai; và chuỗi nhẹ chung có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ và miền không đổi chuỗi nhẹ. Miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nhẹ liên kết STEAP1 người, miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai và miền biến đổi chuỗi nhẹ liên kết STEAP1 người, và trong đó (i) miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa các CDR chuỗi nặng có chứa các trình tự axit amin mà khác ở không nhiều hơn 3, 2, hoặc 1 axit amin so với vhCDR1 SEQ ID NO: 14, vhCDR2 SEQ ID NO: 15 hoặc vhCDR2 SEQ ID NO: 21, và vhCDR3 SEQ ID NO: 16, và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa các CDR chuỗi nhẹ có chứa các trình tự axit amin mà khác ở không nhiều hơn 3, 2, hoặc 1 axit amin so với vlCDR1 SEQ ID NO: 11, vlCDR2 SEQ ID NO: 12, và vlCDR3 SEQ ID NO: 13; hoặc (ii) miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa các CDR chuỗi nặng có chứa các trình tự axit amin mà khác ở không nhiều hơn 3, 2, hoặc 1 axit amin so với vhCDR1 SEQ ID NO: 33, vhCDR2 SEQ ID NO: 34, và vhCDR3 SEQ ID NO: 35, và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa các CDR chuỗi nhẹ có chứa các trình tự axit amin mà khác ở không nhiều hơn 3, 2, hoặc 1 axit amin so với vlCDR1 SEQ ID NO: 30, vlCDR2 SEQ ID NO: 31, và vlCDR3 SEQ ID NO: 32; hoặc (iii) miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% với SEQ ID NO: 182 hoặc SEQ ID NO: 184 và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% với SEQ ID NO: 183; hoặc (iv) miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% với SEQ ID NO: 185 và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% với SEQ ID NO: 186. Theo các khía cạnh khác nhau, miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa các trình tự CDR: vhCDR1 có chứa SEQ ID NO: 14, vhCDR2 có chứa SEQ ID NO: 15 hoặc SEQ ID NO: 21, và vhCDR3 có chứa SEQ ID NO: 16; và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa các trình tự CDR: vlCDR1 có chứa SEQ ID NO: 11, vlCDR2 có chứa SEQ ID NO: 12, và vlCDR3 có chứa SEQ ID NO: 13. Theo các khía cạnh khác nhau, miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa các trình tự CDR: vhCDR1 có chứa SEQ ID NO: 33, vhCDR2 có chứa SEQ ID NO: 34, và vhCDR3 có chứa SEQ ID NO: 35; và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa các trình tự CDR: vlCDR1 có chứa SEQ ID NO: 30, vlCDR2 có chứa SEQ ID NO: 31, và vlCDR3 có chứa SEQ ID NO: 32. Theo các khía

cạnh khác nhau, miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa SEQ ID NO: 182 hoặc SEQ ID NO: 184 và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa SEQ ID NO: 183 (ví dụ như, các SEQ ID NO: 182 và 183 hoặc các SEQ ID NO: 184 và 183), hoặc miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa SEQ ID NO: 185 và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa SEQ ID NO: 186. scFv có chứa các CDR có chứa: vhCDR1 có chứa SEQ ID NO: 170, vhCDR2 có chứa SEQ ID NO: 171, vhCDR3 có chứa SEQ ID NO: 172, vlCDR1 có chứa SEQ ID NO: 174, vlCDR2 có chứa SEQ ID NO: 175, và vlCDR3 có chứa SEQ ID NO: 176; hoặc vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự SEQ ID NO: 169 và SEQ ID NO: 173.

Phương pháp điều trị bệnh ung thư, chẳng hạn như bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bao gồm bước cho đối tượng cần chúng dùng protein liên kết kháng nguyên được mô tả trong bản mô tả này cũng được đề xuất.

Việc sử dụng tiêu đề cho các phần trong bản mô tả này chỉ để cho thuận tiện khi đọc, và không được dự định là làm giới hạn bản chất. Toàn bộ tài liệu này được dự định là được xem xét dưới dạng tài liệu bộc lộ thống nhất, và cần hiểu rằng tất cả các dạng kết hợp của các dấu hiệu được mô tả trong bản mô tả này được dự tính.

Trừ khi có quy định khác ở đây, các thuật ngữ khoa học và kỹ thuật được sử dụng trong sáng chế sẽ có ý nghĩa như thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ngoài ra, trừ khi được quy định khác bởi ngữ cảnh, các thuật ngữ số ít bao gồm cả số nhiều và các thuật ngữ số nhiều bao gồm cả số ít. Các thuật ngữ “chứa”, “có”, “bao gồm” và “có chứa” cần được hiểu dưới dạng các thuật ngữ kết thúc mở trừ khi được lưu ý theo cách khác. Nếu các khía cạnh của sáng chế được mô tả dưới dạng “có chứa” dấu hiệu, các phương án cũng được dự tính “gồm có” hoặc “về cơ bản gồm có” dấu hiệu này. Việc sử dụng ví dụ bất kỳ và tất cả các ví dụ, hoặc ngôn ngữ ví dụ (ví dụ, “chẳng hạn như”) được đề xuất trong bản mô tả này, chỉ nhằm minh họa tốt hơn cho sáng chế và không làm giới hạn phạm vi của sáng chế trừ khi được yêu cầu bảo hộ theo cách khác. Không ngôn từ nào trong bản mô tả được hiểu là dùng để chỉ yếu tố không được yêu cầu bảo hộ bất kỳ là thiết yếu đối với việc thực hành sáng chế. Khác với trong các ví dụ hoạt động, hoặc khi được chỉ ra theo cách khác, tất cả các số diễn tả lượng của các thành phần hoặc điều kiện phản ứng dùng trong bản mô tả này cần được hiểu như được bỏ nghĩa trong mọi trường hợp bằng thuật ngữ “khoảng” như

thuật ngữ đó sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật liên quan.

Việc liệt kê các khoảng trị số trong bản mô tả chỉ nhằm mục đích phục vụ như một phương pháp viết tắt để cập một cách riêng biệt đến mỗi trị số tách biệt nằm trong khoảng này và mỗi điểm cuối, trừ khi trong bản mô tả có quy định khác, và mỗi trị số tách biệt và điểm cuối được đưa vào bản mô tả như thể nó được liệt kê một cách riêng biệt trong bản mô tả.

Nói chung, các thuật ngữ và các kỹ thuật về nuôi cấy mô và tế bào, sinh học phân tử, miễn dịch học, vi sinh học, di truyền, hóa học protein và axit nucleic, sản xuất, tạo chế phẩm, dược học, và y học được mô tả ở đây là những thuật ngữ và kỹ thuật đã biết và thường sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các phương pháp và kỹ thuật của sáng chế thường được tiến hành theo các phương pháp thông thường đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật và như được mô tả trong các tài liệu tham khảo chung và chuyên ngành khác nhau mà được trích dẫn và thảo luận trong toàn bộ bản mô tả này trừ khi có quy định khác. Xem, ví dụ, Sambrook et al, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (tái bản lần 3, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2001), Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates (1992), và Harlow and Lane *Antibodies: A Laboratory Manual* Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990), được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn. Các phản ứng enzyme và kỹ thuật tinh chế được thực hiện theo các thông số kỹ thuật của nhà sản xuất, như thường được thực hiện trong lĩnh vực kỹ thuật, hoặc như được mô tả ở đây. Thuật ngữ được sử dụng liên quan đến, và các quy trình và các kỹ thuật phòng thí nghiệm của, hóa học phân tích, hóa hữu cơ tổng hợp và hóa học dược phẩm và y học được mô tả ở đây là các thuật ngữ đã biết và thường được sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các kỹ thuật chuẩn có thể được sử dụng cho các quy trình tổng hợp hóa học, phân tích hóa học, bào chế dược phẩm, điều chế, phân phối và điều trị cho bệnh nhân. Phần trăm tương đồng được tính bằng cách sử dụng phương pháp thường được sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật, bao gồm phương pháp được mô tả trong, ví dụ như, Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2017/0342155, được kết hợp trong bản mô tả này để tham khảo đến toàn bộ nội dung của nó và cụ thể là đến các đoạn [0075]-[0083].

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 minh họa kháng thể đặc hiệu kép theo sáng chế.

Hình 2 minh họa trình tự của chuỗi CD3 epsilon người (SEQ ID NO: 1).

Hình 3 minh họa trình tự của STEAP1 người (SEQ ID NO: 2). Các trình tự của các vòng ngoại bào được gạch chân.

Các Hình 4A-4E minh họa các cặp hữu dụng của tập hợp biến thể đime hóa khác loại (bao gồm biến thể đối xứng lệch và biến thể pI).

Hình 5 minh họa danh sách các vùng không đổi kháng thể biến thể đồng vị trí và các đột biến thể tương ứng của chúng. pI₋(-) biểu thị biến thể pI thấp hơn, trong khi pI₊(+) biểu thị biến thể pI cao hơn. Các biến thể này có thể được kết hợp tùy ý và độc lập với các biến thể đime hóa khác loại khác theo sáng chế (và cả các loại biến thể khác, như được chỉ ra trong bản mô tả này).

Hình 6 minh họa các biến thể cắt bỏ hữu dụng, các biến thể này cắt bỏ sự liên kết FcγR (đôi khi được gọi là biến thể "làm bất hoạt" hoặc "KO").

Hình 7 mô tả hai phương án theo sáng chế.

Hình 8A và Hình 8B minh họa các cầu nối hữu dụng, bao gồm cầu nối scFv tích điện và cầu nối miễn mà có thể được sử dụng trong protein liên kết kháng nguyên và định dạng kháng thể đime khác loại được đề xuất trong bản mô tả này. Cầu nối tích điện, theo các khía cạnh khác nhau của sáng chế, hữu dụng để, ví dụ như, làm tăng hoặc làm giảm pI của kháng thể đime khác loại mà sử dụng một hoặc nhiều scFv làm thành phần. Cầu nối scFv đơn với điện tích đơn đã biết trong tình trạng kỹ thuật được tham chiếu là "Whitlow", từ tài liệu Whitlow et al., Protein Engineering 6(8):989-995 (1993). Cầu nối này được sử dụng để làm giảm sự kết tụ và tăng cường độ ổn định phân giải protein trong scFv.

Hình 9 mô tả danh sách các biến thể Fc đối xứng lệch đime khác loại với các hiệu suất đime khác loại (được xác định bằng HPLC-CIEX) và độ ổn định nhiệt (được xác định bằng DSC). Độ ổn định nhiệt không được xác định được ký hiệu là "n.d.". Thông tin bổ sung được nêu trong Bảng sáng chế Mỹ số 9,822,186, được kết hợp để tham khảo trong bản mô tả này đến toàn bộ nội dung của nó.

Hình 10A và Hình 10B minh họa scFv biến thể kháng-CD3 được làm cho giống người, được tối ưu hóa độ ổn định. Các sự thể được đưa ra so với trình tự scFv H1_L1.4. Đánh số axit amin là đánh số Kabat. Các vùng biến đổi chuỗi nhẹ và vùng biến đổi chuỗi nặng cụ thể được lưu ý; các sự thể được liệt kê có thể được sử dụng cho vùng biến đổi chuỗi nhẹ và vùng biến đổi chuỗi nặng chứ không phải là các sự thể được liệt kê cụ thể. Thông tin bổ sung được nêu trong Công bố đơn sáng chế quốc tế số 2017/091656, được kết hợp để tham khảo trong bản mô tả này đến toàn bộ nội dung của nó.

Hình 11A và Hình 11B thể hiện sự phát hiện đặc hiệu của STEAP1 tại bề mặt của tế bào C4-2B lúc với kháng thể STEAP1 chuột nhắt Ab-Am.

Các Hình 12A-12C thể hiện sự phát hiện đặc hiệu của STEAP1 trên tế bào ung thư tuyến tiền liệt C4-2B lúc bằng cách sử dụng kháng thể STEAP1 chuột nhắt Ab-Am (Hình 12A); Ab-A1 XmAb (●) hoặc Ab-A1 XmAb²⁺¹ (■) trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ 4°C (Hình 12B) và kháng thể Ab-A1 XmAb²⁺¹ (Hình 12C).

Hình 13 thể hiện sự phát hiện đặc hiệu của STEAP1 trên tế bào ung thư tuyến tiền liệt C4-2B lúc với kháng thể STEAP1 Ab-Bx (Ab-B1 XmAb).

Các Hình 14A-14C thể hiện rằng kháng thể STEAP1 Ab-Ax (Hình 14A), kháng thể STEAP1 Ab-A1 Xmab²⁺¹ (Hình 14B), và kháng thể STEAP1 Ab-A2(N67Q) Xmab²⁺¹ (Hình 14C) làm trung gian sự dung giải tế bào đích của dòng tế bào khối u người C4-2B lúc bởi tế bào T người.

Hình 15 thể hiện rằng kháng thể STEAP1 Ab-A1 Xmab²⁺¹ và Ab-A2(N67Q) Xmab²⁺¹ làm trung gian sự dung giải tế bào đích phụ thuộc liều lượng của dòng tế bào khối u người C4-2B lúc nhưng không làm trung gian C4-2B lúc STEAP1 KO bởi tế bào T người.

Các Hình 16A-16B thể hiện rằng kháng thể STEAP1 chuột nhắt Ab-Am phát hiện STEAP1 được biểu hiện bởi tế bào 293 T được thử nghiệm. Hình 16C thể hiện rằng chất gắn kết STEAP1 Ab-A2(N67Q) Xmab²⁺¹ làm trung gian sự dung giải tế bào đích phụ thuộc liều lượng của dòng tế bào 293T người được chuyển nạp ổn định với STEAP1 người và không phải của dòng tế bào 293T người bố mẹ.

Hình 17A thể hiện rằng Ab-Bx (Ab-B1-XmAb) và Ab-B1 Xmab²⁺¹ làm trung gian sự dung giải tế bào đích của tế bào ung thư tuyến tiền liệt C4-2B lúc. Hình 17B thể

hiện rằng các biến thể $Xmab^{2+1}$ Ab-B1 (tức là, Ab-B1-G37A, Ab-B1-S39A, và Ab-B1-G37A/S39A) làm trung gian sự dung giải tế bào đích của tế bào ung thư tuyến tiền liệt C4-2B luc. Hình 17C thể hiện rằng các biến thể $Xmab^{2+1}$ Ab-B1 (tức là, Ab-B1-G37A, Ab-B1-S39A, và Ab-B1-G37A/S39A) không làm trung gian sự dung giải tế bào đích của tế bào ung thư tuyến tiền liệt bất hoạt STEAP1 C4-2B luc.

Các Hình 18A-18I minh họa một vài định dạng của protein liên kết kháng nguyên: Định dạng “cái mở nắp chai”, mAb-Fv, mAb-scFv, scFv trung tâm, Fv trung tâm, scFv trung tâm một nhánh, một scFv-mAb, scFv-mAb và scFv kép. Đối với tất cả các miền scFv được minh họa, chúng có thể là miền biến đổi chuỗi nặng-(cầu nối tùy ý)-miền biến đổi chuỗi nhẹ từ đầu N đến đầu C, hoặc ngược lại. Ngoài ra, đối với scFv-mAb một nhánh, scFv có thể được gắn vào đầu tận cùng N của chuỗi nặng monome hoặc vào đầu tận cùng N của chuỗi nhẹ.

Hình 19 cung cấp các trình tự của các CDR, miền biến đổi chuỗi nặng, miền biến đổi chuỗi nhẹ, scFv, các trình tự cầu nối, và các trình tự monome theo sáng chế. Phân gạch chân trong các trình tự vùng biến đổi chỉ ra các trình tự CDR.

Các Hình 20A và Hình 20B minh họa kết quả của thử nghiệm gây độc tế bào phụ thuộc tế bào T được mô tả trong Ví dụ 9. Hình 20A là biểu đồ minh họa sự gây độc tế bào đặc hiệu (%) được điều tiết bởi Ab-A2 (N67Q) $XmAb^{2+1}$ một mình (hình tròn rỗng) và Ab-A2 (N67Q) $XmAb^{2+1}$ kết hợp với kháng thể kháng-PD-1 (hình tròn đặc) trong một thể cho tế bào T đại diện (trục y=Log (pM)). Hình 20B minh họa EC50 (pM) của Ab-A2 (N67Q) $XmAb^{2+1}$ một mình (bên trái) và Ab-A2 (N67Q) $XmAb^{2+1}$ kết hợp với kháng thể kháng-PD-1 (bên phải) từ bốn thể cho tế bào T khác nhau.

Các Hình 21A-21C là biểu đồ đường minh họa sự biểu hiện PD-1 (% CD3+) trong tổng số tế bào T (Hình 21A), tế bào T CD8⁺ (Hình 21B), và tế bào T CD4⁺ (Hình 21C) được bộc lộ ra với các lượng thay đổi của Ab-A2 (N67Q) $XmAb^{2+1}$. Hình tròn và hình vuông trong biểu đồ chỉ ra các thể cho khác nhau của tế bào T. Sự biểu hiện PD-1 tăng lên ở tế bào T được bộc lộ ra với kháng thể đime khác loại theo sáng chế.

Hình 22 là biểu đồ đường minh họa thể tích khối u (mm³; trục y) theo thời gian (số ngày nghiên cứu, trục x). Tế bào SK-N-MC người (5×10^6 tế bào/con chuột nhất) được tiêm dưới da vào sườn lưng bên phải của chuột nhất NOD/SCID cái được chiếu xạ dưới liều gây chết vào ngày 1. Vào ngày 8, tế bào T CD3⁺ người (2×10^7 tế bào/con

chuột nhắt) được tiêm vào khoang màng bụng của tất cả các con vật, ngoại trừ nhóm 1. Tá được lỏng (các nhóm 1 và 2) hoặc Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺ ở các mức liều lượng 1,0, 0,1, hoặc 0,01 mg/kg (lần lượt ở các nhóm 3, 4, 5) được dùng bằng các tiêm liều lớn (liều bolus) trong tĩnh mạch vào các ngày 12, 19 và 26 (mũi tên ở bên trên của biểu đồ). Thể tích khối u được xác định ba lần/tuần bằng cách sử dụng thước kẹp điện tử. Thể tích khối u trung bình của nhóm [mm³] +/- SEM được thể hiện. Dấu sao trong hình vẽ chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (ANOVA một chiều; * = $p < 0,05$; *** = $p < 0,001$) giữa nhóm tá được lỏng (nhóm 2) và các nhóm được điều trị bằng Ab-A2(N67Q) XmAb²⁺.

Hình 23. Thể tích khối u của u nguyên bào thần kinh người SK-N-MC trung bình và trung vị ở chuột nhắt NOD/SCID cái.

Mô tả chi tiết sáng chế

STEAP1 là protein có 339 axit amin có chứa sáu miền xuyên màng, tạo ra ba vòng ngoại bào và hai vòng nội bào. Trình tự axit amin của STEAP1 người được nêu trong bản mô tả này dưới dạng SEQ ID NO: 2. Các vị trí ước lượng của các vòng ngoại bào là các axit amin 92-118 (vòng ngoại bào 1), các axit amin 185-217 (vòng ngoại bào 2), và các axit amin 279-290 (vòng ngoại bào 3). STEAP1 được biểu hiện khác biệt ở bệnh ung thư tuyến tiền liệt so với các mô bình thường, và sự biểu hiện tăng ở các tổn thương di căn do ung thư tuyến tiền liệt ở xương và hạch bạch huyết được quan sát thấy so với các mẫu ung thư tuyến tiền liệt nguyên phát. STEAP1 thể hiện là đích lý tưởng để chẩn đoán và trị liệu dựa trên kháng thể, chẳng hạn như kháng thể huy động tế bào T kháng-STEAP1/kháng-CD3 đặc hiệu kép để, ví dụ như, kích hoạt sự gây độc tế bào phụ thuộc tế bào T hoặc sự dung giải tái định hướng của tế bào ung thư tuyến tiền liệt. Sáng chế đề xuất protein liên kết kháng nguyên mà liên kết STEAP1, như được mô tả thêm trong bản mô tả này.

Protein liên kết kháng nguyên

"Protein liên kết kháng nguyên" là protein có chứa phần mà liên kết kháng nguyên đích xác định (chẳng hạn như STEAP1). Protein liên kết kháng nguyên có chứa phần giá đỡ hoặc khung mà cho phép phần liên kết kháng nguyên tuân theo hình dạng mà thúc đẩy sự liên kết của protein liên kết kháng nguyên với kháng nguyên. Trong các khía cạnh ví dụ, protein liên kết kháng nguyên là kháng thể hoặc globulin miễn dịch (ví

dụ như, kháng thể đime khác loại và/hoặc đặc hiệu kép), hoặc mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên, hoặc sản phẩm protein kháng thể.

Thuật ngữ "kháng thể" dùng để chỉ globulin miễn dịch liên kết kháng nguyên nguyên vẹn. "Kháng thể" là một loại của protein liên kết kháng nguyên. Kháng thể có thể là kháng thể IgA, IgD, IgE, IgG, hoặc IgM, bao gồm kháng thể bất kỳ trong số IgG1, IgG2, IgG3 hoặc IgG4. Theo các phương án khác nhau, kháng thể nguyên vẹn có chứa hai chuỗi nặng chiều dài đầy đủ và hai chuỗi nhẹ chiều dài đầy đủ. Kháng thể có vùng biến đổi và vùng không đổi. Trong định dạng IgG, vùng biến đổi thường có khoảng 100-110 hoặc nhiều axit amin hơn, có chứa ba vùng xác định tính bổ sung (CDR), chủ yếu chịu trách nhiệm đối với sự nhận diện kháng nguyên, và về cơ bản thay đổi giữa các kháng thể khác mà liên kết với các kháng nguyên khác nhau. Vùng biến đổi thường bao gồm ít nhất ba CDR chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ (Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Public Health Service N.I.H., Bethesda, Md.; cũng xem Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-917; Chothia et al., 1989, Nature 342: 877-883), trong vùng khung (vùng khung được ký hiệu từ 1 đến 4, FR1, FR2, FR3, và FR4, bởi Kabat et al., 1991; cũng xem Chothia and Lesk, 1987, nêu trên). Vùng không đổi này cho phép kháng thể để huy động các tế bào và phân tử của hệ miễn dịch.

Theo các khía cạnh khác nhau, kháng thể là kháng thể đơn dòng. Theo các khía cạnh cụ thể, kháng thể này là kháng thể người. Theo các khía cạnh nhất định, kháng thể (hoặc protein liên kết kháng nguyên khác) là khảm hoặc được làm cho giống người. Thuật ngữ "khảm" dùng để chỉ kháng thể chứa miễn từ hai hoặc hơn hai kháng thể khác nhau. Kháng thể khảm có thể, ví dụ, chứa các miễn không đổi từ một loài và các miễn biến đổi từ loài thứ hai, hoặc thông thường hơn là, có thể chứa sự kéo dài của trình tự axit amin từ ít nhất hai loài. Cả "khảm" và "được làm cho giống người" thường dùng để chỉ protein liên kết kháng nguyên mà kết hợp các vùng từ nhiều hơn một loài. Kháng thể khảm cũng có thể chứa các miễn của hai hoặc hơn hai kháng thể khác nhau trong cùng loài. Theo một phương án, kháng thể khảm là kháng thể ghép CDR.

Thuật ngữ "được làm cho giống người" khi được dùng liên quan đến protein liên kết kháng nguyên dùng để chỉ protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể) có ít nhất là vùng CDR từ nguồn không phải là người và được thiết kế để có cấu trúc và chức năng miễn dịch tương tự với kháng thể người thực sự hơn là kháng thể nguồn ban đầu. Ví dụ như, việc làm cho giống người có thể gồm việc ghép CDR từ kháng thể không

phải của người, chẳng hạn như kháng thể chuột nhắt, vào vùng khung của người. Thông thường, trong kháng thể được làm cho giống người, kháng thể nguyên vẹn, ngoại trừ các CDR, được mã hóa bởi polynucleotit có nguồn gốc từ người hoặc giống với kháng thể này ngoại trừ trong các CDR của nó. Các CDR, một số hoặc tất cả chúng được mã hóa bởi axit nucleic có nguồn gốc từ sinh vật không phải người, được ghép vào khung tám beta của vùng biến đổi kháng thể người để tạo ra kháng thể, độ đặc hiệu của chúng được xác định bởi CDR được ghép vào. Sự tạo ra kháng thể này được mô tả trong, ví dụ như, Công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 92/11018; Jones, 1986, *Nature* 321:522-525; và Verhoeyen et al., 1988, *Science* 239:1534-1536, tất cả các tài liệu này được kết hợp ở đây chỉ để tham khảo. "Sự đột biến ngược" của các gốc khung nhận chọn lọc thành các gốc cho tương ứng thường được sử dụng để lấy lại ái lực bị mất đi ở cấu trúc ghép ban đầu (xem, ví dụ như, các Bằng sáng chế Mỹ số 5530101; 5585089; 5693761; 5693762; 6180370; 5859205; 5821337; 6054297; và 6407213, tất cả các tài liệu này được kết hợp ở đây chỉ để tham khảo). Kháng thể được làm cho giống người tùy ý còn có chứa ít nhất là một phần của vùng không đổi globulin miễn dịch, thường là của globulin miễn dịch người, và do đó thường có chứa vùng Fc ở người.

Nhiều kỹ thuật và phương pháp để tạo ra kháng thể khảm, kháng thể được làm cho giống người, và làm thay đổi hình dạng kháng thể không phải của người được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật. Xem Tsurushita & Vasquez, 2004, *Humanization of Monoclonal Antibodies*, *Molecular Biology of B Cells*, 533-545, Elsevier Science (USA), và các tài liệu tham khảo được viện dẫn trong đó; Jones et al., 1986, *Nature* 321:522-525; Riechmann et al., 1988, *Nature* 332:323-329; Verhoeyen et al., 1988, *Science*, 239:1534-1536; Queen et al., 1989, *Proc Natl Acad Sci, USA* 86:10029-33; He et al., 1998, *J. Immunol.* 160: 1029-1035; Carter et al., 1992, *Proc Natl Acad Sci USA* 89:4285-9, Presta et al., 1997, *Cancer Res.* 57(20):4593-9; Gorman et al., 1991, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:4181-4185; O'Connor et al., 1998, *Protein Eng* 11:321-8, Công bố đơn sáng chế Mỹ số 20030039649; các Bằng sáng chế Mỹ số 5,869,619, 5,225,539, 5,821,337, 5,859,205; Padlan et al., 1995, *FASEB J.* 9:133-39; và Tamura et al., 2000, *J. Immunol.* 164:1432-41, tất cả các tài liệu này được kết hợp toàn bộ để tham khảo. Các phương pháp làm cho giống người hoặc các phương pháp khác để làm giảm khả năng sinh miễn dịch của các vùng biến đổi kháng thể không phải người có thể bao gồm phương pháp tái tạo bề mặt, như mô tả ví dụ trong tài liệu Roguska et al., 1994, *Proc.*

Natl. Acad. Sci. USA 91:969-973, được kết hợp toàn bộ để tham khảo. Kháng thể gốc có thể được làm trưởng thành ái lực, mà được hiểu rõ trong lĩnh vực kỹ thuật. Phương pháp dựa trên cấu trúc có thể được sử dụng để làm cho giống người và làm trưởng thành ái lực, ví dụ như được mô tả trong Công bố đơn sáng chế Mỹ số 20060008883. Phương pháp dựa trên sự chọn lọc có thể được sử dụng để làm cho giống người và/hoặc làm trưởng thành ái lực vùng biến đổi kháng thể, bao gồm nhưng không giới hạn ở phương pháp được mô tả trong Wu et al., 1999, J. Mol. Biol. 294:151-162; Baca et al., 1997, J. Biol. Chem. 272(16):10678-10684; Rosok et al., 1996, J. Biol. Chem. 271(37): 22611-22618; Rader et al., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 8910-8915; Krauss et al., 2003, Protein Engineering 16(10):753-759, tất cả các tài liệu này được kết hợp toàn bộ ở đây để tham khảo. Việc làm cho giống người cũng có thể gồm chọn lọc các đột biến thể axit amin để tạo ra trình tự không phải của người tương tự hơn với trình tự của người. Phương pháp làm cho giống người khác có thể bao gồm việc ghép của chỉ các phần của CDR, bao gồm nhưng không giới hạn ở phương pháp được mô tả trong Tan et al., 2002, J. Immunol. 169:1119-1125; De Pascalis et al., 2002, J. Immunol. 169:3076-3084, tất cả các tài liệu này được kết hợp toàn bộ để tham khảo.

Theo các phương án khác, protein liên kết kháng nguyên là mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên, tức là, mảnh của kháng thể mà thiếu một phần hoặc toàn bộ chuỗi nhẹ của kháng thể và/hoặc một phần hoặc toàn bộ chuỗi nặng của kháng thể. Mảnh kháng thể có thể được sản xuất theo cách tái tổ hợp hoặc có thể được điều chế bằng cách phân cắt kháng thể nguyên vẹn bằng cách sử dụng enzym, chẳng hạn như, ví dụ như, papain và pepsin. Papain phân cắt kháng thể để tạo thành hai mảnh Fab và một mảnh Fc. Pepsin phân cắt kháng thể để tạo thành mảnh $F(ab')_2$ và mảnh pFc' . Trong các trường hợp ví dụ, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên là mảnh Fab hoặc mảnh $F(ab')_2$. Mảnh Fab là mảnh hóa trị một có các miền VL, VH, CL và CH1. Fab có thể dùng để chỉ vùng này khi được phân lập, hoặc vùng này trong ngữ cảnh của kháng thể chiều dài đầy đủ, mảnh kháng thể, v.v.. Mảnh $F(ab')_2$ là mảnh hóa trị hai có hai mảnh Fab được liên kết bằng cầu disulfua tại vùng bản lề.

Kết cấu của kháng thể được khai thác để tạo ra khoảng phát triển của các định dạng thay thế mà mở rộng qua khoảng khối lượng phân tử bằng ít nhất là khoảng 12-150 kDa và có hóa trị (n) nằm trong khoảng từ monome ($n = 1$), đến dimer ($n = 2$), đến trimer ($n = 3$), đến tetramer ($n = 4$), và có tiềm năng cao hơn; các định dạng thay thế này

được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng "sản phẩm protein kháng thể" và là các ví dụ của protein liên kết kháng nguyên. Sản phẩm protein kháng thể bao gồm các sản phẩm protein kháng thể dựa trên cấu trúc kháng thể đầy đủ và các sản phẩm protein kháng thể mà bất chước mảnh kháng thể mà giữ lại khả năng liên kết kháng nguyên đầy đủ, ví dụ như, scFv và VHH/VH (được thảo luận dưới đây). Kháng thể đơn chuỗi (scFv) là kháng thể trong đó vùng VL và vùng VH được kết hợp thông qua cầu nối (ví dụ như, trình tự tổng hợp của các gốc axit amin thường có chiều dài khoảng 15 axit amin) để tạo thành chuỗi protein liên tục trong đó cầu nối đủ dài để cho phép chuỗi protein cuộn gấp trở lại trên bản thân nó và tạo thành vị trí liên kết kháng nguyên hóa trị một (xem, ví dụ như, Bird et al., 1988, Science 242:423-26 và Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-83).

Mảnh liên kết kháng nguyên mà giữ lại vị trí liên kết kháng nguyên hoàn chỉnh của nó là mảnh Fv, mà gồm có toàn bộ vùng biến đổi (V) (miền VL và VH của kháng thể đơn lẻ). Cầu nối peptit axit amin linh hoạt, hòa tan thường được sử dụng để nối các vùng V với mảnh scFv (mảnh biến đổi đơn chuỗi) để làm ổn định phân tử, hoặc miền không đổi (C) được bổ sung vào các vùng V để tạo ra mảnh Fab (mảnh liên kết kháng nguyên). Các mảnh scFv và Fab có thể được sản xuất dễ dàng trong tế bào chủ, ví dụ như, tế bào chủ nhân sơ hoặc nhân chuẩn. Các sản phẩm protein kháng thể khác bao gồm scFv được làm ổn định bằng liên kết disulfua (ds-scFv), Fab đơn chuỗi (scFab), kháng thể đơn chuỗi (SCA), kháng thể miền (dAb) (ví dụ như, peptit có chứa miền VH, miền VL, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của miền VH hoặc VL), peptit có chứa mảnh Fd (có chứa các miền VH và CH1), các mảnh vùng xác định tính bổ sung (CDR), cũng như là các định dạng kháng thể dạng đi- và multimer như dimer-, trimer- và tetramer-, hoặc minibody (miniAb) mà có chứa các định dạng khác nhau gồm có scFv được liên kết với miền oligomer hóa. Mảnh nhỏ nhất là VHH/VH của các Ab chuỗi nặng của lạc đà cũng như các Ab đơn miền (sdAb). Peptibody hoặc thể dung hợp peptit-Fc cũng là sản phẩm protein kháng thể khác. Cấu trúc của peptibody gồm peptit hoạt tính sinh học được ghép lên miền Fc. Peptibody được mô tả thêm trong lĩnh vực kỹ thuật. Xem, ví dụ Shimamoto et al., mAbs 4(5): 586-591 (2012).

Theo cách khác, sản phẩm protein kháng thể có thể có chứa, ví dụ như, giá đỡ hoặc giá đỡ nhân tạo protein thay thế với các CDR hoặc dẫn xuất CDR được ghép. Giá đỡ này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, giá đỡ có nguồn gốc từ kháng thể có chứa các

đột biến được đưa vào để, ví dụ như, làm ổn định cấu trúc ba chiều của protein liên kết kháng nguyên cũng như là giá đỡ hoàn toàn tổng hợp có chứa, ví dụ như, polyme tương thích sinh học. Xem, ví dụ như, Korndorfer et al., 2003, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, Volume 53, Issue 1:121-129; Roque et al., 2004, *Biotechnol. Prog.* 20:639-654. Ngoài ra, chất bắt chước kháng thể peptit ("PAM") có thể được sử dụng, cũng như là giá đỡ dựa trên chất bắt chước kháng thể sử dụng các thành phần fibronectin làm giá đỡ.

Theo các khía cạnh khác nhau, protein liên kết kháng nguyên có chứa các CDR chuỗi nặng có chứa các trình tự axit amin mà khác ở không nhiều hơn 3, 2, hoặc 1 axit amin so với i) vhCDR1 SEQ ID NO: 14, vhCDR2 SEQ ID NO: 15 hoặc vhCDR2 SEQ ID NO: 21, và vhCDR3 SEQ ID NO: 16, hoặc ii) vhCDR1 SEQ ID NO: 33, vhCDR2 SEQ ID NO: 34, và vhCDR3 SEQ ID NO: 35; và/hoặc các CDR chuỗi nhẹ có chứa các trình tự axit amin mà khác ở không nhiều hơn 3, 2, hoặc 1 axit amin so với i) vlCDR1 SEQ ID NO: 11, vlCDR2 SEQ ID NO: 12, và vlCDR3 SEQ ID NO: 13; hoặc ii) vlCDR1 SEQ ID NO: 30, vlCDR2 SEQ ID NO: 31, và vlCDR3 SEQ ID NO: 32. Mỗi sự khác biệt trình tự này độc lập là sự làm khuyết, sự cài xen, hoặc sự thế, mặc dù sự thế (ví dụ như, sự thế bảo toàn) được ưu tiên. Các ví dụ về sự thế bảo toàn bao gồm, nhưng không giới hạn ở, sự trao đổi ở trong các nhóm sau đây: các gốc không phân cực hoặc ít phân cực, béo nhỏ, Ala, Ser, Thr, Pro, Gly; các gốc tích điện âm, phân cực và các amit và este của chúng, Asp, Asn, Glu, Gln, axit xysteic và axit homoxysteic; các gốc tích điện dương, phân cực, His, Arg, Lys, Ornithin (Orn); các gốc không phân cực, béo, lớn, Met, Leu, Ile, Val, Cys, Norloxin (Nle), homoxystein; và các gốc thơm, lớn: Phe, Tyr, Trp, axetyl phenylalanin.

Theo các khía cạnh khác nhau, protein liên kết kháng nguyên có chứa các trình tự CDR sau đây: a) vhCDR1 có chứa SEQ ID NO: 14, vhCDR2 có chứa SEQ ID NO: 15 hoặc SEQ ID NO: 21, và vhCDR3 có chứa SEQ ID NO: 16; hoặc b) vhCDR1 có chứa SEQ ID NO: 33, vhCDR2 có chứa SEQ ID NO: 34, và vhCDR3 có chứa SEQ ID NO: 35. Theo cách khác hoặc ngoài ra, protein liên kết kháng nguyên có chứa các trình tự CDR sau đây: a) vlCDR1 có chứa SEQ ID NO: 11, vlCDR2 có chứa SEQ ID NO: 12, và vlCDR3 có chứa SEQ ID NO: 13; hoặc b) vlCDR1 có chứa SEQ ID NO: 30, vlCDR2 có chứa SEQ ID NO: 32, và vlCDR3 có chứa SEQ ID NO: 33.

Do đó, theo các khía cạnh khác nhau, protein liên kết kháng nguyên có chứa vhCDR1 có chứa SEQ ID NO: 14, vhCDR2 có chứa SEQ ID NO: 15 hoặc SEQ ID NO: 21, vhCDR3 có chứa SEQ ID NO: 16, vlCDR1 có chứa SEQ ID NO: 11, vlCDR2 có chứa SEQ ID NO: 12, và vlCDR3 có chứa SEQ ID NO: 13. Theo các khía cạnh khác, protein liên kết kháng nguyên có chứa vhCDR1 có chứa SEQ ID NO: 33, vhCDR2 có chứa SEQ ID NO: 34, vhCDR3 có chứa SEQ ID NO: 35, vlCDR1 có chứa SEQ ID NO: 30, vlCDR2 có chứa SEQ ID NO: 31, và vlCDR3 có chứa SEQ ID NO: 32.

Theo các phương án khác nhau, protein liên kết kháng nguyên có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% (ví dụ như, tương đồng ít nhất là 95% hoặc tương đồng 100%) với SEQ ID NO: 183 hoặc SEQ ID NO: 186; và/hoặc miền biến đổi chuỗi nặng có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% (ví dụ như, tương đồng ít nhất là 95% hoặc tương đồng 100%) với SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 184, hoặc SEQ ID NO: 185. Ví dụ như, protein liên kết kháng nguyên có thể có chứa (i) SEQ ID NO: 183 và SEQ ID NO: 182, (ii) SEQ ID NO: 184 và SEQ ID NO: 183, hoặc (iii) SEQ ID NO: 185 và SEQ ID NO: 186. Theo các khía cạnh khác nhau, protein liên kết kháng nguyên có chứa vùng biến đổi chuỗi nhẹ và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nặng có chứa trình tự của các axit amin mà khác với các trình tự axit amin nêu trên chỉ ở 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, hoặc 1 gốc, trong đó mỗi sự khác biệt trình tự này độc lập là sự làm khuyết, sự cài xen, hoặc sự thế (ví dụ như, sự thế bảo toàn). Theo các khía cạnh khác nhau, (các) sự khác biệt trình tự nằm bên ngoài CDR (ví dụ như, ở trong vùng khung).

Theo các phương án khác nhau, protein liên kết kháng nguyên có chứa chuỗi nhẹ có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% (ví dụ như, tương đồng ít nhất là 95% hoặc tương đồng 100%) với SEQ ID NO: 17 hoặc SEQ ID NO: 36; và/hoặc chuỗi nặng có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% (ví dụ như, tương đồng ít nhất là 95% hoặc tương đồng 100%) với SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 199 hoặc SEQ ID NO: 37. Ví dụ như, protein liên kết kháng nguyên có thể có chứa (i) SEQ ID NO: 17 và SEQ ID NO: 18; (ii) SEQ ID NO: 17 và SEQ ID NO: 199; hoặc (iii) SEQ ID NO: 36 và SEQ ID NO: 37.

Theo các phương án khác nhau, protein liên kết kháng nguyên có chứa chuỗi nhẹ có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% (ví dụ như, tương đồng ít nhất là 95% hoặc tương đồng 100%) với SEQ ID NO: 200 hoặc SEQ ID NO: 204; và/hoặc

chuỗi nặng có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% (ví dụ như, tương đồng ít nhất là 95% hoặc tương đồng 100%) với SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 203 hoặc SEQ ID NO: 205. Ví dụ như, protein liên kết kháng nguyên có thể có chứa (i) SEQ ID NO: 200 và SEQ ID NO: 201; (ii) SEQ ID NO: 200 hoặc SEQ ID NO: 203; (iii) SEQ ID NO: 204 và SEQ ID NO: 205.

Sự cạnh tranh, epitop, ái lực liên kết

Protein liên kết kháng nguyên liên kết STEAP1 có trình tự SEQ ID NO: 2. Sự liên kết đặc hiệu (tức là, sự liên kết với STEAP1 mà khác biệt có thể đo được với sự tương tác không đặc hiệu) có thể được xác định, ví dụ như, bằng cách xác định liên kết của phân tử so với liên kết của phân tử đối chứng, mà nhìn chung là phân tử có cấu trúc tương tự không có hoạt tính liên kết. Ví dụ, liên kết đặc hiệu có thể được xác định bằng sự cạnh tranh với phân tử đối chứng tương tự với đích.

Ái lực liên kết của protein liên kết kháng nguyên với STEAP1 có thể được mô tả theo hằng số phân ly (K_d). Trong các khía cạnh ví dụ, K_d của protein liên kết kháng nguyên được đề xuất trong bản mô tả này là micromol, nanomol, picomol, hoặc femtomol. Thông thường, protein liên kết kháng nguyên mà liên kết đặc hiệu với kháng nguyên sẽ có K_d lớn hơn 20, 50, 100, 500, 1000, 5.000, 10.000 lần hoặc lớn hơn nữa đối với phân tử đối chứng so với kháng nguyên hoặc epitop đích. Tương tự, liên kết đặc hiệu đối với kháng nguyên cụ thể có thể được thể hiện, ví dụ, bởi kháng thể có K_A hoặc K_a đối với kháng nguyên hoặc epitop lớn hơn ít nhất 20, 50, 100, 500, 1000, 5.000, 10.000 lần hoặc lớn hơn nữa đối với epitop so với đối chứng, trong đó K_A hoặc K_a chỉ tốc độ kết hợp của tương tác kháng thể-kháng nguyên cụ thể. Trong các khía cạnh ví dụ, K_d của protein liên kết kháng nguyên được đề xuất trong bản mô tả này đối với STEAP1 nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-7} M, nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-8} M, nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-9} M, nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-10} M, nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-11} M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-12} M. Ví dụ như, K_d của protein liên kết kháng nguyên tùy ý nằm trong khoảng từ khoảng 10^{-4} đến 10^{-6} M, hoặc từ khoảng 10^{-7} đến 10^{-9} M, hoặc từ khoảng 10^{-10} đến 10^{-12} M, hoặc từ khoảng 10^{-7} đến 10^{-12} , hoặc từ khoảng 10^{-9} đến 10^{-12} , hoặc từ khoảng 10^{-13} đến 10^{-15} M. Theo cách khác (hoặc ngoài ra), protein liên kết kháng nguyên có tốc độ phân ly thấp từ STEAP1. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên có K_{off} bằng $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ hoặc thấp hơn. Theo phương án khác, K_{off} bằng $5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ hoặc thấp hơn. Theo các khía cạnh khác nhau, protein liên kết kháng nguyên khác biệt giữa các tế bào đích biểu hiện

mức cao của STEAP1 và tế bào lệch đích mà thể hiện ít STEAP1 hơn. Ví dụ như, theo các khía cạnh khác nhau, protein liên kết kháng nguyên ưu tiên liên kết tế bào có chứa nhiều hơn khoảng 100.000 thụ thể STEAP trong mỗi tế bào (ví dụ như, khoảng 200.000 thụ thể STEAP1 trong mỗi tế bào) xuống khoảng 10.000 thụ thể STEAP1 trong mỗi tế bào. Cần hiểu rõ rằng việc bộc lộ về sự cạnh tranh, ái lực liên kết, và độ đặc hiệu liên kết liên quan đến STEAP1 cũng áp dụng cho sự liên kết của protein liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu với kháng nguyên thứ hai hoặc thứ ba (ví dụ như, CD3) hoặc kháng thể khác mà được sử dụng kết hợp với protein liên kết kháng nguyên kháng-STEAP1. Ví dụ như, trong các khía cạnh ví dụ, Kd của protein liên kết kháng nguyên được đề xuất trong bản mô tả này đối với CD3 (hoặc PD-1, như được mô tả dưới đây) nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-7} M, nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-8} M, nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-9} M, nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-10} M, nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-11} M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-12} M. Ví dụ như, Kd của protein liên kết kháng nguyên tùy ý nằm trong khoảng từ khoảng 10^{-4} đến 10^{-6} M, hoặc từ khoảng 10^{-7} đến 10^{-9} M, hoặc từ khoảng 10^{-10} đến 10^{-12} M, hoặc từ khoảng 10^{-7} đến 10^{-12} , hoặc từ khoảng 10^{-9} đến 10^{-12} , hoặc từ khoảng 10^{-13} đến 10^{-15} M. Theo cách khác (hoặc ngoài ra), protein liên kết kháng nguyên có tốc độ phân ly thấp từ CD3. Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên có K_{off} bằng $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ hoặc thấp hơn. Theo phương án khác, K_{off} bằng $5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ hoặc thấp hơn đối với CD3.

Sáng chế còn đề xuất protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể) mà cạnh tranh để liên kết với STEAP1 với protein liên kết kháng nguyên bất kỳ được mô tả trong bản mô tả này (ví dụ như, Ab-A, Ab-A1, Ab-A2, Ab-B, hoặc Ab-B1, bao gồm trong định dạng $XmAb^{2+1}$ như được mô tả trong bản mô tả này). Theo cách khác, sáng chế đề xuất protein liên kết kháng nguyên mà phong bế chéo sự liên kết của protein liên kết kháng nguyên tham chiếu được mô tả trong bản mô tả này với STEAP1 hoặc được phong bế chéo khỏi sự liên kết với STEAP1 bằng protein liên kết kháng nguyên tham chiếu. "Cạnh tranh" có nghĩa là một protein liên kết kháng nguyên ngăn chặn, làm giảm hoặc ức chế sự liên kết của protein liên kết kháng nguyên tham chiếu với STEAP1. Nhiều loại thử nghiệm liên kết cạnh tranh có thể được sử dụng, ví dụ như, cộng hưởng plasmon bề mặt, thử nghiệm miễn dịch phóng xạ trực tiếp hoặc gián tiếp pha rắn (RIA), thử nghiệm miễn dịch enzyme trực tiếp hoặc gián tiếp pha rắn (EIA), thử nghiệm cạnh tranh kẹp (xem, ví dụ như, Stahli et al., 1983, Methods in Enzymology 9:242-253), EIA biotin-avidin trực tiếp pha rắn (xem, ví dụ như, Kirkland et al., 1986, J. Immunol.

137:3614-3619), thử nghiệm gắn nhãn trực tiếp pha rắn, thử nghiệm kẹp gắn nhãn trực tiếp pha rắn (xem, ví dụ như, Harlow and Lane, 1988, *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press), RIA gắn nhãn trực tiếp pha rắn bằng cách sử dụng nhãn I-125 (xem, ví dụ như Morel et al., 1988, *Molec. Immunol.* 25:7-15), EIA biotin-avidin trực tiếp pha rắn (xem, ví dụ như, Cheung, et al., 1990, *Virology* 176:546-552), và RIA gắn nhãn trực tiếp (Moldenhauer et al., 1990, *Scand. J. Immunol.* 32:77-82). Thông thường, thử nghiệm này gồm việc sử dụng kháng nguyên đã tinh chế liên kết với bề mặt rắn hoặc bọc lộ ra trên tế bào, protein liên kết kháng nguyên thử nghiệm không được gắn nhãn, và protein liên kết kháng nguyên tham chiếu đã gắn nhãn. Sự ức chế cạnh tranh được đo bằng cách xác định lượng của nhãn được liên kết với bề mặt rắn hoặc tế bào trong sự có mặt của protein liên kết kháng nguyên thử nghiệm. Thông thường protein liên kết kháng nguyên thử nghiệm có mặt với lượng dư. Protein liên kết kháng nguyên xác định được bởi thử nghiệm cạnh tranh (cạnh tranh với protein liên kết kháng nguyên) bao gồm protein liên kết kháng nguyên liên kết với cùng epitop như protein liên kết kháng nguyên tham chiếu, epitop mà gài lên epitop được nhận diện bởi protein liên kết kháng nguyên tham chiếu, và epitop mà không gài lên nhưng cho phép sự cản trở không gian xảy ra giữa protein liên kết kháng nguyên thử nghiệm và protein liên kết kháng nguyên tham chiếu. Thông thường, khi sự cạnh tranh với protein liên kết kháng nguyên có mặt ở lượng dư, nó sẽ ức chế sự liên kết của protein liên kết kháng nguyên tham chiếu với kháng nguyên chung ít nhất là 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, hoặc 75%. Ở một số trường hợp, sự liên kết bị ức chế ít nhất là 80%, 85%, 90%, 95%, hoặc 97% hoặc cao hơn. Trong ít nhất một khía cạnh, protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể) cạnh tranh với protein liên kết kháng nguyên tham chiếu (ví dụ như, Ab-A, Ab-A1, Ab-A2, Ab-B, hoặc Ab-B1 được mô tả trong bản mô tả này, tùy ý trong định dạng kháng thể đặc hiệu kép, chẳng hạn như định dạng kháng thể đặc hiệu kép được mô tả trong các ví dụ (ví dụ như, $XmAb^{2+1}$)) sao cho sự liên kết của protein liên kết kháng nguyên tham chiếu với STEAP1 được làm giảm ít nhất là 80% hoặc ít nhất là 90%.

Protein liên kết kháng nguyên liên kết STEAP1 có trình tự SEQ ID NO: 2. Protein liên kết kháng nguyên cạnh tranh (hoặc phong bế chéo) có thể liên kết epitop mà gài lên epitop được nhận diện bởi protein liên kết kháng nguyên tham chiếu, hoặc epitop mà không gài lên nhưng cho phép sự cản trở không gian xảy ra giữa protein liên kết kháng

nguyên thử nghiệm và protein liên kết kháng nguyên tham chiếu. Theo các khía cạnh khác nhau, protein liên kết kháng nguyên liên kết với cùng epitop như protein liên kết kháng nguyên tham chiếu, chẳng hạn như Ab-A, Ab-A1, Ab-A2 (N67Q), Ab-B, hoặc Ab-B1 hoặc các dạng đặc hiệu kép hoặc đime khác loại của chúng (ví dụ như, Ab-A1 XmAb²⁺¹, Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹, hoặc Ab-B1 XmAb²⁺¹) được mô tả trong bản mô tả này. Ví dụ như, protein liên kết kháng nguyên theo sáng chế tùy ý liên kết STEAP1 trong vùng bên ngoài vòng ngoại bào thứ hai. Protein liên kết kháng nguyên, theo ít nhất một phương án, liên kết với vùng của STEAP1 ở trong các axit amin 92-118 (vòng ngoại bào 1) và/hoặc các axit amin 279-290 (vòng ngoại bào 3). Theo các khía cạnh khác nhau, sáng chế đề xuất protein liên kết kháng nguyên liên kết vùng của STEAP 1 ở trong các axit amin 92-118 và các axit amin 279-290. Cũng tùy ý, protein liên kết kháng nguyên không liên kết STEAP2 (UniProtKB No. Q8NFT2; SEQ ID NO: 177). Nếu muốn, epitop của protein liên kết kháng nguyên tham chiếu và/hoặc protein liên kết kháng nguyên được thử nghiệm có thể được xác định bằng cách làm sáng tỏ cấu trúc tinh thể tia X của protein liên kết kháng nguyên liên kết với STEAP1 hoặc phần của chúng. Theo một phương án như vậy, epitop được xác định dưới dạng các góc trên phần ngoại bào của STEAP1 mà thể hiện sự giảm đi ít nhất là 10% ở khả năng tiếp cận dung môi khi protein liên kết kháng nguyên (tham chiếu hoặc được thử nghiệm) được liên kết với nó khi so với khi nó không được liên kết.

Phương pháp tạo ra protein liên kết kháng nguyên

Phương pháp thích hợp để tạo ra protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên, và sản phẩm protein kháng thể) đã được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ, các phương pháp tế bào lai chuẩn để tạo ra các kháng thể được mô tả trong, ví dụ, Harlow and Lane (eds.), *Antibodies: A Laboratory Manual*, CSH Press (1988), và CA. Janeway et al. (eds.), *Immunobiology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York, NY (2001)). Phương pháp lai tế bào EBV và hệ thống biểu hiện vector thực khuẩn thể được mô tả trong, ví dụ như, Haskard and Archer, *J. Immunol. Methods*, 74(2), 361-67 (1984), Roder et al., *Methods Enzymol.*, 121, 140-67 (1986), và Huse et al., *Science*, 246, 1275-81 (1989)). Phương pháp sản xuất kháng thể ở động vật không phải là người được mô tả trong, ví dụ như, các Bằng sáng chế Mỹ số 5,545,806, 5,569,825, 5,714,352, và 5,814,318; và Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2002/0197266 (tất cả được kết hợp trong bản mô tả này để tham khảo). Theo các khía

cạnh nhất định, protein liên kết kháng nguyên tái tổ hợp mà liên kết STEAP1 được đề xuất. Trong ngữ cảnh này, "protein tái tổ hợp" là protein được tạo ra bằng cách sử dụng kỹ thuật tái tổ hợp, ví dụ như, thông qua sự biểu hiện của axit nucleic tái tổ hợp. Các phương pháp và kỹ thuật để sản xuất các protein tái tổ hợp là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật.

Sự tiên hóa phân tử của các CDR trong vị trí liên kết cũng đã được sử dụng để tạo ra protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể) có ái lực tăng lên, ví dụ như, kháng thể có ái lực tăng lên đối với c-erbB-2, như được mô tả bởi Schier et al., 1996, J. Mol. Biol. 263:551. Các kỹ thuật này hữu dụng trong việc điều chế protein liên kết kháng nguyên kháng-STEAP1 (hoặc protein liên kết kháng nguyên khác được mô tả trong bản mô tả này).

Phương pháp thử nghiệm protein liên kết kháng nguyên về khả năng để liên kết với kháng nguyên, chẳng hạn như STEAP1, đã được biết đến trong lĩnh vực và bao gồm, ví dụ như, thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA), ELISA, thẩm tách Western, kết tủa miễn dịch, cộng hưởng plasmon bề mặt (ví dụ như, BIAcore®), và thử nghiệm ức chế cạnh tranh (xem, ví dụ như, Janeway et al., *nêu trên*; Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2002/0197266; và Bằng sáng chế Mỹ số 7,872,106, tất cả các tài liệu này được kết hợp ở đây để tham khảo đến toàn bộ nội dung của chúng và cụ thể là đối với phần bộc lộ về thử nghiệm cạnh tranh). Thực vậy, các thử nghiệm mà thử nghiệm khả năng của protein liên kết kháng nguyên để cạnh tranh với protein liên kết kháng nguyên thứ hai để liên kết với kháng nguyên, hoặc với epitop của chúng, đã được biết đến trong lĩnh vực và có thể được sử dụng để thử nghiệm khả năng của kháng thể để liên kết với, ví dụ như, STEAP1. Xem, ví dụ như, Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2014/0178905, Chand et al., *Biologicals* 46: 168-171 (2017); Liu et al., *Anal Biochem* 525: 89-91 (2017); và Goolia et al., *J Vet Diagn Invest* 29(2): 250-253 (2017). Cộng hưởng plasmon bề mặt có thể được sử dụng để xác định hằng số liên kết của protein liên kết kháng nguyên và protein liên kết kháng nguyên thứ hai và hai hằng số liên kết này có thể được so sánh.

Protein liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu

Vấn đề vướng mắc trong công nghệ kháng thể là mong muốn đối với kháng thể đặc hiệu kép (và/hoặc đa đặc hiệu) mà liên kết đồng thời với hai (hoặc hơn hai) kháng nguyên khác nhau, nhìn chung cho phép các kháng nguyên khác nhau được đưa vào gần

nhau và dẫn đến chức năng mới và liệu pháp mới. Sáng chế đề xuất protein liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu mới mà liên kết STEAP1 và một hoặc nhiều kháng nguyên đích khác. Theo phương án được ưu tiên, sáng chế đề xuất protein liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép mới (ví dụ như, kháng thể đặc hiệu kép) có chứa miền liên kết kháng-STEAP1 như được mô tả ở trên và vùng liên kết mà liên kết kháng nguyên đích thứ hai (mà có thể là epitop STEAP1 khác, nhưng thường là kháng nguyên khác). Theo các khía cạnh khác nhau, kháng nguyên thứ hai là phân tử bề mặt tế bào có mặt trên tế bào tác động, tức là, tế bào bạch cầu mà biểu hiện một hoặc nhiều FcR (ví dụ như, Fc γ RIII) và thực hiện một hoặc nhiều chức năng tác động có thể quy cho vùng Fc của kháng thể.

Các ví dụ về chức năng tác động bao gồm, nhưng không giới hạn ở, sự liên kết Clq và sự gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC), sự liên kết thụ thể Fc, sự gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC), sự thực bào, sự điều hòa giảm của thụ thể bề mặt tế bào, và sự hoạt hóa tế bào B. Các ví dụ về tế bào tác động tham gia vào ADCC bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tế bào T gây độc tế bào, tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC), tế bào giết tự nhiên (NK), bạch cầu đơn nhân, và bạch cầu trung tính. Theo các khía cạnh khác nhau, sáng chế đề xuất protein liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép (ví dụ như, kháng thể đặc hiệu kép) mà liên kết với cả CD3 (ví dụ như, SEQ ID NO: 1) và STEAP1 (SEQ ID NO: 2). Theo các khía cạnh khác nhau, sáng chế đề xuất protein liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép (ví dụ như, kháng thể đặc hiệu kép) mà liên kết với cả CD3 và các vòng ngoại bào 1 và 3 của STEAP1.

Theo các khía cạnh khác nhau, protein liên kết kháng nguyên đa đặc hiệu khác biệt giữa tế bào đích biểu hiện mức cao của STEAP1 và tế bào lệch đích mà thể hiện ít STEAP1 hơn. Đối với vấn đề này, theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép (ví dụ như, kháng thể đime khác loại) theo sáng chế có thể ưu tiên làm trung gian cho sự tiêu diệt phụ thuộc tế bào T của tế bào khối u, chứng tỏ tác dụng “lệch đích” giảm đi. Ví dụ như, theo một số khía cạnh, kháng thể đặc hiệu kép có chứa protein liên kết kháng nguyên STEAP1 được mô tả trong bản mô tả này bên cạnh vùng liên kết kháng nguyên CD3 ưu tiên làm trung gian cho sự tiêu diệt phụ thuộc tế bào T của tế bào có mật độ bề mặt của STEAP1 lớn hơn 10.000 (ví dụ như, EC90 nhỏ hơn ít nhất là 10 lần đối với tế bào có mật độ bề mặt của STEAP1 lớn hơn 10.000 so với tế bào có mật độ bề mặt của STEAP1 nhỏ hơn 10.000).

Sáng chế đề xuất protein liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép có chứa các trình tự kháng-CD3 mới, bao gồm tập hợp các CDR và chuỗi nhẹ và chuỗi nặng biến đổi đầy đủ. Theo một số khía cạnh, miền liên kết CD3 (tùy ý scFv như được thảo luận dưới đây) của cấu trúc đặc hiệu kép có chứa miền biến đổi chuỗi nặng có chứa các CDR chuỗi nặng có chứa các trình tự axit amin mà khác ở không nhiều hơn 3, 2, hoặc 1 axit amin so với vhCDR1 SEQ ID NO: 170, vhCDR2 SEQ ID NO: 171, và vhCDR3 SEQ ID NO: 172, và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa các CDR chuỗi nhẹ có chứa các trình tự axit amin mà khác ở không nhiều hơn 3, 2, hoặc 1 axit amin so với vlCDR1 SEQ ID NO: 174, vlCDR2 SEQ ID NO: 175, và vlCDR3 SEQ ID NO: 176. Ví dụ như, sáng chế đề xuất cấu trúc đa đặc hiệu (ví dụ như, đặc hiệu kép) có chứa miền biến đổi chuỗi nặng có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% (ví dụ như, tương đồng ít nhất là 95% hoặc tương đồng 100%) với SEQ ID NO: 169 và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% (ví dụ như, tương đồng ít nhất là 95% hoặc tương đồng 100%) với SEQ ID NO: 173.

Ví dụ như, phần kháng-CD3 tùy ý có chứa các trình tự CDR vhCDR1 có chứa SEQ ID NO: 170, vhCDR2 có chứa SEQ ID NO: 171, vhCDR3 có chứa SEQ ID NO: 172, vlCDR1 có chứa SEQ ID NO: 174, vlCDR2 có chứa SEQ ID NO: 175, và vlCDR3 có chứa SEQ ID NO: 176. Đối với vấn đề này, vùng liên kết CD3 tùy ý có chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự SEQ ID NO: 169 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự SEQ ID NO: 173.

Protein liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép có thể có chứa hai miền liên kết kháng nguyên (ví dụ như, mỗi kháng nguyên được liên kết hóa trị một) hoặc ba (hoặc hơn ba) miền liên kết kháng nguyên (ví dụ như, một kháng nguyên được liên kết hóa trị hai và kháng nguyên còn lại được liên kết hóa trị một), chẳng hạn như các miền liên kết STEAP1 và CD3 được mô tả trong bản mô tả này. Kháng thể đặc hiệu kép bao gồm, nhưng không giới hạn ở, globulin miễn dịch đặc hiệu kép truyền thống (ví dụ như, BsIgG), IgG có chứa miền liên kết kháng nguyên đi kèm (ví dụ như, các đầu tận cùng amino hoặc carboxy của chuỗi nhẹ hoặc chuỗi nặng được nối với miền liên kết kháng nguyên khác, chẳng hạn như kháng thể đơn miền hoặc các miền biến đổi kháng thể được ghép cặp (ví dụ như, Fv hoặc scFv)), mảnh BsAb (ví dụ như, kháng thể đơn chuỗi đặc hiệu kép), protein dung hợp đặc hiệu kép (ví dụ như, miền liên kết kháng nguyên dung hợp với gốc tác động), và thể liên hợp BsAb. Xem, ví dụ như, Spiess et al., Molecular

Immunology 67(2) Phần A: 97-106 (2015), mà mô tả các định dạng đặc hiệu kép khác nhau và được kết hợp ở đây để tham khảo. Các ví dụ về cấu trúc đặc hiệu kép bao gồm, nhưng không giới hạn ở, diabody, diabody đơn chuỗi, scFv nối tiếp, và Fab₂ đặc hiệu kép, cũng như là các cấu trúc được thiết kế có chứa kháng thể chiều dài đầy đủ. Xem, ví dụ như, Chames & Baty, 2009, mAbs 1[6]:1-9; và Holliger & Hudson, 2005, Nature Biotechnology 23[9]:1126-1136; Wu et al., 2007, Nature Biotechnology 25[11]:1290-1297; Michaelson et al., 2009, mAbs 1[2]:128-141; Công bố đơn sáng chế quốc tế số 2009032782 và 2006020258; Zuo et al., 2000, Protein Engineering 13[5]:361-367; Công bố đơn sáng chế Mỹ số 20020103345; Shen et al., 2006, J Biol Chem 281[16]:10706-10714; Lu et al., 2005, J Biol Chem 280[20]:19665-19672; và Kontermann, 2012 MAbs 4(2):182, tất cả chúng được kết hợp cụ thể ở đây.

Theo các khía cạnh khác nhau, protein liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép là kháng thể đơn chuỗi đặc hiệu kép (BiScFv). Vùng biến đổi chuỗi nhẹ và vùng biến đổi chuỗi nặng được nối với nhau dưới dạng chuỗi đơn lẻ làm miền liên kết kháng nguyên thứ nhất, mà được nối với miền liên kết kháng nguyên thứ hai có cấu trúc tương tự, tùy ý thông qua cầu nối. Trong trường hợp mà cầu nối được sử dụng, cầu nối này tốt hơn là có chiều dài và trình tự đủ để đảm bảo rằng mỗi miền liên kết kháng nguyên thứ nhất và thứ hai có thể, độc lập với nhau, giữ lại độ đặc hiệu liên kết khác nhau của chúng. Phân tử đơn chuỗi đặc hiệu kép đã được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật và được mô tả thêm trong Bằng sáng chế Mỹ số 7635472, Công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 99/54440; Mack, J. Immunol. (1997), 158, 3965-3970; Mack, PNAS, (1995), 92, 7021-7025; Kufer, Cancer Immunol. Immunother., (1997), 45, 193-197; Loffler, Blood, (2000), 95, 6, 2098-2103; Bruhl, Immunol., (2001), 166, 2420-2426; và Kipriyanov, J. Mol. Biol., (1999), 293, 41-56, mà đều được kết hợp để tham khảo đến toàn bộ nội dung của chúng.

Các định dạng liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép khác được mô tả trong, ví dụ như, Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2011/0054151, được kết hợp ở đây để tham khảo. Ví dụ như, protein liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép có thể có chứa định dạng mAb-Fv, trong đó kháng thể IgG được dung hợp ở đầu tận cùng C với mảnh Fv. Theo cách khác, định dạng mAb-Fab có thể được sử dụng trong đó kháng thể IgG được dung hợp ở đầu tận cùng C với Fab. Cấu trúc mAb-Fab chứa các miền không đổi CH và CL ở đầu tận cùng C đối với thể dung hợp Fv ở đầu tận cùng C, trong khi đó mAb-Fv thì không. Xem Hình 8 của Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2011/0054151. Một cách tùy ý, vùng liên kết

đầu tận cùng N của các cấu trúc mAb-Fv và mAb-Fab thiếu chuỗi nhẹ và miền CH1 (tức là, có chứa vùng VHH đơn miền). Các cấu trúc mAb-Fv và mAb-Fab chứa ba vùng biến đổi, sao cho chúng liên kết kháng nguyên thứ nhất có hóa trị hai và kháng nguyên thứ hai có hóa trị một. Định dạng liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép thích hợp còn bao gồm các cấu trúc Fab-Fv và Fab-Fab được mô tả trong Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2011/0054151. Globulin miễn dịch Fab-Fv và Fab-Fab có chứa mảnh Fab đầu tận cùng N mà liên kết kháng nguyên thứ nhất và mảnh Fv hoặc Fab đầu tận cùng C liên kết kháng nguyên thứ hai.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến việc tạo ra kháng thể đime khác loại mà đồng ăn khớp các kháng nguyên và dựa vào biến thể axit amin trong các vùng không đổi mà khác nhau trên mỗi chuỗi để thúc đẩy sự tạo thành đime khác loại và/hoặc cho phép dễ dàng tinh chế đime khác loại ra khỏi các đime cùng loại. Nhìn chung, các kháng thể đặc hiệu kép được tạo thành bằng cách bao gồm các gen đối với mỗi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ vào tế bào chủ. Điều này thường dẫn đến sự tạo thành của đime khác loại mong muốn (A-B), cũng như là hai đime cùng loại (A-A và B-B). Tuy nhiên, trở ngại chính trong sự tạo thành của kháng thể đa đặc hiệu là khó khăn trong việc tinh chế kháng thể đime khác loại ra khỏi kháng thể đime cùng loại và/hoặc hướng sự tạo thành của đime khác loại trên sự tạo thành của đime cùng loại.

Sáng chế đề xuất định dạng kháng thể đime khác loại mà khắc phục các rào cản liên quan đến các công nghệ trước đây. Ngoài ra, trong ngữ cảnh của protein liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép STEAP1/CD3, kháng thể đime khác loại theo sáng chế cho phép sự liên kết hóa trị một của CD3. Sự kích hoạt CD3 của tế bào T xảy ra chỉ khi thụ thể tế bào T có liên quan của nó (TCR) ăn khớp MHC được nạp kháng nguyên trên tế bào trình diện kháng nguyên trong khớp thần kinh tế bào với tế bào ái lực cao (Kuhns et al., 2006, *Immunity* 24:133-139). Sự liên kết ngang hóa trị hai không đặc hiệu của CD3 bằng cách sử dụng kháng thể kháng CD3 gây ra cơn bão cytokin và tính độc (Perruche et al., 2009, *J Immunol* 183[2]:953-61; Chatenoud & Bluestone, 2007, *Nature Reviews Immunology* 7:622-632; được kết hợp ở đây để tham khảo). Do đó, đối với ứng dụng lâm sàng trong thực tiễn, cách ăn khớp đồng thời với CD3 được ưu tiên đối với việc tiêu diệt được tái định hướng của các tế bào đích là liên kết hóa trị một, tạo ra sự kích hoạt chỉ trong quá trình ăn khớp với đích được ăn khớp đồng thời. Do đó, trong một phương án, kháng thể đime khác loại theo sáng chế mang lại ưu điểm của sự liên

kết hóa trị một với CD3 và sự liên kết hóa trị hai với STEAP1 ở định dạng mà mang lại sự sản xuất kháng thể hiệu quả.

Định dạng kháng thể dime khác loại ví dụ có chứa một chuỗi nặng có Fv đơn chuỗi (scFv) và chuỗi nặng thứ hai ở định dạng Fab "thông thường", tức là, có chứa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ biến đổi. Theo cách khác, kháng thể dime khác loại có chứa a) chuỗi nặng thứ nhất có chứa miền Fc biến đổi thứ nhất và vùng Fv đơn chuỗi (scFv) mà liên kết kháng nguyên thứ nhất (tùy ý CD3); b) chuỗi nặng thứ hai có chứa miền Fc biến đổi thứ hai và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất; và c) chuỗi nhẹ thứ nhất có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và miền không đổi chuỗi nhẹ thứ nhất, trong đó miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất liên kết với kháng nguyên thứ hai (tùy ý STEAP1). Để minh họa, cấu trúc có chứa một monome có vùng scFv-cầu nối miền-miền Fc và monome thứ hai có VH-CH1-bản lề-CH2-CH3 cộng với chuỗi nhẹ kết hợp, tùy ý với các biến thể dime hóa khác loại, bao gồm các biến thể không gian và pI, các biến thể Fc và FcRn, và miền liên kết kháng nguyên khác (với các cầu nối tùy ý) được bao gồm trong các vùng này. Theo một số phương án, cầu nối là vùng bản lề hoặc mảnh của chúng. Cấu trúc này đôi khi được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng định dạng XmAb, định dạng "bộ ba F" (scFv-FAb-Fc) hoặc định dạng "cái mở nắp chai". Hai chuỗi này tốt hơn là được đưa vào với nhau bằng cách sử dụng biến thể axit amin trong các vùng không đổi (ví dụ, miền Fc và/hoặc vùng bản lề) mà thúc đẩy sự tạo thành của kháng thể dime khác loại như được mô tả đầy đủ hơn dưới đây. Tốt hơn là, scFv liên kết CD3, và tùy ý bao gồm cầu nối scFv tích điện dương. Theo cách khác, scFv liên kết STEAP1. Định dạng "bộ ba F" được mô tả thêm trong Bảng sáng chế Mỹ số 9,822,186, được kết hợp để tham khảo trong bản mô tả này đến toàn bộ nội dung của nó và cụ thể là đối với phần bộc lộ về cấu trúc kháng thể dime khác loại.

Theo khía cạnh khác, protein liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép là kháng thể dime khác loại có chứa monome thứ nhất có chứa chuỗi nặng thứ nhất có chứa miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất, chuỗi nặng không đổi thứ nhất có chứa miền CH1 thứ nhất và miền Fc thứ nhất, với scFv có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ scFv, cầu nối scFv, và miền biến đổi chuỗi nặng scFv. scFv được gắn cộng hóa trị giữa đầu tận cùng C của miền CH1 của miền không đổi chuỗi nặng và đầu tận cùng N của miền Fc thứ nhất bằng cách sử dụng (các) cầu nối miền, và scFv liên kết CD3. Kháng thể dime khác loại còn chứa monome thứ hai có chứa chuỗi nặng thứ hai có chứa miền biến đổi chuỗi nặng thứ

hai và chuỗi nặng không đổi thứ hai có chứa miền Fc thứ hai. Kháng thể đime khác loại sử dụng thêm chuỗi nhẹ chung có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ và miền không đổi chuỗi nhẹ, mà kết hợp với chuỗi nặng để tạo thành hai Fab giống nhau mà liên kết STEAP1. Định dạng này đôi khi được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng định dạng " $XmAb^{2+1}$ " do sự liên kết hóa trị hai với một kháng nguyên đích. Do đó, trong một phương án, kháng thể đime khác loại theo sáng chế mang lại ưu điểm của sự liên kết hóa trị một với CD3 và sự liên kết hóa trị hai với STEAP1 ở định dạng mà mang lại sự sản xuất kháng thể hiệu quả.

Như được mô tả thêm dưới đây, kháng thể đime khác loại cũng có thể bao gồm các đột biến để tạo ra các biến thể đối xứng lệch, các biến thể pI, các biến thể cắt bỏ, các biến thể Fc khác, v.v.. Ví dụ như, theo các khía cạnh khác nhau, các miền Fc thứ nhất và thứ hai có tập hợp của các đột biến thể axit amin được chọn từ nhóm gồm có S364K/E357Q:L368D/K370S; L368D/K370S:S364K; L368E/K370S:S364K; T411T/E360E/Q362E:D401K; L368D/K370S:S364K/E357L và K370S:S364K/E357Q.

Sự minh họa của định dạng kháng thể đime khác loại $XmAb^{2+1}$ theo sáng chế được nêu trong Hình 1. Miền scFv và sự cung cấp hai phần Fab tạo thành ba miền liên kết kháng nguyên, trong đó phần Fab của hai monome liên kết STEAP1 và miền scFv liên kết CD3. Miền scFv được cài xen giữa miền Fc và vùng CH1-Fv của một trong số các monome.

Kháng thể đime khác loại tốt hơn là thuộc lớp IgG, mà có một vài phân lớp, bao gồm, nhưng không giới hạn ở IgG1, IgG2, IgG3, và IgG4, mặc dù IgM, IgD, IgG, IgA, và IgE cũng được dự tính. Cần phải hiểu rằng các kháng thể cũng có thể có chứa thể lai của phân lớp và/hoặc lớp phụ. Ví dụ như, thiết kế pI của thể lai IgG1/G2, như thể hiện trong Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2009/0163699, được kết hợp để tham khảo, được dự tính là một phần của bản mô tả.

Có một số cơ chế có thể được sử dụng để tạo ra đime khác loại theo sáng chế. Ngoài ra, như hiểu rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật và được mô tả đầy đủ hơn dưới đây, các cơ chế này có thể được kết hợp để đảm bảo sự đime hóa khác loại mức độ cao.

Một cơ chế được đề cập chung trong lĩnh vực là "nút và lỗ" ("KIH"), dùng để chỉ thiết kế axit amin mà tạo ra sự ảnh hưởng không gian để ưu tiên sự tạo thành đime khác loại và không ưu tiên sự tạo thành đime cùng loại cũng có thể tùy ý được sử dụng; cơ chế này đôi khi được gọi là "nút và lỗ", như được mô tả trong Công bố đơn sáng chế Mỹ số 20130205756, Ridgway et al., Protein Engineering 9(7):617 (1996); Atwell et al., J. Mol. Biol. 1997 270:26; và Bằng sáng chế Mỹ số 8,216,805, tất cả các tài liệu này được kết hợp ở đây để tham khảo đến toàn bộ nội dung của chúng, cụ thể là phần bộc lộ về sự sản xuất kháng thể đime khác loại. Ngoài ra, như được mô tả trong Merchant et al., Nature Biotech. 16:677 (1998), các đột biến "nút và lỗ" có thể được kết hợp với liên kết disulfua để làm lệch sự tạo thành về phía sự đime hóa khác loại. Ví dụ về các đột biến bao gồm T366S/L368A/Y407V bắt cặp với T366W, cũng như là biến thể này với cầu disulfua, T366S/L368A/Y407V/Y349C bắt cặp với T366W/S354C, cụ thể là kết hợp với các biến thể đime hóa khác loại khác bao gồm các biến thể pI như mô tả dưới đây.

Cơ chế khác mà được sử dụng để tạo ra đime khác loại đôi khi được gọi là "sự dẫn hướng tĩnh điện" như được mô tả trong tài liệu Gunasekaran et al., J. Biol. Chem. 285(25):19637 (2010), được kết hợp ở đây để tham khảo đến toàn bộ nội dung của nó. Cơ chế này đôi khi được gọi trong bản mô tả này là "cặp điện tích". Theo phương án này, sự tĩnh điện được sử dụng để làm lệch sự tạo thành về phía sự đime hóa khác loại. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật hiểu rõ rằng, chúng cũng có thể có ảnh hưởng đối với pI, và do đó đối với sự tinh chế, và do đó trong một số trường hợp cũng có thể được coi là biến thể pI. Tuy nhiên, vì chúng được tạo ra để ép sự đime hóa khác loại và không được dùng làm công cụ tinh chế, chúng được phân loại là "biến thể không gian". Chúng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, D221E/P228E/L368E được ghép cặp với D221R/P228R/K409R (tức là, chúng là "tập hợp tương ứng monome) và C220E/P228E/368E được ghép cặp với C220R/E224R/P228R/K409R. Theo một số phương án của các vùng khung, đột biến vị trí 220 loại bỏ cysteine không cần nữa đối với sự tạo thành disulfua chuỗi nặng và chuỗi nhẹ. "Các biến thể không gian" là phương án tùy chọn của sáng chế.

Có một vài cơ chế mà có thể dẫn đến sự tinh chế dễ dàng của protein đime khác loại; một cơ chế dựa vào việc sử dụng biến thể pI, sao cho mỗi monome có pI khác nhau, do đó cho phép sự tinh chế đẳng điện của các protein đime A-A, A-B và B-B. Theo cách khác, sự tách có thể được thực hiện dựa vào kích thước. Cũng có thể tạo "đối xứng lệch"

sự tạo thành của đime khác loại hơn là đime cùng loại, như được mô tả chung dưới đây. Do đó, sự kết hợp của các biến thể không gian đime hóa khác loại và các biến thể pI hoặc cặp điện tích có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế. Ngoài ra, scFv có thể bao gồm cầu nối scFv tích điện (dương hoặc âm), mà tạo ra sự tăng cường pI hơn nữa nhằm mục đích tinh chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật hiểu rõ rằng, một số định dạng bộ ba F hữu dụng chỉ với cầu nối scFv tích điện và không có sự điều chỉnh pI bổ sung, mặc dù sáng chế cũng đề xuất việc sử dụng các biến thể đối xứng lệch với cầu nối scFv tích điện (và các dạng kết hợp của các biến thể Fc, FcRn và KO được thảo luận trong bản mô tả này).

Theo các phương án mà sử dụng pI làm cơ chế tách, biến thể axit amin có thể được đưa vào một hoặc cả hai polypeptit monome; tức là, pI của một trong số các monome (trong bản mô tả này được gọi đơn giản là "monome A") có thể được thiết kế bên ngoài monome B, hoặc cả hai monome A và B được thay đổi, với pI của monome A tăng lên và pI của monome B giảm đi. Sự thay đổi pI của một trong hai hoặc cả hai monome có thể được thực hiện bằng cách loại bỏ hoặc bổ sung gốc tích điện (ví dụ như, axit amin trung tính được thay thế bằng gốc axit amin tích điện dương hoặc âm, ví dụ như, glyxin thành axit glutamic), làm thay đổi gốc tích điện từ dương hoặc âm thành điện tích ngược lại (ví dụ như axit aspartic thành lysin), hoặc làm thay đổi gốc tích điện thành gốc trung tính (ví dụ như, mất điện tích; lysin thành serin). Ngoài ra, các biến thể pI thích hợp để sử dụng trong việc tạo ra kháng thể đime khác loại trong bản mô tả này là các biến thể mà là cùng loại, ví dụ như, nhập các biến thể pI từ các isotyp IgG khác nhau sao cho pI thay đổi mà không tạo ra khả năng sinh miễn dịch đáng kể; xem Hình 29 từ Công bố đơn sáng chế Mỹ số 20140288275, được kết hợp ở đây để tham khảo đến toàn bộ nội dung của nó.

Theo đó, phương án này đề xuất tạo ra sự thay đổi đủ ở pI trong ít nhất một trong số các monome sao cho đime khác loại có thể được tách từ đime cùng loại. Điều này có thể được thực hiện bằng cách sử dụng vùng không đổi chuỗi nặng "kiểu đại" và vùng biến thể mà đã được thiết kế để làm tăng hoặc làm giảm pI của nó (wt A-+B hoặc wt A - -B), hoặc bằng cách làm tăng một vùng và làm giảm vùng kia (A+ -B- hoặc A- B+). Cần lưu ý rằng trong phần thảo luận này không có vấn đề gì với việc monome nào có chứa scFv và Fab nào. Sơ đồ liên quan đến việc sử dụng các biến thể pI được nêu trên Hình 34 của Bằng sáng chế Mỹ số 9,822,186 (được kết hợp trong bản mô tả này để tham

khảo đến toàn bộ nội dung của nó, và cụ thể là đối với phần thảo luận về các biến thể kháng thể dime khác loại và các trình tự kháng-CD3). Các biến thể pI có thể được kết hợp với các biến thể đối xứng lệch trong định dạng "cắm và chạy", trong đó tác dụng của các biến thể truyền sang các kháng thể khác nhau với các vùng Fv khác nhau một cách dễ dàng và rất ổn định.

Do đó, nhìn chung, khía cạnh của sáng chế bao gồm các biến thể axit amin trong các vùng không đổi của kháng thể mà được định hướng để làm thay đổi điểm đẳng điện (pI) của ít nhất là một trong số các, nếu không phải cả hai, monome của kháng thể để tạo thành "dime khác loại pI" (tức là, "kháng thể pI") bằng cách kết hợp các đột biến thể axit amin ("các biến thể pI" hoặc "sự thể pI") vào một trong hai hoặc cả hai monome. Sự tách của dime khác loại từ hai dime cùng loại có thể được thực hiện nếu các pI của hai monome khác nhau ít bằng 0,1 đơn vị pH, ví dụ như, độ khác biệt bằng 0,2, 0,3, 0,4 và 0,5 pH hoặc lớn hơn.

Số lượng của các biến thể pI được bao gồm trên mỗi hoặc cả hai monome để đạt được sự tách mong muốn sẽ phụ thuộc, một phần, vào pI bắt đầu của scFv và Fab. Tức là, để xác định monome nào để thiết kế hoặc trong đó "hướng" (ví dụ, dương hơn hoặc âm hơn), các trình tự Fv của hai kháng nguyên đích được tính và quyết định được đưa ra từ đó. Như đã biết trong lĩnh vực, các Fv khác nhau sẽ có các pI bắt đầu khác nhau mà được khai thác. Nhìn chung, các pI được thiết kế để dẫn đến sự khác biệt pI tổng số của mỗi monome bằng ít nhất là khoảng 0,1 log, với từ 0,2 đến 0,5 được ưu tiên.

Ngoài ra, trong một số trường hợp (tùy thuộc vào định dạng) các dime khác loại có thể được tách ra khỏi dime cùng loại dựa vào kích thước (ví dụ như, khối lượng phân tử). Ví dụ như, như thể hiện trong một số phương án của Hình 18A-I, một số định dạng dẫn đến dime cùng loại và dime khác loại có kích thước khác nhau (ví dụ như, đối với cái mở nắp chai, một dime cùng loại là định dạng "scFv kép", một dime cùng loại là kháng thể tiêu chuẩn, và dime khác loại có một Fab và một scFv). Ngoài ra, như được minh họa trên Hình 18A-I, có thể là một số kháng nguyên được liên kết hóa trị hai (ví dụ như, hai vị trí liên kết kháng nguyên với kháng nguyên đơn lẻ). Như được hiểu rõ, dạng kết hợp bất kỳ của Fab và scFv có thể được sử dụng để đạt được kết quả và các dạng kết hợp mong muốn.

Trong trường hợp mà biến thể pI được sử dụng để đạt được sự đime hóa khác loại, bằng cách sử dụng (các) vùng không đổi của (các) chuỗi nặng, cách tiếp cận modun hơn để thiết kế và tinh chế protein đa đặc hiệu, bao gồm kháng thể, được đề xuất. Do đó, theo một số phương án, biến thể đime hóa khác loại (bao gồm biến thể đối xứng lệch và biến thể đime hóa khác loại tinh chế) không được bao gồm trong các vùng biến đổi, sao cho mỗi kháng thể cụ thể phải được thiết kế. Ngoài ra, theo một số phương án, khả năng sinh miễn dịch do các biến thể pI được làm giảm đáng kể bằng cách nhập các biến thể pI từ các isotyp IgG khác nhau sao cho pI thay đổi mà không tạo ra khả năng sinh miễn dịch đáng kể. Do đó, vấn đề khác cần phải giải quyết là làm sáng tỏ miền không đổi pI thấp với hàm lượng trình tự ở người cao, ví dụ, làm giảm thiểu hoặc tránh các gốc không phải ở người ở vị trí cụ thể bất kỳ.

Lợi ích phụ mà có thể xảy ra với thiết kế pI còn là sự kéo dài thời gian bán thải trong huyết thanh và sự liên kết FcRn tăng lên. Tức là, như được mô tả trong Công bố đơn sáng chế Mỹ số 20120028304 (kết hợp ở đây chỉ để tham khảo), việc hạ thấp pI của miền không đổi kháng thể (bao gồm các miền không đổi kháng thể tìm thấy trong kháng thể và thể dung hợp Fc) có thể dẫn đến thời gian lưu giữ trong huyết thanh *in vivo* lâu hơn. Các biến thể pI có thời gian bán thải trong huyết thanh tăng lên cũng tạo điều kiện cho sự thay đổi pI dễ tinh chế.

Protein dung hợp dạng đime khác loại theo sáng chế có thể có nhiều cấu hình, như được minh họa chung trong các Hình 18A-I. Một số hình vẽ minh họa cấu hình "đầu đơn", trong đó có một kiểu đặc hiệu trên một "nhánh" của phân tử và kiểu đặc hiệu khác trên "nhánh" kia. Các hình vẽ khác minh họa cấu hình "đầu kép", trong đó có ít nhất là một kiểu đặc hiệu ở "phía trên" của phân tử và một hoặc nhiều kiểu đặc hiệu khác nhau ở "phía dưới" của phân tử. Một giá đỡ đime khác loại mà được sử dụng trong sáng chế này là định dạng giá đỡ "bộ ba F" hoặc "cái mở nắp chai" như được minh họa trên Hình 18A và được mô tả ở trên. Có một vài ưu điểm khác biệt đối với định dạng "bộ ba F". Chất tương tự kháng thể dựa vào hai cấu trúc scFv thường có vấn đề về sự ổn định và sự kết tụ, mà có thể được làm giảm nhẹ bằng cấu trúc được mô tả trong bản mô tả sáng chế này bằng cách bổ sung sự bắt cặp chuỗi nặng và chuỗi nhẹ "bình thường". Ngoài ra, trái ngược với các định dạng mà dựa vào hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ, không có vấn đề gì với sự bắt cặp không chính xác chuỗi nặng và chuỗi nhẹ (ví dụ, chuỗi nặng 1 bắt

cặp với chuỗi nhẹ 2, v.v.). Các định dạng protein liên kết kháng nguyên hữu dụng khác được mô tả dưới đây.

Theo các khía cạnh khác nhau, scFv của kháng thể dime khác loại có chứa các trình tự kháng-CD3 CDR được mô tả trong bản mô tả này. Ví dụ như, theo các khía cạnh khác nhau, scFv có chứa vhCDR1 có chứa SEQ ID NO: 170, vhCDR2 có chứa SEQ ID NO: 171, vhCDR3 có chứa SEQ ID NO: 172, vlCDR1 có chứa SEQ ID NO: 174, vlCDR2 có chứa SEQ ID NO: 175, và vlCDR3 có chứa SEQ ID NO: 176. Ví dụ như, scFv tùy ý có chứa vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự SEQ ID NO: 169 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự SEQ ID NO: 173. Theo các khía cạnh khác nhau, scFv có chứa trình tự SEQ ID NO: 44.

Theo một số phương án, scFv có chứa trình tự axit amin nêu trên Hình 19, ví dụ như, trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 44. Các trình tự nêu trên Hình 19 cung cấp các miền liên kết kháng nguyên có ái lực khác nhau. Trong một số chỉ dẫn, ái lực mạnh hơn có thể được ưu tiên, mặc dù trong các chỉ dẫn khác, ái lực yếu hơn có thể được sử dụng. Do đó, theo một số phương án, sáng chế đề xuất kháng thể dime khác loại có chứa miền liên kết kháng nguyên kháng-CD3 là chất liên kết "mạnh" hoặc "ái lực cao" với CD3 (ví dụ, một ví dụ là miền biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được mô tả là H1.30_L1.47 (tùy ý bao gồm cầu nối tích điện khi thích hợp)). Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất kháng thể dime khác loại có chứa miền liên kết kháng nguyên kháng-CD3 mà là chất liên kết "yếu" hoặc "ái lực thấp hơn" với CD3.

Các cầu nối scFv điển hình được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật và thường có chiều dài từ 10 đến 25 axit amin và bao gồm glyxin và serin. "Cầu nối scFv tích điện" có nghĩa là cầu nối scFv mà sử dụng các axit amin tích điện để sử dụng trong việc tạo ra và tinh chế kháng thể dime khác loại mà bao gồm ít nhất một scFv. Cầu nối scFv tích điện thích hợp được thể hiện trong các Hình 8A, Hình 8B và Hình 19, mặc dù các cầu nối khác có thể được sử dụng. Nhìn chung, cầu nối scFv tích điện được dự tính để sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế có sự thay đổi điện tích từ 3 đến 8 (3, 4, 5, 6, 7 hoặc 8 tất cả đều có thể) khi so với cầu nối scFv không tích điện tiêu chuẩn chẳng hạn như các trình tự (GGGGS)₃₋₅ (SEQ ID NO:179) được sử dụng theo truyền thống (âm hoặc dương). scFv tích điện tùy ý có chứa trình tự axit amin được chọn từ IRPRAIGGSKPRVA (SEQ ID NO: 145), GKGGSGKGGSGKGGGS (SEQ ID NO: 146), GGKGGSGGKGGSGGKGS (SEQ ID NO: 147), GGGKSGGGKSGGGKS (SEQ ID NO:

148), GKGKSGKGKSGKGKS (SEQ ID NO: 149), GGGKSGGKGSGKGGS (SEQ ID NO: 150), GKPGSGKPGSGKPGS (SEQ ID NO: 151), GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS (SEQ ID NO: 152), hoặc GKGKSGKGKSGKGKSGKGKS (SEQ ID NO: 153). Theo các khía cạnh khác nhau, scFv có chứa trình tự axit amin GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS (SEQ ID NO: 152).

Trong các khía cạnh ví dụ, scFv có chứa trình tự CDR, trình tự vùng biến đổi, trình tự cầu nối scFv, hoặc trình tự scFv có độ tương đồng trình tự ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, ít nhất là khoảng 90%, hoặc có độ tương đồng trình tự lớn hơn khoảng 90% (ví dụ như, khoảng 91%, khoảng 92%, khoảng 93%, khoảng 94%, khoảng 95%, khoảng 96%, khoảng 97%, khoảng 98%, hoặc khoảng 99%) với trình tự bất kỳ trong số các trình tự được đề xuất trong bản mô tả này (ví dụ như, các trình tự CDR nêu trong một hoặc nhiều SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 4-6, 8-10, 11-17, 21, 23-25, 27-29, 30-35, 170-173, và 174-176, các trình tự vùng biến đổi nêu trong một hoặc nhiều SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 3, 7, 22, 26, 41, 42, 45, 46, 49, 50, 53, 54, 57, 58, 61, 62, 65, 66, 69, 70, 73, 74, 77, 78, 81, 82, 85, 86, 89, 90, 93, 94, 97, 98, 101, 102, 105, 106, 109, 110, 113, 114, 117, 118, 121, 122, 125, 126, 129, 130, 133, 134, 137, 138, 141, 142, 169, 173, và 182-186; trình tự cầu nối scFv nêu trong SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 143-168, và/hoặc trình tự scFv nêu trong SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 19, 20, 38, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 55, 56, 59, 60, 63, 64, 67, 68, 71, 72, 75, 76, 79, 80, 83, 84, 87, 88, 91, 92, 95, 96, 99, 100, 104, 104, 107, 108, 111, 112, 115, 116, 119, 120, 123, 124, 127, 128, 131, 132, 135, 136, 139, và 140). Ví dụ như, scFv có thể có chứa các trình tự CDR như nêu trong một hoặc nhiều SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 4-6, 8-10, 11-17, 21, 23-25, 27-29, 30-35, 170-173, và 174-176 nhưng có chứa một hoặc hai đột biến thể axit amin. Theo cách khác, theo các khía cạnh khác nhau, scFv có thể có chứa các trình tự vùng biến đổi mà được cải biến so với SEQ ID NO: 3, 7, 22, 26, 41, 42, 45, 46, 49, 50, 53, 54, 57, 58, 61, 62, 65, 66, 69, 70, 73, 74, 77, 78, 81, 82, 85, 86, 89, 90, 93, 94, 97, 98, 101, 102, 105, 106, 109, 110, 113, 114, 117, 118, 121, 122, 125, 126, 129, 130, 133, 134, 137, 138, 141, 142, 169, 173, hoặc 182-186, trong đó các cải biến này nằm ngoài các trình tự CDR.

Miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai của kháng thể đime khác loại, theo các khía cạnh khác nhau, có chứa các trình tự CDR hoặc trình

tự vùng biến đổi kháng-STEAP1 được mô tả trong bản mô tả này. Ví dụ như, theo một số phương án, miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai của kháng thể đime khác loại có chứa vhCDR1 có chứa SEQ ID NO: 14, vhCDR2 có chứa SEQ ID NO: 15 hoặc SEQ ID NO: 21, và vhCDR3 có chứa SEQ ID NO: 16; và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa vlCDR1 có chứa SEQ ID NO: 11, vlCDR2 có chứa SEQ ID NO: 12, và vlCDR3 có chứa SEQ ID NO: 13. Theo cách khác, miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa vhCDR1 có chứa SEQ ID NO: 33, vhCDR2 có chứa SEQ ID NO: 34, và vhCDR3 có chứa SEQ ID NO: 35; và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa vlCDR1 có chứa SEQ ID NO: 30, vlCDR2 có chứa SEQ ID NO: 31, và vlCDR3 có chứa SEQ ID NO: 32. Theo các phương án được ưu tiên, miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa SEQ ID NO: 182 hoặc SEQ ID NO: 184 và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa SEQ ID NO: 183. Theo cách khác, miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa SEQ ID NO: 185 và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa SEQ ID NO: 186.

Theo các khía cạnh khác nhau theo sáng chế, kháng thể đime khác loại có chứa a) monome thứ nhất có chứa trình tự SEQ ID NO: 19 hoặc 20, monome thứ hai có chứa trình tự SEQ ID NO: 18, và chuỗi nhẹ chung có chứa trình tự SEQ ID NO: 17; hoặc b) monome thứ nhất có chứa trình tự SEQ ID NO: 38, monome thứ hai có chứa trình tự SEQ ID NO: 37, và chuỗi nhẹ chung có chứa trình tự SEQ ID NO: 36.

Theo các khía cạnh khác nhau theo sáng chế, kháng thể đime khác loại có chứa monome thứ nhất có chứa trình tự SEQ ID NO: 202 hoặc 207, monome thứ hai có chứa trình tự SEQ ID NO: 201 hoặc 203, và chuỗi nhẹ chung có chứa trình tự SEQ ID NO: 200 (ví dụ như, monome thứ nhất có chứa trình tự SEQ ID NO: 202, monome thứ hai có chứa trình tự SEQ ID NO: 201, và chuỗi nhẹ có chứa trình tự SEQ ID NO: 200; hoặc monome thứ nhất có chứa trình tự SEQ ID NO: 207, monome thứ hai có chứa trình tự SEQ ID NO: 203, và chuỗi nhẹ có chứa trình tự SEQ ID NO: 200). Theo cách khác; kháng thể đime khác loại có thể có chứa monome thứ nhất có chứa trình tự SEQ ID NO: 206, monome thứ hai có chứa trình tự SEQ ID NO: 205, và chuỗi nhẹ chung có chứa trình tự SEQ ID NO: 204.

Trong các khía cạnh ví dụ, miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và/hoặc thứ hai có thể có chứa các trình tự CDR hoặc các trình tự vùng biến đổi có độ tương đồng trình tự

ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, ít nhất là khoảng 90%, hoặc có độ tương đồng trình tự lớn hơn khoảng 90% (ví dụ như, khoảng 91%, khoảng 92%, khoảng 93%, khoảng 94%, khoảng 95%, khoảng 96%, khoảng 97%, khoảng 98%, hoặc khoảng 99%) với trình tự bất kỳ trong số các trình tự được đề xuất trong bản mô tả này (ví dụ như, các trình tự CDR nêu trong một hoặc nhiều SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 4-6, 14-17, 21, 23-25, 33-35, và 170-172 hoặc các trình tự vùng biến đổi nêu trong SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 3, 22, 41, 45, 49, 53, 57, 61, 65, 69, 73, 77, 81, 85, 89, 93, 97, 101, 105, 109, 113, 117, 121, 125, 129, 133, 137, 141, 169, 182, 184, và 185). Ví dụ như, miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và/hoặc thứ hai có thể có chứa các trình tự CDR như nêu trong một hoặc nhiều SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 4-6, 14-17, 21, 23-25, 33-35, và 170-172 nhưng có chứa một hoặc hai đột biến thể axit amin. Theo cách khác, theo các khía cạnh khác nhau, miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và/hoặc thứ hai có thể có chứa các trình tự vùng biến đổi mà được cải biến so với SEQ ID NO: 3, 22, 41, 45, 49, 53, 57, 61, 65, 69, 73, 77, 81, 85, 89, 93, 97, 101, 105, 109, 113, 117, 121, 125, 129, 133, 137, 141, 169 182, 184, hoặc 185, trong đó các cải biến này nằm ngoài các trình tự CDR. Tương tự, miền biến đổi chuỗi nhẹ có thể có chứa các trình tự CDR hoặc các trình tự vùng biến đổi có độ tương đồng trình tự ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, ít nhất là khoảng 90%, hoặc có độ tương đồng trình tự lớn hơn khoảng 90% (ví dụ như, khoảng 91%, khoảng 92%, khoảng 93%, khoảng 94%, khoảng 95%, khoảng 96%, khoảng 97%, khoảng 98%, hoặc khoảng 99%) với trình tự bất kỳ trong số các trình tự được đề xuất trong bản mô tả này (ví dụ như, các trình tự CDR nêu trong một hoặc nhiều SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 8-10, 11-13, 27-29, 30-32, và 174-176 hoặc các trình tự vùng biến đổi nêu trong SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 7, 26, 42, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98, 102, 106, 110, 114, 118, 122, 126, 130, 134, 138, 142, 173, 183, và 186), theo các khía cạnh khác nhau. Ví dụ như, miền biến đổi chuỗi nhẹ có thể có chứa các trình tự CDR như nêu trong một hoặc nhiều SEQ ID NO bất kỳ trong số các SEQ ID NO: 8-10, 11-13, 27-29, 30-32, và 174-176, nhưng có chứa một hoặc hai đột biến thể axit amin. Theo cách khác, theo các khía cạnh khác nhau, miền biến đổi chuỗi nhẹ có thể có chứa các trình tự vùng biến đổi mà được cải biến so với SEQ ID NO: 7, 26, 42, 46, 50, 54, 58, 62, 66, 70, 74, 78, 82, 86, 90, 94, 98, 102, 106, 110, 114, 118, 122, 126, 130, 134, 138, 142, 173, 183, hoặc 186,

trong đó các cải biến này nằm ngoài các trình tự CDR. Nếu muốn, monome thứ nhất có thể có chứa trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, ít nhất là khoảng 90%, hoặc có độ tương đồng trình tự lớn hơn khoảng 90% (ví dụ như, khoảng 91%, khoảng 92%, khoảng 93%, khoảng 94%, khoảng 95%, khoảng 96%, khoảng 97%, khoảng 98%, hoặc khoảng 99%) với trình tự bất kỳ trong số các trình tự được đề xuất trong bản mô tả này (SEQ ID NO: 19, 20, 38, 202, 206 hoặc 207); monome thứ hai có thể có chứa trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, ít nhất là khoảng 90%, hoặc có độ tương đồng trình tự lớn hơn khoảng 90% (ví dụ như, khoảng 91%, khoảng 92%, khoảng 93%, khoảng 94%, khoảng 95%, khoảng 96%, khoảng 97%, khoảng 98%, hoặc khoảng 99%) với trình tự bất kỳ trong số các trình tự được đề xuất trong bản mô tả này (SEQ ID NO: 18, 199 hoặc 37; hoặc SEQ ID NO: 202, 207 hoặc 206); và/hoặc chuỗi nhẹ chung có thể có chứa trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự ít nhất là khoảng 70%, ít nhất là khoảng 80%, ít nhất là khoảng 85%, ít nhất là khoảng 90%, hoặc có độ tương đồng trình tự lớn hơn khoảng 90% (ví dụ như, khoảng 91%, khoảng 92%, khoảng 93%, khoảng 94%, khoảng 95%, khoảng 96%, khoảng 97%, khoảng 98%, hoặc khoảng 99%) với trình tự bất kỳ trong số các trình tự được đề xuất trong bản mô tả này (SEQ ID NO: 17, 36, 200 hoặc 204).

Theo một số phương án, kháng thể đime khác loại chiều dài đầy đủ được sử dụng. "Chiều dài đầy đủ" có nghĩa là cấu trúc mà cấu thành dạng sinh học tự nhiên của kháng thể, bao gồm các vùng biến đổi và không đổi, bao gồm một hoặc nhiều cải biến như được mô tả trong bản mô tả này. Kháng thể đime khác loại theo sáng chế có thể là đơn dòng, tổng hợp, khảm, và/hoặc được làm cho giống người. Mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên trong ngữ cảnh của kháng thể đime khác loại chứa ít nhất là một miền không đổi mà có thể được thiết kế để tạo ra đime khác loại, chẳng hạn như thiết kế pI. Các mảnh kháng thể khác bao gồm các mảnh chứa một hoặc nhiều miền CH1, CH2, CH3, bản lề và CL theo sáng chế đã được thiết kế di truyền pI. Ví dụ, thể dung hợp Fc là thể dung hợp của vùng Fc (CH2 và CH3, tùy ý với vùng bản lề) được dung hợp với protein khác. Số lượng thể dung hợp Fc là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và có thể được cải thiện bằng cách bổ sung biến thể đime hóa khác loại theo sáng chế. Thể dung hợp kháng thể có thể được tạo ra có chứa CH1; CH1, CH2 và CH3; CH2; CH3; CH2 và CH3; CH1 và CH3, bất kỳ hoặc tất cả các vùng trong số này có thể được tạo ra tùy ý với

vùng bản lề, sử dụng tổ hợp bất kỳ của các biến thể đime hóa khác loại được mô tả trong bản mô tả này.

Protein liên kết kháng nguyên, bao gồm kháng thể đime khác loại, theo sáng chế thường được phân lập hoặc tái tổ hợp. Các axit nucleic mã hóa cho tất cả hoặc một phần của kháng thể đime khác loại được mô tả trong bản mô tả này, vectơ, và tế bào chủ được mô tả trong bản mô tả này và được dự tính là một phần của sáng chế.

Cải biến cấu trúc kháng thể/vùng Fc

Sáng chế bao gồm kháng thể với các biến thể Fc được cải biến có sự cải biến axit amin so với trình tự kháng thể kiểu đại. Các biến thể được xác định theo cải biến axit amin tạo nên chúng. Do đó, ví dụ, N434S hoặc 434S là biến thể Fc với sự thế serin ở vị trí 434 so với polypeptit Fc gốc, trong đó cách đánh số là theo chỉ số EU. Tương tự, M428L/N434S xác định biến thể Fc với sự thế M428L và N434S so với polypeptit Fc gốc. Độ đồng nhất của axit amin kiểu đại có thể không được chỉ rõ, trong trường hợp này biến thể nêu trên được gọi là 428L/434S. Thứ tự trong đó phần thể được đưa ra là tùy ý, tức là, ví dụ, 428L/434S là biến thể Fc giống như M428L/N434S, và v.v.. Cải biến có thể là sự bổ sung, làm khuyết, hoặc thế. Các phần thể có thể bao gồm axit amin có trong tự nhiên và, trong một số trường hợp, axit amin tổng hợp. Các ví dụ bao gồm Bằng sáng chế Mỹ số 6,586,207; Công bố đơn sáng chế Mỹ số 20040214988; Công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 98/48032, WO 03/073238, WO 05/35727A2, và WO 05/74524A2; J. W. Chin et al., (2002), Journal of the American Chemical Society 124:9026-9027; J. W. Chin, & P. G. Schultz, (2002), ChemBioChem 11:1135-1137; J. W. Chin, et al., (2002), PICAS United States of America 99:11020-11024; và, L. Wang, & P. G. Schultz, (2002), Chem. 1-10, tất cả các tài liệu này được kết hợp toàn bộ để tham khảo.

Đối với tất cả các vị trí được thảo luận trong sáng chế liên quan đến kháng thể và các protein liên kết kháng nguyên khác, trừ khi có lưu ý khác, cách đánh số vị trí axit amin là theo chỉ số EU. Chỉ số EU hoặc chỉ số EU như trong sơ đồ đánh số Kabat hoặc EU chỉ cách đánh số kháng thể EU (Edelman et al., 1969, Proc Natl Acad Sci USA 63:78-85, tài liệu này được kết hợp ở đây để tham khảo). Ví dụ như, cần hiểu rằng mỗi vùng biến đổi chuỗi nặng (VH) và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (VL) bao gồm ba vùng siêu biến đổi (vùng xác định tính bổ sung - CDR) và bốn FR, được sắp xếp từ đầu tận cùng

amino đến đầu tận cùng carboxy theo thứ tự sau: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. Vùng siêu biến đổi nhìn chung bao gồm các gốc axit amin từ khoảng các gốc axit amin 24-34 (LCDR1; "L" chỉ chuỗi nhẹ), 50-56 (LCDR2) và 89-97 (LCDR3) trong vùng biến đổi chuỗi nhẹ và khoảng 31-35B (HCDR1; "H" chỉ chuỗi nặng), 50-65 (HCDR2), và 95-102 (HCDR3) trong vùng biến đổi chuỗi nặng; Kabat et al., SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991) và/hoặc các gốc tạo thành vòng siêu biến đổi (ví dụ, các gốc 26-32 (LCDR1), 50-52 (LCDR2) và 91-96 (LCDR3) trong vùng biến đổi chuỗi nhẹ và 26-32 (HCDR1), 53-55 (HCDR2) và 96-101 (HCDR3) trong vùng biến đổi chuỗi nặng; Chothia and Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917).

Như hiểu rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, sự đánh số và đặt chính xác của CDR có thể khác nhau giữa các hệ đánh số khác nhau. Tuy nhiên, cần hiểu rằng việc bộc lộ trình tự biến đổi chuỗi nặng và/hoặc trình tự biến đổi chuỗi nhẹ bao gồm sự bộc lộ của CDR (vốn có) liên quan. Theo đó, việc bộc lộ của mỗi vùng biến đổi chuỗi nặng là sự bộc lộ của vHCDR (ví dụ, vHCDR1, vHCDR2 và vHCDR3) và sự bộc lộ của mỗi vùng biến đổi chuỗi nhẹ là sự bộc lộ của vLCDR (ví dụ, vLCDR1, vLCDR2 và vLCDR3). Sự so sánh hữu dụng của việc đánh số CDR là như sau, xem Lafranc et al, Dev. Comp. Immunol. 27(1):55-77 (2003):

	Kabat+ Chothia	IMGT	Kabat	AM	Chothia	Contact
vHCDR1	26-35	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
vHCDR2	50-65	56-65	50-65	50-58	52-56	47-58
vHCDR3	95-102	105-117	95-102	95-102	95-102	93-101
vLCDR1	24-34	27-38	24-34	24-34	24-34	30-36
vLCDR2	50-56	56-65	50-56	50-56	50-56	46-55
vLCDR3	89-97	105-117	89-97	89-97	89-97	89-96

Trong toàn bộ bản mô tả, hệ đánh số Kabat nhìn chung được sử dụng khi đề cập đến gốc trong miền biến đổi (xấp xỉ, các gốc 1-107 của vùng biến đổi chuỗi nhẹ và các gốc 1-113 của vùng biến đổi chuỗi nặng) (ví dụ, Kabat et al., nêu trên (1991)).

Phần đầu tận cùng carboxy của mỗi chuỗi xác định vùng không đổi chủ yếu chịu trách nhiệm cho chức năng tác động. Kabat et al. thu thập nhiều trình tự bậc một của các vùng biến đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ. Dựa trên mức độ bảo toàn của trình tự, họ phân loại các trình tự bậc một riêng rẽ thành CDR và khung và tạo nên danh sách của

nó (xem SEQUENCES OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th edition, NIH publication, No. 91-3242, E.A. Kabat et al., được kết hợp ở đây để tham khảo).

Trong lớp phụ IgG của globulin miễn dịch, có một số miền globulin miễn dịch trong chuỗi nặng. Thuật ngữ "miền globulin miễn dịch (Ig)" trong bản mô tả này nghĩa là vùng globulin miễn dịch có cấu trúc bậc ba riêng biệt. Được quan tâm là các miền chuỗi nặng, bao gồm, miền nặng không đổi (CH) và miền bản lề. Trong trường hợp của kháng thể IgG, mỗi isotyp IgG có ba vùng CH. Do đó, miền "CH" trong trường hợp của IgG là như sau: "CH1" chỉ các vị trí 118-220 theo chỉ số EU như trong Kabat. "CH2" chỉ các vị trí 237-340 theo chỉ số EU như trong Kabat, và "CH3" chỉ các vị trí 341-447 theo chỉ số EU như trong Kabat. Như được thể hiện trong bản mô tả này và được mô tả dưới đây, các biến thể pI có thể nằm trong một hoặc nhiều vùng CH, cũng như vùng bản lề, được thảo luận dưới đây. Theo các khía cạnh khác nhau, các trình tự được mô tả trong bản mô tả này bắt đầu ở vùng CH1, vị trí 118; các vùng biến đổi không được bao gồm ngoại lệ như đã được lưu ý.

Loại khác của miền Ig của chuỗi nặng là vùng bản lề. Thuật ngữ "bản lề" hoặc "vùng bản lề" hoặc "vùng bản lề kháng thể" hoặc "vùng bản lề globulin miễn dịch" trong bản mô tả này nghĩa là polypeptit linh động có chứa axit amin giữa miền không đổi thứ nhất và thứ hai của kháng thể. Về mặt cấu trúc, miền CH1 IgG kết thúc ở vị trí EU 220, và miền CH2 IgG bắt đầu ở gốc vị trí EU 237. Do đó, đối với IgG, bản lề kháng thể trong bản mô tả này được xác định là bao gồm các vị trí 221 (D221 trong IgG1) đến 236 (G236 trong IgG1), trong đó cách đánh số là theo chỉ số EU như trong Kabat. Theo một số phương án, ví dụ trong trường hợp của vùng Fc, bản lề thấp hơn được bao gồm, trong đó "bản lề thấp hơn" nhìn chung chỉ các vị trí 226 hoặc 230. Như được lưu ý trong bản mô tả này, biến thể pI cũng có thể được tạo ra trong vùng bản lề.

Thuật ngữ "Fc" hoặc "vùng Fc" hoặc "miền Fc" như được sử dụng trong bản mô tả này nghĩa là polypeptit có chứa vùng không đổi của kháng thể ngoại trừ miền globulin miễn dịch vùng không đổi thứ nhất và trong một số trường hợp, một phần của vùng bản lề. Do đó, Fc chỉ hai miền globulin miễn dịch vùng không đổi cuối cùng của IgA, IgD, và IgG, ba miền globulin miễn dịch vùng không đổi cuối cùng của IgE và IgM, và vùng bản lề linh động đầu tận cùng N đối với các miền này. Đối với IgA và IgM, Fc có thể bao gồm chuỗi J. Đối với IgG, miền Fc có chứa các miền globulin miễn dịch C γ 2 và C γ 3 (C γ 2 và C γ 3) và vùng bản lề bên dưới giữa C γ 1 (C γ 1) và C γ 2 (C γ 2). Mặc dù đường

biên của vùng Fc có thể thay đổi, vùng Fc chuỗi nặng IgG ở người thường được xác định là bao gồm các gốc C226 hoặc P230 đối với đầu tận cùng carboxyl của nó, trong đó cách đánh số là theo chỉ số EU như trong Kabat.

Các biến thể axit amin có thể được đưa vào protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể đặc hiệu kép) theo sáng chế để bổ sung các chức năng bổ sung. Ví dụ như, sự thay đổi axit amin ở trong vùng Fc có thể được bổ sung (vào một monome hoặc cả hai) để làm thuận lợi cho ADCC hoặc CDC tăng lên (ví dụ như, sự liên kết thay đổi với thụ thể Fcγ), để cho phép hoặc làm tăng hiệu suất của sự bổ sung độc tố và thuốc (ví dụ như, đối với ADC), cũng như là để làm tăng sự liên kết với FcRn và/hoặc làm tăng thời gian bán thải trong huyết thanh của các phân tử thu được. Chức năng tác động mà có thể được điều chỉnh bằng cách làm thay đổi trình tự axit amin bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ADCC, ADCCP, và CDC. Bất kỳ và tất cả các biến thể được mô tả trong bản mô tả này có thể được kết hợp tùy ý và độc lập với các biến thể khác.

Thuật ngữ "FcRn" hoặc "thụ thể Fc sơ sinh" nghĩa là protein liên kết với vùng Fc kháng thể IgG và được mã hóa ít nhất một phần bởi gen FcRn. FcRn có thể là từ sinh vật bất kỳ, bao gồm, nhưng không giới hạn ở người, chuột nhắt, chuột cống, thỏ, và khỉ. Như đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, protein FcRn chức năng có chứa hai polypeptit, thường được gọi là chuỗi nặng và chuỗi nhẹ. Chuỗi nhẹ là beta-2-microglobulin và chuỗi nặng được mã hóa bởi gen FcRn. Trừ khi có lưu ý khác trong bản mô tả này, FcRn hoặc protein FcRn chỉ phức hợp của chuỗi nặng FcRn với beta-2-microglobulin. Nhiều biến thể FcRn khác nhau được sử dụng để làm tăng sự liên kết với thụ thể FcRn, và trong một số trường hợp, để làm tăng thời gian bán thải trong huyết thanh. Các biến thể Fc mang lại sự liên kết tăng với thụ thể FcRn và sự tăng lên tương ứng của thời gian bán thải trong huyết thanh bao gồm, nhưng không giới hạn ở, 434A, 434S, 428L, 308F, 259I, 428L/434S, 259I/308F, 436I/428L, 436I hoặc V/434S, 436V/428L, 252Y, 252Y/254T/256E và 259I/308F/428L. Để cho rõ ràng, vì mỗi chuỗi nặng khác nhau, các biến thể FcRn (cũng như là các biến thể Fc) có thể nằm trên một hoặc cả hai monome.

Loại khác của biến thể chức năng là "biến thể cắt bỏ Fcγ" hoặc "biến thể bất hoạt Fc (FcKO hoặc KO)". Trong phương án này, đối với một số ứng dụng trị liệu, điều mong muốn là làm giảm hoặc loại bỏ sự liên kết bình thường của miền Fc với một hoặc nhiều hoặc tất cả các thụ thể Fcγ (ví dụ FcγR1, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIIa, v.v.) để tránh các cơ chế tác động bổ sung. Thuật ngữ "thụ thể Fc gamma", "FcγR" hoặc

"FcγR" nghĩa là thành viên bất kỳ của họ protein liên kết với vùng Fc kháng thể IgG và được mã hóa bởi gen FcγR. Ở người, họ này bao gồm, nhưng không giới hạn ở FcγRI (CD64), bao gồm các dạng đồng chức năng FcγRIa, FcγRIb, và FcγRIc; FcγRII (CD32), bao gồm các dạng đồng chức năng FcγRIIa (bao gồm dị kiểu H131 và R131), FcγRIIb (bao gồm FcγRIIb-1 và FcγRIIb-2), và FcγRIIc; và FcγRIII (CD16), bao gồm các dạng đồng chức năng FcγRIIIa (bao gồm dị kiểu V158 và F158) và FcγRIIIb (bao gồm dị kiểu FcγRIIIb-NA1 và FcγRIIIb-NA2) (Jefferis et al., 2002, Immunol Lett 82:57-65, được kết hợp ở đây để tham khảo). FcγR có thể là từ sinh vật bất kỳ, bao gồm, nhưng không giới hạn ở người, chuột nhắt, chuột cống, thỏ, và khỉ. FcγR của chuột nhắt bao gồm, nhưng không giới hạn ở FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), FcγRIII (CD16), và FcγRIII-2 (CD16-2). Theo nhiều phương án, thường mong muốn là cắt bỏ sự liên kết FcγRIIIa để triệt tiêu hoặc làm giảm đáng kể hoạt tính ADCC. Hình 36 của Bằng sáng chế Mỹ số 9,822,186 minh họa việc sử dụng biến thể bất hoạt Fc (hoặc biến thể cắt bỏ) mà giữ lại độ ổn định kiểu đại nhưng loại bỏ tất cả sự liên kết FcγR.

Các biến thể cắt bỏ đại diện bao gồm các biến thể được chọn từ nhóm gồm có G236R/L328R, E233P/L234V/L235A/G236del/S239K, E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G, E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G, và E233P/L234V/L235A/G236del. Cần lưu ý rằng biến thể cắt bỏ được đề cập ở đây cắt bỏ liên kết FcγR nhưng thường không phải là liên kết FcRn.

Như đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật, miền Fc của IgG1 người có sự liên kết cao nhất với thụ thể Fcγ, và do đó biến thể cắt bỏ có thể được sử dụng khi miền không đổi (hoặc miền Fc) trong khung của kháng thể dạng đimer khác loại là IgG1. Theo cách khác, hoặc ngoài các biến thể cắt bỏ trong nền tảng IgG1, các đột biến tại vị trí glycosyl hóa 297 (thường là thành A hoặc S) có thể cắt bỏ đáng kể sự liên kết với FcγRIIIa, ví dụ như vậy. IgG2 và IgG4 người đã làm giảm tự nhiên sự liên kết với thụ thể Fcγ, và do đó các khung này có thể được sử dụng có hoặc không có biến thể cắt bỏ.

Sự khử amit có thể ảnh hưởng nghiêm trọng hoạt tính và sự ổn định kháng thể. Theo các khía cạnh khác nhau, kháng thể đimer khác loại có chứa một hoặc nhiều sự thể để loại bỏ vị trí khử amit. Đối với vấn đề này, kháng thể đimer khác loại tùy ý có chứa sự thể tại vị trí N67, chẳng hạn như sự thể N67Q.

Các vùng không đổi chuỗi nặng đime khác loại

Sáng chế đề xuất kháng thể đime khác loại dựa trên việc sử dụng monome chứa các vùng không đổi chuỗi nặng biến thể làm miền thứ nhất. "Monome" trong bản mô tả này có nghĩa là một nửa của protein đime khác loại. Cần lưu ý rằng kháng thể truyền thống thực sự là tetrame (hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ). Để dễ tham chiếu, trong ngữ cảnh của bản mô tả này, cặp có chứa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ được coi là "monome". Vùng chuỗi nặng có chứa scFv (và, trong một số trường hợp Fab) được coi là monome. Về cơ bản, mỗi monome có chứa vùng không đổi chuỗi nặng đủ để cho phép thiết kế đime hóa khác loại, dù là toàn bộ vùng không đổi, ví dụ như, CH1-bản lề-CH2-CH3, vùng Fc (CH2-CH3), hoặc chỉ miền CH3.

Các vùng không đổi chuỗi nặng biến thể có thể có chứa tất cả hoặc một phần của vùng không đổi chuỗi nặng, bao gồm cấu trúc chiều dài đầy đủ, CH1-bản lề-CH2-CH3, hoặc các phần của chúng, bao gồm ví dụ như CH2-CH3 hoặc một mình CH3. Ngoài ra, vùng chuỗi nặng của mỗi monome có thể là cùng khung (CH1-bản lề-CH2-CH3 hoặc CH2-CH3) hoặc khung khác nhau. Sự cắt cụt hoặc sự bổ sung đầu tận cùng N và C cũng được bao gồm ở trong định nghĩa; ví dụ như, một số biến thể pI bao gồm sự bổ sung của các axit amin tích điện vào đầu tận cùng C của miền chuỗi nặng.

Ngoài các biến thể đime hóa khác loại (ví dụ như, các biến thể không gian và pI) được mô tả trong bản mô tả này, các vùng chuỗi nặng cũng có thể chứa thêm các đột biến thể axit amin, bao gồm các thay đổi để làm biến đổi sự liên kết FcγR và FcRn.

Các biến thể đime hóa khác loại bao gồm nhiều loại khác nhau của các biến thể, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các biến thể không gian (bao gồm các biến thể điện tích) và các biến thể pI, mà có thể được kết hợp tùy ý và độc lập với các biến thể khác bất kỳ. Trong các phương án này, điều quan trọng là khớp "monome A" với "monome B", tức là, nếu protein đime khác loại dựa trên cả các biến thể không gian và các biến thể pI, chúng cần được khớp đúng với mỗi monome, ví dụ như, tập hợp của các biến thể không gian mà hoạt động (1 tập hợp trên monome A, 1 tập hợp trên monome B) được kết hợp với các tập hợp biến thể pI (1 tập hợp trên monome A, 1 tập hợp trên monome B), sao cho các biến thể trên mỗi monome được thiết kế để đạt được chức năng mong muốn. Trong trường hợp ví dụ như trong đó các biến thể không gian cũng có thể thay đổi điện tích, các tập hợp đúng phải được khớp với monome đúng.

Các biến thể đime hóa khác loại được mô tả trong bản mô tả này (ví dụ như, bao gồm nhưng không giới hạn ở các biến thể được thể hiện trong các hình vẽ), có thể được kết hợp tùy ý và độc lập với các biến thể khác bất kỳ, và trên monome khác bất kỳ. Điều quan trọng đối với sự đime hóa khác loại là có "tập hợp" của các biến thể, một tập hợp đối với một monome và một tập hợp đối với monome khác. Dù chúng được kết hợp 1 với 1 (ví dụ như, danh sách monome 1 có thể đi cùng nhau) hoặc được chuyển đổi (các biến thể pI monome 1 với các biến thể không gian monome 2) đều là không thích hợp. Tuy nhiên, "tính quán được" cần phải được bảo toàn khi các dạng kết hợp được tạo ra như mô tả ở trên sao cho sự đime hóa khác loại được thuận tiện; ví dụ như, các biến thể điện tích mà làm tăng pI cần được sử dụng với các biến thể pI tăng và/hoặc cầu nối scFv với pI tăng, v.v.. "Tính quán được" trong ngữ cảnh của monome của protein đime khác loại có nghĩa là, tương tự với hai sợi của ADN mà "ăn khớp" các biến thể đime hóa khác loại được kết hợp thành mỗi monome sao cho bảo toàn khả năng để "ăn khớp" để tạo thành đime khác loại. Ví dụ, nếu một số biến thể pI được thiết kế di truyền trong monome A (ví dụ, làm cho pI cao hơn), thì biến thể không gian là "cặp tích điện" mà cũng có thể được sử dụng, sẽ không cản trở các biến thể pI, ví dụ biến thể tích điện mà làm cho pI cao hơn được đặt trên cùng "sợi" hoặc "monome" để bảo toàn cả hai chức năng. Ngoài ra, đối với các biến thể Fc khác (chẳng hạn như đối với sự liên kết FcγR, sự liên kết FcRn, các biến thể cắt bỏ v.v.), một trong hai monome, hoặc cả hai monome, có thể bao gồm biến thể bất kỳ trong số các biến thể được liệt kê, một cách độc lập và tùy ý. Trong một số trường hợp, cả hai monome có các biến thể bổ sung, và trong một số trường hợp chỉ một monome có các biến thể bổ sung, hoặc chúng có thể được kết hợp.

Biến thể không gian

Theo một số phương án, sự tạo thành của đime khác loại được làm cho thuận lợi bằng cách bổ sung biến thể không gian. Tức là, bằng cách làm thay đổi axit amin trong mỗi chuỗi nặng, các chuỗi nặng khác nhau có vẻ thích hợp hơn để kết hợp để tạo thành cấu trúc đime khác loại hơn là để tạo thành đime cùng loại với cùng trình tự axit amin Fc. Các biến thể không gian thích hợp đại diện được thể hiện trong các hình vẽ.

Một cơ chế để sản xuất các biến thể không gian là cơ chế "nút và lỗ" được mô tả ở trên. Cơ chế khác mà được sử dụng để tạo ra đime khác loại đôi khi được gọi là "sự dẫn hướng tĩnh điện" như được mô tả trong tài liệu Gunasekaran et al., J. Biol. Chem. 285(25):19637 (2010), được kết hợp ở đây để tham khảo đến toàn bộ nội dung của nó.

Cơ chế này đôi khi được gọi trong bản mô tả này là "cặp điện tích". Theo phương án này, sự tĩnh điện được sử dụng để làm lệch sự tạo thành về phía sự đime hóa khác loại. Chúng cũng có thể có ảnh hưởng lên pI, và do đó lên sự tinh chế, và do đó, trong một số trường hợp, cũng có thể được coi là biến thể pI. Tuy nhiên, vì chúng được tạo ra để ép sự đime hóa khác loại và không được dùng làm công cụ tinh chế, chúng được phân loại là "biến thể không gian". Chúng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các biến thể dẫn đến sự đime hóa khác loại lớn hơn 75% chẳng hạn như D221E/P228E/L368E được ghép cặp với D221R/P228R/K409R (ví dụ chúng là "tập hợp tương ứng monome") và C220E/P228E/368E được ghép cặp với C220R/E224R/P228R/K409R.

Theo một số phương án, các biến thể đối xứng lệch theo cách có lợi và đồng thời ưu tiên sự đime hóa khác loại dựa trên cả cơ chế "nút và lỗ" cũng như là cơ chế "định hướng tĩnh điện". Các biến thể này thuộc vào "cặp" của "tập hợp". Tức là, một tập hợp của cặp được kết hợp vào monome thứ nhất và tập hợp khác của cặp được kết hợp vào monome thứ hai. Cần lưu ý rằng các tập hợp này không nhất thiết hoạt động như là các biến thể "nút trong lỗ", với sự tương ứng một-với-một giữa gốc trên một monome và gốc trên monome khác. Tức là, các cặp này của các tập hợp có thể thay vì tạo thành mặt phân cách giữa hai monome mà khuyến khích sự tạo thành đime khác loại và không khuyến khích sự tạo thành đime cùng loại, cho phép tỉ lệ phần trăm của đime khác loại mà tự động tạo thành trong điều kiện sinh học là hơn 90%, chứ không phải 50% như mong đợi (25% đime cùng loại A/A:50% đime khác loại A/B:25% đime cùng loại B/B). Các biến thể "đối xứng lệch" đime hóa khác loại ví dụ được minh họa trên Hình 4. Các ví dụ về các biến thể đối xứng lệch này bao gồm các cặp của tập hợp của các đột biến bao gồm, nhưng không giới hạn ở, S364K/E357Q : L368D/K370S; L368D/K370S : S364K; L368E/K370S : S364K; T411T/E360E/Q362E : D401K; L368D/K370S : S364K/E357L, K370S : S364K/E357Q; và T366S/L368A/Y407V : T366W (tùy ý bao gồm disulfua bắc cầu, T366S/L368A/Y407V/Y349C : T366W/S354C).

Biến thể monome A và monome B khác mà có thể được kết hợp với biến thể khác, tùy ý và độc lập ở lượng bất kỳ, chẳng hạn như biến thể pI như được mô tả trong bản mô tả này hoặc biến thể không gian khác mà được thể hiện trên Hình 37 của Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2012/0149876, hình vẽ và chú thích của chúng được kết hợp rõ ràng ở đây chỉ để tham khảo.

Theo một số phương án, các biến thể không gian được mô tả trong bản mô tả này có thể được kết hợp tùy ý và độc lập với các biến thể đime hóa khác loại bất kỳ bao gồm các biến thể pI (hoặc các biến thể khác chẳng hạn như các biến thể Fc, các biến thể FcRn, các biến thể cắt bỏ, v.v.) vào một hoặc cả hai monome.

Biến thể pI (điểm đẳng điện) đối với đime khác loại

Nhìn chung, có hai loại biến thể pI: loại làm tăng pI của protein (sự thay đổi bazơ) và loại làm giảm pI của protein (sự thay đổi axit). Như mô tả trong bản mô tả này, tất cả các dạng kết hợp của các biến thể này có thể được thực hiện: một monome có thể là kiểu đại, hoặc biến thể mà không biểu lộ pI khác biệt đáng kể so với kiểu đại, và monome kia có thể là bazơ hơn hoặc axit hơn. Theo cách khác, mỗi monome được thay đổi, một thành bazơ hơn và một thành axit hơn. Dạng kết hợp ví dụ của các biến thể pI được thể hiện trong các hình vẽ.

Theo các phương án khác nhau, ví dụ như trong các định dạng của Hình 18A, Hình E, Hình F, Hình G, Hình H và Hình I, dạng kết hợp được ưu tiên của các biến thể pI có một monome (phía Fab âm tính) có chứa các biến thể 208D/295E/384D/418E/421D (N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D khi so với IgG1 ở người) và monome thứ hai (phía scFv dương tính) có chứa cầu nối scFv tích điện dương, bao gồm (GKPGS)₄. Tuy nhiên, như hiểu rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, monome thứ nhất bao gồm miền CH1, bao gồm vị trí 208. Theo đó, trong các cấu trúc không bao gồm miền CH1 (ví dụ như đối với kháng thể mà không sử dụng miền CH1 trên một trong các miền, ví dụ như trong định dạng scFv kép hoặc định dạng "một nhánh" chẳng hạn như các định dạng được minh họa trên Hình 18B, Hình C hoặc Hình D), tập hợp Fc biến thể pI âm tính được ưu tiên bao gồm biến thể 295E/384D/418E/421D (Q295E/N384D/Q418E/N421D khi tương quan với IgG1 người).

Các thay đổi pI axit

Khi một monome có chứa miền không đổi chuỗi nặng biến thể được tạo ra dương tính hơn (ví dụ như, làm giảm pI), một hoặc nhiều cải biến sau đây (ví dụ như, sự thế) là thích hợp trong ngữ cảnh của sáng chế: S119E, K133E, K133Q, T164E, K205E, K205Q, N208D, K210E, K210Q, K274E, K320E, K322E, K326E, K334E, R355E, K392E, sự làm khuyết K447, bổ sung peptit DEDE ở đầu tận cùng C, G137E, N203D,

K274Q, R355Q, K392N, và Q419E. Các thay đổi này được mô tả tương quan với IgG1, nhưng tất cả các các isotyp có thể được thay đổi theo cách này, cũng như là thể lai isotyp. Trong trường hợp mà miền không đổi chuỗi nặng là từ IgG2-4, R133E và R133Q cũng có thể được sử dụng.

Các thay đổi pI bazơ

Khi một monome có chứa miền không đổi chuỗi nặng biến thể được tạo ra âm tính hơn (ví dụ như, làm tăng pI), một hoặc nhiều sự thể ví dụ sau đây là thích hợp trong ngữ cảnh của sáng chế: Q196K, P217R, P228R, N276K, và H435R. Các thay đổi này được mô tả tương quan với IgG1, nhưng tất cả các các isotyp có thể được thay đổi theo cách này, cũng như là thể lai isotyp.

Các biến thể chuỗi nhẹ kháng thể đime khác loại

Các biến thể pI cũng có thể được tạo ra trong chuỗi nhẹ kháng thể. Sự cải biến axit amin để làm hạ thấp pI của chuỗi nhẹ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, K126E, K126Q, K145E, K145Q, N152D, S156E, K169E, S202E, K207E, và bổ sung peptit DEDE ở đầu tận cùng C của chuỗi nhẹ. Sự thay đổi trong loại này dựa trên chuỗi nhẹ lamda không đổi bao gồm nhưng không giới hạn ở một hoặc nhiều sự thể ở R108Q, Q124E, K126Q, N138D, K145T, và Q199E. Ngoài ra, việc làm tăng pI của chuỗi nhẹ cũng là có thể và được dự tính theo các khía cạnh khác nhau theo sáng chế.

Biến thể isotyp

Ngoài ra, các phương án khác nhau của sáng chế kế thừa "tầm quan trọng" của axit amin pI ở các vị trí cụ thể từ một isotyp IgG vào isotyp khác, do đó làm giảm hoặc làm triệt tiêu khả năng sinh miễn dịch không mong muốn được đưa vào biến thể. Một số trong số chúng được thể hiện trên Hình 21 của Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2014/0370013, được kết hợp ở đây để tham khảo. Tức là, IgG1 là isotyp thông thường đối với kháng thể trị liệu vì nhiều lí do, bao gồm chức năng tác động cao. Tuy nhiên, vùng không đổi nặng của IgG1 có pI cao hơn so với pI của IgG2 (8,10 so với 7,31). Bằng cách đưa các gốc IgG2 ở các vị trí cụ thể vào khung IgG1, pI của monome thu được được hạ xuống (hoặc được làm tăng) và ngoài ra thể hiện thời gian bán thải trong huyết thanh lâu hơn. Ví dụ, IgG1 có glyxin (pI 5,97) ở vị trí 137, và IgG2 có axit glutamic (pI 3,22); việc đưa axit glutamic vào sẽ ảnh hưởng đến pI của protein thu được. Số lượng của sự thể axit amin thường là cần thiết để ảnh hưởng đáng kể đến pI của

kháng thể biến thể. Tuy nhiên, cần phải lưu ý như thảo luận dưới đây rằng ngay cả sự thay đổi trong phân tử IgG2 cũng cho phép thời gian bán thải trong huyết thanh được làm tăng lên.

Theo phương án khác, sự thay đổi axit amin không cùng loại được tạo thành, để làm giảm trạng thái điện tích chung của protein thu được (ví dụ, bằng cách làm thay đổi axit amin pI cao hơn thành axit amin pI thấp hơn) hoặc để cho phép sự thích ứng trong cấu trúc để ổn định, v.v..

Ngoài ra, bằng cách thiết kế pI cả miền không đổi nặng và nhẹ, sự thay đổi đáng kể trong mỗi monome của đime khác loại có thể được quan sát thấy. Như thảo luận trong bản mô tả này, có các pI của hai monome khác nhau ít nhất là 0,5 có thể cho phép tách bằng sắc ký trao đổi ion hoặc tập trung đẳng điện, hoặc phương pháp khác nhạy với điểm đẳng điện.

Ngoài ra, các biến thể pI mà đồng vị trí, ví dụ như, các biến thể điện tích mà có kích thước gần bằng axit amin gốc, có thể được tạo ra và được dự tính trong sáng chế.

Tính pI

pI của mỗi monome có thể phụ thuộc vào pI của miền không đổi chuỗi nặng biến thể và pI của tổng monome, bao gồm miền không đổi chuỗi nặng biến thể và đối tác dung hợp. Do đó, theo một số phương án, sự thay đổi ở pI được tính trên cơ sở của miền không đổi chuỗi nặng biến thể. Theo cách khác, pI của mỗi monome có thể được so sánh. Tương tự, các pI của vùng biến đổi "bắt đầu" (ví dụ như, scFv hoặc Fab) được tính để biết rằng monome sẽ được thiết kế theo hướng nào.

Các biến thể pI mang lại sự liên kết FcRn *in vivo* tốt hơn

Các biến thể pI làm giảm pI của monome có thể thể hiện lợi ích bổ sung của việc cải thiện thời gian lưu giữ trong huyết thanh *in vivo*.

Các vùng Fc được tin là có thời gian bán thải lâu hơn *in vivo* bởi vì liên kết với FcRn ở độ pH 6 trong endosom làm cô lập Fc (Ghetie and Ward, 1997 Immunol Today. 18(12): 592-598, được kết hợp ở đây để tham khảo). Sau đó khoang endosom tái tuần hoàn Fc ra bề mặt tế bào. Ngay khi khoang này mở ra không gian ngoại bào, độ pH cao hơn, ~7,4, gây ra sự giải phóng của Fc trở lại vào máu. Ái lực tăng của Fc đối với FcRn ở độ pH 7,4 được cho là ngăn cản sự giải phóng của Fc trở lại máu. Do đó, đột biến Fc

mà sẽ làm tăng thời gian bán thải của Fc *in vivo* sẽ làm tăng một cách lý tưởng liên kết FcRn ở độ pH thấp hơn trong khi vẫn cho phép giải phóng Fc ở độ pH cao hơn. Axit amin histidin thay đổi tình trạng điện tích của nó trong khoảng giá trị pH từ 6,0 đến 7,4. Do đó, không ngạc nhiên khi phát hiện thấy các gốc His ở các vị trí quan trọng trong phức hợp Fc/FcRn.

Gần đây đã có đề xuất rằng kháng thể với các vùng biến đổi mà có điểm đẳng điện thấp hơn cũng có thể có thời gian bán thải trong huyết thanh lâu hơn (Igawa et al., 2010 PEDS. 23(5): 385-392, được kết hợp ở đây chỉ để tham khảo). Biến thể vùng không đổi với pI giảm và thời gian bán thải kéo dài mang lại cách tiếp cận modun hơn để cải thiện tính chất dược động học của kháng thể.

Các biến thể pI mà được sử dụng trong phương án này, cũng như là việc sử dụng chúng để tối ưu hóa sự tinh chế, được bộc lộ trong các hình vẽ.

Dạng kết hợp của các biến thể

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật hiểu rõ rằng, tất cả các biến thể đime hóa khác loại được chỉ ra có thể tùy ý và độc lập được kết hợp theo cách bất kỳ, miễn là chúng giữ lại "tính quân được" hoặc "sự phân chia monome" của chúng. Ngoài ra, tất cả các biến thể này có thể được kết hợp vào định dạng đime hóa khác loại bất kỳ. Trong trường hợp của biến thể pI, mặc dù các phương án ví dụ được thể hiện trên các hình vẽ, các dạng kết hợp khác có thể được tạo ra, theo nguyên tắc cơ bản của việc làm thay đổi sự khác biệt pI giữa hai monome để làm thuận tiện cho sự tinh chế.

Định dạng protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể)

Một giá đỡ đime khác loại mà được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế này là định dạng giá đỡ "bộ ba F" hoặc "cái mở nắp chai" được mô tả ở trên và nêu trên Hình 18. Theo phương án này, một chuỗi nặng của kháng thể chứa Fv đơn chuỗi ("scFv", như định nghĩa dưới đây) và chuỗi nặng khác là định dạng Fab "thông thường", có chứa chuỗi nặng và chuỗi nhẹ biến đổi. Nhiều phương án như được mô tả trong bản mô tả này nhìn chung dựa vào định dạng cái mở nắp chai mà có chứa monome thứ nhất có chứa scFv, có chứa miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ, được gắn cộng hóa trị bằng cách sử dụng cầu nối scFv (tích điện trong nhiều, nhưng không phải là tất cả, các trường hợp), trong đó scFv được gắn cộng hóa trị vào đầu tận cùng N của miền Fc thứ nhất thường là qua cầu nối miền (mà, như mô tả trong bản mô tả này có thể là

không tích điện hoặc tích điện và có thể là ngoại sinh hoặc nội sinh (ví dụ như tất cả hoặc một phần của miền bản lề tự nhiên)). Monome thứ hai của định dạng cái mở nắp chai là chuỗi nặng, và hợp phần này còn có chứa chuỗi nhẹ.

Ngoài ra, miền Fc của định dạng cái mở nắp chai thường chứa các biến thể đối xứng lệch (ví dụ như, được chọn từ nhóm gồm có S364K/E357Q : L368D/K370S; L368D/K370S : S364K; L368E/K370S : S364K; T411T/E360E/Q362E : D401K; L368D/K370S : S364K/E357L, K370S : S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V : T366W; và T366S/L368A/Y407V/Y349C : T366W/S354C), tùy ý các biến thể cắt bỏ, tùy ý cầu nối scFv tích điện, và chuỗi nặng có chứa các biến thể pI. Theo một số phương án, định dạng cái mở nắp chai bao gồm các biến thể đối xứng lệch, các biến thể pI, và các biến thể cắt bỏ. Theo đó, một số phương án bao gồm định dạng cái mở nắp chai mà có chứa: a) monome thứ nhất ("monome scFv") mà có chứa cầu nối scFv tích điện, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, và Fv; b) monome thứ hai ("Fab monome") mà có chứa các biến thể đối xứng lệch L368D/K370S, các biến thể pI N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, và miền biến đổi chuỗi nặng mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ, tạo thành Fv mà liên kết với kháng nguyên thứ hai; và c) chuỗi nhẹ.

Theo một số phương án, định dạng mở nắp chai bao gồm các biến thể đối xứng lệch, các biến thể pI, các biến thể cắt bỏ và các biến thể FcRn. Theo đó, một số phương án bao gồm định dạng cái mở nắp chai mà có chứa: a) monome thứ nhất ("monome scFv") mà có chứa cầu nối scFv tích điện, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, các biến thể FcRn M428L/N434S và Fv mà liên kết với kháng nguyên thứ nhất; b) monome thứ hai ("Fab monome") mà có chứa các biến thể đối xứng lệch L368D/K370S, các biến thể pI N208D/Q295E/N384D/ Q418E/N421D, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, các biến thể FcRn M428L/N434S và miền biến đổi chuỗi nặng mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ, tạo thành Fv mà liên kết với kháng nguyên thứ hai; và c) chuỗi nhẹ.

Giá đỡ dime khác loại khác mà được sử dụng trong sáng chế này là định dạng mAb-Fv được thể hiện trên Hình 18H. Theo phương án này, định dạng dựa vào việc sử dụng của sự gắn ở đầu tận cùng C của miền biến đổi chuỗi nặng "bổ sung" với một

monome và sự gắn ở đầu tận cùng C của miền biến đổi chuỗi nhẹ "bổ sung" với monome khác, do đó tạo thành miền liên kết kháng nguyên thứ ba, trong đó các phần Fab của hai monome liên kết với một kháng nguyên và miền scFv "bổ sung" liên kết với kháng nguyên khác.

Theo phương án này, monome thứ nhất có chứa chuỗi nặng thứ nhất, có chứa miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền không đổi chuỗi nặng thứ nhất có chứa miền Fc thứ nhất, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất gắn cộng hóa trị vào đầu tận cùng C của miền Fc thứ nhất bằng cách sử dụng cầu nối miền (vhl-CH1-[cầu nối miền (ví dụ như, bản lề)]-CH2-CH3-[cầu nối miền tùy ý]-vl2). Monome thứ hai có chứa miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai của miền không đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa miền Fc thứ hai, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ ba gắn cộng hóa trị vào đầu tận cùng C của miền Fc thứ hai bằng cách sử dụng cầu nối miền (vhl-CH1- cầu nối miền (ví dụ như, bản lề)-CH2-CH3-[cầu nối miền tùy ý]-vh2). Hai miền biến đổi được gắn ở đầu tận cùng C tạo thành scFv. Phương án này sử dụng thêm chuỗi nhẹ chung có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ và miền không đổi chuỗi nhẹ, mà kết hợp với chuỗi nặng để tạo thành hai Fab giống nhau. Như đối với nhiều phương án trong bản mô tả này, các cấu trúc này bao gồm biến thể đối xứng lệch, biến thể pI, biến thể cắt bỏ, biến thể Fc bổ sung, v.v. như mong muốn và được mô tả trong bản mô tả này.

Tùy ý, miền Fc của định dạng mAb-Fv có chứa các biến thể đối xứng lệch (ví dụ như, được chọn từ nhóm gồm có S364K/E357Q : L368D/K370S; L368D/K370S : S364K; L368E/K370S : S364K; T411T/E360E/Q362E : D401K; L368D/K370S : S364K/E357L, K370S : S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V : T366W; và T366S/L368A/Y407V/Y349C : T366W/S354C), tùy ý các biến thể cắt bỏ, tùy ý cầu nối scFv tích điện, và chuỗi nặng có chứa các biến thể pI. Theo một số phương án, định dạng mAb-Fv bao gồm các biến thể đối xứng lệch, các biến thể pI, và các biến thể cắt bỏ. Theo đó, một số phương án bao gồm định dạng cái mở nắp chai mà có chứa: a) monome thứ nhất mà có chứa các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q, các biến thể cắt bỏ 233P/L234V/L235A/G236del/S267K, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất của chuỗi nhẹ, tạo thành Fv mà liên kết với kháng nguyên, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai; b) monome thứ hai mà có chứa các biến thể đối xứng lệch L368D/K370S, các biến thể pI N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, các biến thể cắt bỏ

E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất, tạo thành Fv mà liên kết với kháng nguyên thứ nhất, và chuỗi nhẹ biến đổi thứ hai, mà cùng với chuỗi nặng biến đổi thứ hai tạo thành Fv mà liên kết kháng nguyên thứ hai; và c) chuỗi nhẹ có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và miền không đổi chuỗi nhẹ.

Giá đỡ dime khác loại khác nữa mà được sử dụng trong sáng chế này là định dạng mAb-scFv được thể hiện trên Hình 18I. Theo phương án này, định dạng này dựa trên việc sử dụng sự gắn ở đầu tận cùng C của scFv vào một trong các monome, do đó tạo thành miền liên kết kháng nguyên thứ ba, trong đó phần Fab của hai monome liên kết một kháng nguyên và miền scFv "bổ sung" liên kết kháng nguyên khác. Theo phương án này, monome thứ nhất có chứa chuỗi nặng thứ nhất (có chứa miền biến đổi và miền không đổi chuỗi nặng), với scFv được gắn cộng hóa trị ở đầu tận cùng C có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ scFv, cầu nối scFv và miền biến đổi chuỗi nặng scFv theo một trong hai hướng (vhl-CH1-cầu nối miền-CH2-CH3-[cầu nối miền tùy ý] -vh2-cầu nối scFv-vl2 hoặc vhl-CH1-cầu nối miền-CH2-CH3-[cầu nối miền tùy ý] -vl2-cầu nối scFv-vh2). Phương án này sử dụng thêm chuỗi nhẹ chung có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ và miền không đổi chuỗi nhẹ, mà kết hợp với chuỗi nặng để tạo thành hai Fab giống nhau mà liên kết một trong các kháng nguyên đích. Như đối với nhiều phương án trong bản mô tả này, các cấu trúc này bao gồm biến thể đối xứng lệch, biến thể pI, biến thể cắt bỏ, biến thể Fc bổ sung, v.v. như mong muốn và được mô tả trong bản mô tả này.

Ngoài ra, miền Fc của định dạng mAb-scFv tùy ý có chứa các biến thể đối xứng lệch (ví dụ như, được chọn từ nhóm gồm có S364K/E357Q : L368D/K370S; L368D/K370S : S364K; L368E/K370S : S364K; T411T/E360E/Q362E : D401K; L368D/K370S : S364K/E357L, K370S : S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V : T366W; và T366S/L368A/Y407V/Y349C : T366W/S354C), tùy ý các biến thể cắt bỏ, tùy ý cầu nối scFv tích điện, và chuỗi nặng có chứa các biến thể pI. Theo một số phương án, định dạng mAb-scFv bao gồm các biến thể đối xứng lệch, các biến thể pI, và các biến thể cắt bỏ. Theo đó, một số phương án bao gồm định dạng mà có chứa: a) monome thứ nhất mà có chứa các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất của chuỗi nhẹ, tạo thành Fv mà liên kết với kháng nguyên thứ nhất, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai; b) monome thứ hai mà có chứa

các biến thể đối xứng lệch L368D/K370S, các biến thể pI N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất, tạo thành Fv mà liên kết với kháng nguyên thứ nhất, và chuỗi nhẹ biến đổi thứ hai, mà cùng với chuỗi nặng biến đổi thứ hai tạo thành Fv mà liên kết kháng nguyên thứ hai; và c) chuỗi nhẹ có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và miền không đổi chuỗi nhẹ.

Giá đỡ dime khác loại khác nữa mà được sử dụng trong sáng chế này là scFv trung tâm hoặc định dạng " $XmAb^{2+1}$ " được thể hiện trên Hình 18F. Định dạng này dựa trên việc sử dụng miền scFv được cài xen do đó tạo thành miền liên kết kháng nguyên thứ ba, trong đó phần Fab của hai monome liên kết một đích và miền scFv "bổ sung" liên kết đích khác. Miền scFv được cài xen giữa miền Fc và vùng CH1-Fv của một trong số các monome, do đó tạo ra miền liên kết kháng nguyên thứ ba. Theo phương án này, một monome có chứa chuỗi nặng thứ nhất có chứa miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất, miền CH1 (và cầu nối/bản lề tùy ý) và miền Fc, với scFv có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ scFv, cầu nối scFv và miền biến đổi chuỗi nặng scFv. scFv được gắn cộng hóa trị giữa đầu tận cùng C của miền CH1 của miền không đổi chuỗi nặng và đầu tận cùng N của miền Fc thứ nhất bằng cách sử dụng cầu nối miền tùy ý (VH1-CH1-[cầu nối miền tùy ý] -VH2-cầu nối scFv-VL2-[cầu nối miền tùy ý bao gồm bản lề]-CH2-CH3, hoặc hướng ngược lại đối với scFv, VH1-CH1-[cầu nối miền tùy ý] -VL2-cầu nối scFv-VH2-[cầu nối miền tùy ý bao gồm bản lề]-CH2-CH3). Theo một số phương án, monome thứ nhất là VH1-CH1-cầu nối miền-VH2-cầu nối scFv-VL2-cầu nối miền-CH2-CH3. Monome kia là phía Fab tiêu chuẩn (tức là, VH1-CH1-cầu nối miền (ví dụ như, bản lề)-CH2-CH3). Phương án này sử dụng thêm chuỗi nhẹ chung có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ và miền không đổi chuỗi nhẹ, mà kết hợp với chuỗi nặng để tạo thành hai Fab giống nhau mà liên kết đích. Như đối với nhiều phương án trong bản mô tả này, các cấu trúc này bao gồm biến thể đối xứng lệch, biến thể pI, biến thể cắt bỏ, biến thể Fc bổ sung, v.v. như mong muốn và được mô tả trong bản mô tả này.

Theo các khía cạnh khác nhau, protein liên kết kháng nguyên có chứa chuỗi nặng thứ nhất có chứa VH1-CH1-[cầu nối miền] -VH2-cầu nối scFv-VL2-[cầu nối miền (tùy ý bao gồm bản lề)]-CH2-CH3; chuỗi nặng thứ hai có chứa VH1-CH1-cầu nối miền-CH2-CH3; và chuỗi nhẹ chung có chứa VL1; trong đó VH1 và VL1 liên kết STEAP 1

và VH2 và VL2 liên kết CD3. Ở định dạng này, VH2 tùy ý có chứa các trình tự CDR có trình tự SEQ ID NO: 170 (CDR1), SEQ ID NO: 171 (CDR2), và SEQ ID NO: 172 (CDR3), mặc dù VL2 có chứa các trình tự CDR có trình tự SEQ ID NO: 174 (CDR1), SEQ ID NO: 175 (CDR2), và SEQ ID NO: 176 (CDR3). VH1 có chứa các trình tự CDR có trình tự SEQ ID NO: 14 (CDR1), SEQ ID NO: 15 hoặc 21 (CDR2), và SEQ ID NO: 16 (CDR3); và VL1 có chứa các trình tự CDR có trình tự SEQ ID NO: 11 (CDR1), SEQ ID NO: 12 (CDR2), và SEQ ID NO: 13 (CDR3). Theo cách khác, VH1 có chứa các trình tự CDR có trình tự SEQ ID NO: 33 (CDR1), SEQ ID NO: 34 (CDR2), và SEQ ID NO: 35 (CDR3); và VL1 có chứa các trình tự CDR có trình tự SEQ ID NO: 30 (CDR1), SEQ ID NO: 31 (CDR2), và SEQ ID NO: 32 (CDR3). Một cách tùy ý, protein liên kết kháng nguyên có chứa cải biến trong chuỗi nặng thứ nhất bao gồm, nhưng không giới hạn ở, E233P, delL234, L235V, G236A, S267K, r292c, n297g, v302c, E357Q, và S364K (đánh số EU, các chữ cái viết thường dùng để chỉ sự thể SEFL2 được mô tả thêm trong bản mô tả này), và chuỗi nặng thứ hai có chứa cải biến bao gồm, nhưng không giới hạn ở, N208D, E233P, delL234, L235V, G236A, S267K, r292c Q295E, n297g, v302c, L368D, K370S, N384D, Q418E, và N421D (đánh số EU, các chữ cái viết thường dùng để chỉ sự thể SEFL2 được mô tả thêm trong bản mô tả này). Cầu nối để sử dụng trong ngữ cảnh của phương án này tùy ý là GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS (SEQ ID NO: 152).

Miền Fc của định dạng scFv trung tâm tùy ý có chứa các biến thể đối xứng lệch (ví dụ như, được chọn từ nhóm gồm có S364K/E357Q : L368D/K370S; L368D/K370S : S364K; L368E/K370S : S364K; T411T/E360E/Q362E : D401K; L368D/K370S : S364K/E357L, K370S : S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V : T366W và T366S/L368A/Y407V/Y349C : T366W/S354C), tùy ý các biến thể cắt bỏ, tùy ý cầu nối scFv tích điện, và chuỗi nặng có chứa các biến thể pI. Theo một số phương án, định dạng scFv trung tâm bao gồm các biến thể đối xứng lệch, các biến thể pI, và các biến thể cắt bỏ. Theo đó, một số phương án bao gồm định dạng mà có chứa: a) monome thứ nhất mà có chứa các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất của chuỗi nhẹ, tạo thành Fv mà liên kết với đích thứ nhất, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai; b) monome thứ hai mà có chứa các biến thể đối xứng lệch L368D/K370S, các biến thể pI N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D,

các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất, tạo thành Fv mà liên kết với đích thứ nhất, và chuỗi nhẹ biến đổi thứ hai, mà cùng với chuỗi nặng biến đổi thứ hai tạo thành Fv mà liên kết đích thứ hai; và c) chuỗi nhẹ có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và miền không đổi chuỗi nhẹ.

Giá đỡ dime khác loại khác mà được sử dụng cụ thể trong sáng chế là định dạng Fv trung tâm được thể hiện trên Hình 18G. Định dạng này dựa trên việc sử dụng miền scFv được cài xen do đó tạo thành miền liên kết kháng nguyên thứ ba, trong đó phần Fab của hai monome liên kết một đích và miền scFv "bổ sung" liên kết đích khác. Miền scFv được cài xen giữa miền Fc và vùng CH1-Fv của monome, do đó tạo ra miền liên kết kháng nguyên thứ ba, trong đó mỗi monome chứa thành phần của scFv (ví dụ một monome có chứa miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ khác). Theo phương án này, một monome có chứa chuỗi nặng thứ nhất có chứa miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất, miền CH1, và miền Fc và miền biến đổi chuỗi nhẹ bổ sung. Miền chuỗi nhẹ được gắn cộng hóa trị giữa đầu tận cùng C của miền CH1 của miền không đổi chuỗi nặng và đầu tận cùng N của miền Fc thứ nhất bằng cách sử dụng cầu nối miền (vhl - CH1-[cầu nối miền tùy ý]-vl2-bản lề-CH2-CH3). Monome kia có chứa chuỗi nặng thứ nhất có chứa miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất, miền CH1 và miền Fc và miền biến đổi chuỗi nặng bổ sung (VH1 -CH1-[cầu nối miền tùy ý] -vh2-bản lề-CH2-CH3). Miền chuỗi nhẹ được gắn cộng hóa trị giữa đầu tận cùng C của miền CH1 của miền nặng không đổi và đầu tận cùng N của miền Fc thứ nhất bằng cách sử dụng cầu nối miền. Phương án này sử dụng thêm chuỗi nhẹ chung có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ và miền không đổi chuỗi nhẹ, mà kết hợp với chuỗi nặng để tạo thành hai Fab giống nhau mà liên kết đích. Như đối với nhiều phương án trong bản mô tả này, các cấu trúc này bao gồm biến thể đối xứng lệch, biến thể pI, biến thể cắt bỏ, biến thể Fc bổ sung, v.v. như mong muốn và được mô tả trong bản mô tả này.

Giá đỡ dime khác loại khác mà được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế là định dạng scFv trung tâm một nhánh được thể hiện trên Hình 18C. Theo phương án này, một monome chỉ có chứa miền Fc, mặc dù monome khác sử dụng miền scFv được cài xen do đó tạo thành miền liên kết kháng nguyên thứ hai. Ở định dạng này, phần Fab liên kết một đích và scFv liên kết đích khác. Miền scFv được cài xen giữa miền Fc và vùng CH1-Fv của một trong số các monome. Theo phương án này, một monome có chứa chuỗi

nặng thứ nhất có chứa miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất, miền CH1 và miền Fc, với scFv có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ scFv, cầu nối scFv và miền biến đổi chuỗi nặng scFv. scFv được gắn cộng hóa trị giữa đầu tận cùng C của miền CH1 của miền nặng không đổi và đầu tận cùng N của miền Fc thứ nhất bằng cách sử dụng cầu nối miền. Monome thứ hai có chứa miền Fc. Phương án này còn sử dụng chuỗi nhẹ có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ và miền không đổi chuỗi nhẹ, mà kết hợp với chuỗi nặng để tạo thành Fab. Như đối với nhiều phương án trong bản mô tả này, các cấu trúc này bao gồm biến thể đối xứng lệch, biến thể pI, biến thể cắt bỏ, biến thể Fc bổ sung, v.v. như mong muốn và được mô tả trong bản mô tả này.

Ngoài ra, miền Fc của định dạng scFv trung tâm một nhánh tùy ý có chứa các biến thể đối xứng lệch (ví dụ như, được chọn từ nhóm gồm có S364K/E357Q : L368D/K370S; L368D/K370S : S364K; L368E/K370S : S364K; T411T/E360E/Q362E : D401K; L368D/K370S : S364K/E357L, K370S : S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V : T366W và T366S/L368A/Y407V Y349C : T366W/S354C), tùy ý các biến thể cắt bỏ, tùy ý cầu nối scFv tích điện, và chuỗi nặng có chứa các biến thể pI. Theo một số phương án, định dạng scFv trung tâm một nhánh bao gồm các biến thể đối xứng lệch, các biến thể pI, và các biến thể cắt bỏ. Theo đó, một số phương án bao gồm định dạng cái mở nắp chai mà có chứa: a) monome thứ nhất mà có chứa các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất của chuỗi nhẹ, tạo thành Fv mà liên kết với đích thứ nhất, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai; b) monome thứ hai mà có chứa các biến thể đối xứng lệch L368D/K370S, các biến thể pI N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất, tạo thành Fv mà liên kết với đích thứ nhất, và chuỗi nhẹ biến đổi thứ hai, mà cùng với chuỗi nặng biến đổi thứ hai tạo thành Fv mà liên kết đích thứ hai; và c) chuỗi nhẹ có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và miền không đổi chuỗi nhẹ. Theo một số phương án, định dạng scFv trung tâm một nhánh bao gồm các biến thể đối xứng lệch, các biến thể pI, các biến thể cắt bỏ và các biến thể FcRn. Theo đó, một số phương án bao gồm định dạng mà có chứa: a) monome thứ nhất mà có chứa các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, các biến thể FcRn M428L/N434S và miền biến

đôi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất của chuỗi nhẹ, tạo thành Fv mà liên kết với đích thứ nhất, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai; b) monome thứ hai mà có chứa các biến thể đối xứng lệch L368D/K370S, các biến thể pI N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, các biến thể FcRn M428L/N434S và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất, tạo thành Fv mà liên kết với đích thứ nhất như mô tả trong bản mô tả này, và chuỗi nhẹ biến đổi thứ hai, mà cùng với chuỗi nặng biến đổi thứ hai tạo thành Fv mà liên kết đích thứ hai; và c) chuỗi nhẹ có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và miền không đổi chuỗi nhẹ.

Giá đỡ dime khác loại khác mà được sử dụng trong sáng chế là định dạng scFv-mAb một nhánh được thể hiện trên Hình 18D. Theo phương án này, một monome chỉ chứa miền Fc, mặc dù monome kia sử dụng miền scFv được gắn ở đầu tận cùng N của chuỗi nặng, thường là thông qua việc sử dụng cầu nối: $\text{vh-cầu nối scFv-vl-[cầu nối miền tùy ý]-CH1-bản lề-CH2-CH3}$ hoặc (theo hướng ngược lại) $\text{vl-cầu nối scFv-vh-[cầu nối miền tùy ý]-CH1-bản lề-CH2-CH3}$. Ở định dạng này, phần Fab liên kết một đích và scFv liên kết đích khác. Phương án này còn sử dụng chuỗi nhẹ có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ và miền không đổi chuỗi nhẹ, mà kết hợp với chuỗi nặng để tạo thành Fab. Như đối với nhiều phương án trong bản mô tả này, các cấu trúc này bao gồm biến thể đối xứng lệch, biến thể pI, biến thể cắt bỏ, biến thể Fc bổ sung, v.v. như mong muốn và được mô tả trong bản mô tả này.

Miền Fc của scFv-mAb một nhánh có chứa các biến thể đối xứng lệch (ví dụ như, được chọn từ nhóm gồm có S364K/E357Q : L368D/K370S; L368D/K370S : S364K; L368E/K370S : S364K; T411T/E360E/Q362E : D401K; L368D/K370S : S364K/E357L, K370S : S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V : T366W; và T366S/L368A/Y407V/Y349C : T366W/S354C), tùy ý các biến thể cắt bỏ, tùy ý cầu nối scFv tích điện, và chuỗi nặng có chứa các biến thể pI. Theo một số phương án, định dạng scFv-mAb một nhánh bao gồm các biến thể đối xứng lệch, các biến thể pI, và các biến thể cắt bỏ. Theo đó, một số phương án bao gồm định dạng cái mở nắp chai mà có chứa: a) monome thứ nhất mà có chứa các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất của chuỗi nhẹ, tạo thành Fv mà liên kết với đích thứ nhất, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai; b) monome thứ hai mà có chứa

các biến thể đối xứng lệch L368D/K370S, các biến thể pI N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất, tạo thành Fv mà liên kết với đích thứ nhất như mô tả trong bản mô tả này, và chuỗi nhẹ biến đổi thứ hai, mà cùng với chuỗi nặng biến đổi thứ hai tạo thành Fv mà liên kết đích thứ hai; và c) chuỗi nhẹ có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và miền không đổi chuỗi nhẹ. Theo một số phương án, định dạng scFv-mAb một nhánh bao gồm các biến thể đối xứng lệch, các biến thể pI, các biến thể cắt bỏ và các biến thể FcRn. Theo đó, một số phương án bao gồm định dạng cái mở nắp chai mà có chứa: a) monome thứ nhất mà có chứa các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, các biến thể FcRn M428L/N434S và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất của chuỗi nhẹ, tạo thành Fv mà liên kết với đích thứ nhất, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai; b) monome thứ hai mà có chứa các biến thể đối xứng lệch L368D/K370S, các biến thể pI N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, các biến thể FcRn M428L/N434S và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất, tạo thành Fv mà liên kết với đích thứ nhất như mô tả trong bản mô tả này, và chuỗi nhẹ biến đổi thứ hai, mà cùng với chuỗi nặng biến đổi thứ hai tạo thành Fv mà liên kết đích thứ hai; và c) chuỗi nhẹ có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và miền không đổi chuỗi nhẹ.

Giá đỡ dime khác loại khác mà được sử dụng trong sáng chế là định dạng mAb-scFv được thể hiện trên Hình 18E. Theo phương án này, định dạng này dựa trên việc sử dụng sự gắn đầu tận cùng N của scFv vào một trong các monome, do đó tạo thành miền liên kết kháng nguyên thứ ba, trong đó phần Fab của hai monome liên kết một đích và miền scFv "bổ sung" liên kết đích khác. Theo phương án này, monome thứ nhất có chứa chuỗi nặng thứ nhất (có chứa miền biến đổi và miền không đổi chuỗi nặng), với scFv được gắn cộng hóa trị đầu tận cùng N có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ scFv, cầu nối scFv và miền biến đổi chuỗi nặng scFv theo một trong hai hướng ((VH1-cầu nối scFv-vll-[cầu nối miền tùy ý]-vh2-CH1-bản lề-CH2-CH3) hoặc (với scFv theo hướng ngược lại) (vll-cầu nối scFv-VH1-[cầu nối miền tùy ý]-vh2-CH1-bản lề-CH2-CH3)). Phương án này sử dụng thêm chuỗi nhẹ chung có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ và miền không đổi chuỗi nhẹ, mà kết hợp với chuỗi nặng để tạo thành hai Fab giống nhau mà liên kết

một trong các kháng nguyên đích. Như đối với nhiều phương án trong bản mô tả này, các cấu trúc này bao gồm biến thể đối xứng lệch, biến thể pI, biến thể cắt bỏ, biến thể Fc bổ sung, v.v. như mong muốn và được mô tả trong bản mô tả này.

Miền Fc của định dạng scFv-mAb tùy ý có chứa các biến thể đối xứng lệch (ví dụ như, được chọn từ nhóm gồm có S364K/E357Q : L368D/K370S; L368D/K370S : S364K; L368E/K370S : S364K; T411T/E360E/Q362E : D401K; L368D/K370S : S364K/E357L, K370S : S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V : T366W; và T366S/L368A/Y407V/Y349C : T366W/S354C), tùy ý các biến thể cắt bỏ, tùy ý cầu nối scFv tích điện, và chuỗi nặng có chứa các biến thể pI. Theo một số phương án, định dạng mAb-scFv bao gồm các biến thể đối xứng lệch, các biến thể pI, và các biến thể cắt bỏ. Theo đó, một số phương án bao gồm định dạng cái mở nắp chai mà có chứa: a) monome thứ nhất mà có chứa các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất của chuỗi nhẹ, tạo thành Fv mà liên kết với đích thứ nhất, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai; b) monome thứ hai mà có chứa các biến thể đối xứng lệch L368D/K370S, các biến thể pI N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất, tạo thành Fv mà liên kết với đích thứ nhất như mô tả trong bản mô tả này, và chuỗi nhẹ biến đổi thứ hai, mà cùng với chuỗi nặng biến đổi thứ hai tạo thành Fv mà liên kết đích thứ hai; và c) chuỗi nhẹ có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và miền không đổi chuỗi nhẹ. Theo một số phương án, định dạng mAb-scFv bao gồm các biến thể đối xứng lệch, các biến thể pI, các biến thể cắt bỏ và các biến thể FcRn. Theo đó, một số phương án bao gồm định dạng cái mở nắp chai mà có chứa: a) monome thứ nhất mà có chứa các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, các biến thể FcRn M428L/N434S và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất của chuỗi nhẹ, tạo thành Fv mà liên kết với đích thứ nhất, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai; b) monome thứ hai mà có chứa các biến thể đối xứng lệch L368D/K370S, các biến thể pI N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, các biến thể FcRn M428L/N434S và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất, tạo thành Fv mà liên

kết với đích thứ nhất, và chuỗi nhẹ biến đổi thứ hai, mà cùng với chuỗi nặng biến đổi thứ hai tạo thành Fv mà liên kết đích thứ hai; và c) chuỗi nhẹ có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và miền không đổi chuỗi nhẹ.

Sáng chế còn đề xuất định dạng scFv kép, chẳng hạn như được minh họa trên Hình 18B. Theo phương án này, protein liên kết kháng nguyên dime khác loại được tạo thành bởi hai monome scFv-Fc (cả hai ở định dạng (vh-cầu nối scFv-vl-[cầu nối miền tùy ý]-CH₂-CH₃) hoặc định dạng (vl-cầu nối scFv- vh- [cầu nối miền tùy ý]-CH₂-CH₃), hoặc với một monome theo một hướng và monome kia theo hướng kia). Miền Fc của định dạng scFv kép tùy ý có chứa các biến thể đối xứng lệch (ví dụ như, được chọn từ nhóm gồm có S364K/E357Q : L368D/K370S; L368D/K370S : S364K; L368E/K370S : S364K; T411T/E360E/Q362E : D401K; L368D/K370S : S364K/E357L, K370S : S364K/E357Q, T366S/L368A/Y407V : T366W; và T366S/L368A/Y407V/Y349C : T366W/S354C), tùy ý các biến thể cắt bỏ, tùy ý cầu nối scFv tích điện, và chuỗi nặng có chứa các biến thể pI.

Theo một số phương án, định dạng scFv kép bao gồm các biến thể đối xứng lệch, các biến thể pI, và các biến thể cắt bỏ. Theo đó, một số phương án bao gồm định dạng mà có chứa: a) monome thứ nhất mà có chứa các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất của chuỗi nhẹ, tạo thành Fv mà liên kết với đích thứ nhất, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai; b) monome thứ hai mà có chứa các biến thể đối xứng lệch L368D/K370S, các biến thể pI N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất, tạo thành Fv mà liên kết với đích thứ nhất như mô tả trong bản mô tả này, và chuỗi nhẹ biến đổi thứ hai, mà cùng với chuỗi nặng biến đổi thứ hai tạo thành Fv mà liên kết đích thứ hai; và c) chuỗi nhẹ có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và miền không đổi chuỗi nhẹ. Theo một số phương án, định dạng scFv kép bao gồm các biến thể đối xứng lệch, các biến thể pI, các biến thể cắt bỏ và các biến thể FcRn. Theo đó, một số phương án bao gồm định dạng cái mở nắp chai mà có chứa: a) monome thứ nhất mà có chứa các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, các biến thể FcRn M428L/N434S và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất của chuỗi

nhẹ, tạo thành Fv mà liên kết với đích thứ nhất, và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai; b) monome thứ hai mà có chứa các biến thể đối xứng lệch L368D/K370S, các biến thể pI N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, các biến thể FcRn M428L/N434S và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất mà, với miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất, tạo thành Fv mà liên kết với đích thứ nhất, và chuỗi nhẹ biến đổi thứ hai, mà cùng với chuỗi nặng biến đổi thứ hai tạo thành Fv mà liên kết đích thứ hai; và c) chuỗi nhẹ có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ thứ nhất và miền không đổi chuỗi nhẹ.

Mô tả thêm về các định dạng kháng thể được nêu trong Công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 2017/218707, được kết hợp ở đây để tham khảo.

Sự liên kết kháng thể

Protein liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép (ví dụ như, kháng thể đime khác loại) theo sáng chế, theo các khía cạnh khác nhau, liên kết CD3 và STEAP1. Các vùng liên kết khác nhau độc lập thể hiện KD đối với kháng nguyên tương ứng của chúng nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-4} M, nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-5} M, nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-6} M, nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-7} M, nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-8} M, nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-9} M, nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-10} M, nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-11} M, hoặc nhỏ hơn hoặc bằng 10^{-12} M, trong đó KD dùng để chỉ tốc độ phân ly của sự tương tác kháng thể-kháng nguyên cụ thể. Ái lực liên kết được mô tả thêm ở trên. Vùng liên kết STEAP1 không cần phải liên kết STEAP1 với cùng ái lực như, ví dụ như, vùng liên kết CD3 liên kết CD3. Ái lực liên kết được bộc lộ trong ngữ cảnh của protein liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép cũng áp dụng cho cấu trúc đơn đặc hiệu bất kỳ được mô tả trong bản mô tả này, bao gồm cấu trúc mà liên kết PD-1.

Các cải biến kháng thể khác

Ngoài các cải biến được mô tả ở trên, các cải biến khác có thể được tạo ra. Ví dụ như, các phân tử có thể được làm ổn định bằng sự kết hợp của cầu disulphua liên kết các miền VH và VL (Reiter et al., 1996, Nature Biotech. 14:1239-1245, được kết hợp toàn bộ để tham khảo). Ngoài ra, có nhiều cải biến cộng hóa trị của kháng thể mà có thể được tạo ra như mô tả dưới đây.

Cải biến cộng hóa trị của kháng thể được bao gồm ở trong phạm vi của bản mô tả này, và thường, nhưng không luôn luôn, được thực hiện sau dịch mã. Ví dụ như, một

vài loại cải biến cộng hóa trị của kháng thể được đưa vào phân tử bằng cách cho các gốc axit amin cụ thể của kháng thể phản ứng với tác nhân tạo dẫn xuất hữu cơ mà có khả năng phản ứng với các chuỗi bên được chọn hoặc các gốc đầu tận cùng N hoặc C.

Các gốc xysteinyl thường phản ứng với α -haloaxetat (và các amin tương ứng), như axit cloaxetic hoặc cloaxetamit, để thu được các dẫn xuất carboxymetyl hoặc carboxyamidometyl. Các gốc xysteinyl cũng có thể được tạo dẫn xuất bằng phản ứng với bromotrifloaxeton, axit α -bromo- β -(5-imidazolyl)propionic, cloaxetyl phosphat, N-alkylmaleimit, 3-nitro-2-pyridyl disulfua, metyl 2-pyridyl disulfua, p-clomercuribenzoat, 2-clomercuri-4-nitrophenol, hoặc clo-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol và dạng tương tự.

Ngoài ra, cải biến ở các xystein đặc biệt hữu dụng trong các ứng dụng thể liên hợp thuốc kháng thể (antibody-drug conjugate - ADC), được mô tả thêm dưới đây. Theo một số phương án, vùng không đổi của kháng thể có thể được thiết kế để chứa một hoặc nhiều xystein mà cụ thể là "phản ứng thiol" nhờ vậy cho phép sự bố trí có kiểm soát và đặc hiệu hơn của gốc thuốc. Xem ví dụ như Bằng sáng chế Mỹ số 7,521,541, được kết hợp để tham khảo đến toàn bộ nội dung của nó trong bản mô tả này.

Gốc histidyl được tạo dẫn xuất bằng phản ứng với diethylpyrocarbonat ở độ pH 5,5-7,0 bởi vì chất này tương đối đặc hiệu đối với chuỗi bên histidyl. Para-bromophenaxyl bromua cũng hữu dụng; phản ứng tốt hơn là được thực hiện trong 0,1M natri cacodylat ở độ pH 6,0.

Lysinyl và gốc đầu tận cùng amino được cho phản ứng với anhydrit của axit succinic hoặc axit carboxylic khác. Sự tạo dẫn xuất bằng các tác nhân này bảo toàn điện tích của gốc lysinyl. Các chất phản ứng thích hợp khác để tạo dẫn xuất gốc chứa alpha-amino bao gồm imidoeste chẳng hạn như metyl picolinimidat; pyridoxal phosphat; pyridoxal; cloborohyđrua; axit trinitrobenzensulfonic; O-metylisoure; 2,4-pentandion; và phản ứng được xúc tác bởi transaminaza với glyoxylat.

Gốc arginyl được cải biến bằng phản ứng với một hoặc một vài chất phản ứng thông thường, trong số chúng phenylglyoxal, 2,3-butandion, 1,2-xyclohexandion, và ninhyđrin. Việc tạo dẫn xuất các gốc arginin đòi hỏi phản ứng phải được tiến hành trong điều kiện kiềm do nhóm chức guanidin có pKa cao. Hơn nữa, các tác nhân này có thể phản ứng với các nhóm của lysin cũng như là nhóm epsilon-amino arginin.

Có thể tiến hành cải biến riêng các gốc tyrosyl, trong đó đặc biệt ưu tiên đưa các phân tử đánh dấu phổ vào các gốc tyrosyl bằng cách phản ứng với các hợp chất diazoni thơm hoặc tetranitrometan. Thông thường nhất là, N-axetylimidizol và tetranitrometan được sử dụng để tạo ra các nhóm O-axetyl tyrosyl và các dẫn xuất 3-nitro, tương ứng. Các gốc tyrosyl được iot hóa bằng cách sử dụng ^{125}I hoặc ^{131}I để điều chế các protein được đánh dấu để dùng trong thử nghiệm miễn dịch phóng xạ, phương pháp sử dụng cloramin T được mô tả trên đây là thích hợp.

Các nhóm bên carboxyl (aspartyl hoặc glutamyl) được cải biến chọn lọc bằng phản ứng với carbodiimide ($\text{R}'\text{---N}=\text{C}=\text{N}\text{---R}'$), trong đó R và R' tùy ý là các nhóm alkyl khác nhau, như 1-cyclohexyl-3-(2-morpholiny-4-etyl) carbodiimide hoặc 1-etyl-3-(4-azonia-4,4-dimethylpentyl) carbodiimide. Hơn nữa, các gốc aspartyl và glutamyl được chuyển hóa thành các gốc asparaginy- và glutaminy- bằng phản ứng với ion amoni.

Sự tạo dẫn xuất bằng các tác nhân hai chức hữu dụng để liên kết chéo kháng thể với chất nền đỡ không tan trong nước hoặc bề mặt để sử dụng trong nhiều phương pháp. Các tác nhân liên kết chéo thường được sử dụng bao gồm, ví dụ như, 1,1-bis(di-*ortho*-axetyl)-2-phenyletan, glutaraldehyd, N-hydroxysuccinimide este, ví dụ như, este với axit 4-azidosalicylic, imidoeste hai chức cùng loại, bao gồm disuccinimidyl este chẳng hạn như 3,3'-dithiobis (succinimidylpropionat), và maleimide hai chức chẳng hạn như bis-N-maleimido-1,8-octan. Các chất tạo dẫn xuất chẳng hạn như methyl-3-[(p-azidophenyl)dithio]propionimidat tạo ra các hợp chất trung gian có thể hoạt hóa bằng ánh sáng mà có khả năng tạo thành liên kết chéo khi có mặt ánh sáng. Theo cách khác, các chất nền không tan trong nước phản ứng chẳng hạn như hydrat cacbon được hoạt hóa bằng xyanogen bromua và các cơ chất phản ứng được mô tả trong các Bằng sáng chế Mỹ số 3,969,287; 3,691,016; 4,195,128; 4,247,642; 4,229,537; và 4,330,440, tất cả các tài liệu này được kết hợp toàn bộ để tham khảo, được sử dụng để giữ cố định protein.

Các gốc glutaminy- và asparaginy- thường được loại nhóm amit thành các gốc glutamyl và aspartyl tương ứng. Theo cách khác, các gốc này được loại amit trong điều kiện axit nhẹ. Một trong hai dạng của các gốc này nằm trong phạm vi của sáng chế.

Các cải biến khác bao gồm sự hydroxyl hóa của prolin và lysin, sự phosphoryl hóa của nhóm hydroxyl của gốc seryl hoặc threonyl, sự methyl hóa của nhóm α -amino của chuỗi bên lysin, arginin, và histidin (T. E. Creighton, *Proteins: Structure and*

Molecular Properties, W. H. Freeman & Co., San Francisco, pp. 79-86 [1983], được kết hợp toàn bộ để tham khảo), sự acetyl hóa của amin đầu tận cùng N, và sự amit hóa của nhóm carboxyl đầu tận cùng C bất kỳ.

Ngoài ra, như được hiểu rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, các nhãn (bao gồm huỳnh quang, enzym, từ tính, hoạt tính phóng xạ, v.v.) có thể được bổ sung vào protein liên kết kháng nguyên bất kỳ được mô tả trong bản mô tả này (cũng như là các hợp phần khác theo sáng chế).

Sự glycosyl hóa

Loại khác của sự cải biến cộng hóa trị là sự thay đổi ở sự glycosyl hóa. Theo phương án khác, kháng thể (hoặc các loại khác của protein liên kết kháng nguyên) được bộc lộ trong bản mô tả này có thể được cải biến để bao gồm một hoặc nhiều dạng glyco được thiết kế. "Dạng glyco được thiết kế" như dùng trong bản mô tả này có nghĩa là hợp phần hydrat cacbon mà được gắn cộng hóa trị vào kháng thể, trong đó hợp phần hydrat cacbon khác biệt về mặt hóa học so với kháng thể gốc. Dạng glyco được thiết kế có thể hữu dụng đối với nhiều mục đích, bao gồm nhưng không giới hạn ở tăng cường hoặc làm giảm chức năng tác động. Dạng được ưu tiên của dạng glyco được thiết kế là sự afucosyl hóa, mà được thể hiện là tương quan với sự tăng lên của chức năng ADCC, có lẽ là thông qua sự liên kết chặt chẽ hơn với thụ thể FcγRIIIa. Trong ngữ cảnh này, "sự afucosyl hóa" có nghĩa là phần lớn kháng thể được sản xuất trong tế bào chủ về cơ bản không có fucoza, ví dụ như, 90%, 95%, hoặc 98% của kháng thể được tạo ra không có fucoza đáng kể làm thành phần của gốc hydrat cacbon của kháng thể (thường được gắn ở N297 trong vùng Fc). Kháng thể đã được afucosyl hóa, được xác định về mặt chức năng thường thể hiện ái lực ít nhất là 50% hoặc cao hơn đối với thụ thể FcγRIIIa.

Một cách tùy ý, kháng thể đime khác loại có chứa sự cải biến trình tự mà loại bỏ một vị trí glycosyl hóa nữa, ví dụ như, ở một hoặc nhiều vị trí 292, 297, hoặc 302. Một ví dụ không làm giới hạn sáng chế bao gồm sự đưa vào của một hoặc nhiều các đột biến không có chức năng tác động ổn định (SEFL2) (ví dụ như, trong khung IgG1), mà được mô tả thêm trong, ví dụ như, Bằng sáng chế Mỹ số 9,546,203, được kết hợp để tham khảo trong bản mô tả này đến toàn bộ nội dung của nó và cụ thể là đối với phần mô tả về các đột biến SEFL2. Sự cải biến này có thể được sử dụng ngoài sự cải biến khác bất

kỳ được bộc lộ trong bản mô tả này, ví dụ như, sự cải biến N67Q để làm giảm sự khử amit.

Dạng glyco được thiết kế có thể được tạo ra bằng nhiều phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Xem, ví dụ như, Umaña et al., 1999, *Nat Biotechnol* 17:176-180; Davies et al., 2001, *Biotechnol Bioeng* 74:288-294; Shields et al., 2002, *J Biol Chem* 277:26733-26740; Shinkawa et al., 2003, *J Biol Chem* 278:3466-3473; Bằng sáng chế Mỹ số 6,602,684; Công bố đơn Mỹ số 2003/0157108 và 2003/0003097; và Công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 00/61739A1, WO 01/29246A1, WO 02/31140A1, và WO 02/30954A1, tất cả các tài liệu này được kết hợp toàn bộ để tham khảo, cũng như là công nghệ Potelligent® [Biowa, Inc., Princeton, NJ] và công nghệ thiết kế glycosyl hóa GlycoMAb® [Glycart Biotechnology AG, Zürich, Thụy Sĩ]. Nhiều kỹ thuật này được dựa trên việc kiểm soát mức độ của oligosacarit được fucosyl hóa và/hoặc chia đôi mà được gắn cộng hóa trị vào vùng Fc, ví dụ như bằng cách biểu hiện IgG ở các sinh vật hoặc dòng tế bào khác nhau, được thiết kế hoặc theo cách khác (ví dụ như, tế bào Lec-13 CHO hoặc tế bào YB2/0 lai chuột cống), bằng cách điều hòa các enzym tham gia vào con đường glycosyl hóa (ví dụ như FUT8 [α 1,6-fucosyltransferaza] và/hoặc β 1-4-N-acetylglucosaminyltransferaza III [GnTIII]), hoặc bằng cách cải biến (các) hydrat cacbon sau khi IgG đã được biểu hiện. Ví dụ như, "công nghệ kháng thể được thiết kế đường" hoạt động bằng cách bổ sung sacarit được cải biến mà ức chế sự fucosyl hóa trong quá trình sản xuất; xem ví dụ như Công bố đơn Mỹ số 20090317869, được kết hợp ở đây để tham khảo đến toàn bộ nội dung của nó. Dạng glyco được thiết kế thường dùng để chỉ các hydrat cacbon hoặc oligosacarit khác nhau; do đó kháng thể có thể bao gồm dạng glyco được thiết kế.

Theo cách khác, dạng glyco được thiết kế có thể dùng để chỉ biến thể IgG mà có chứa hydrat cacbon hoặc oligosacarit khác. Như đã biết trong lĩnh vực, kiểu glycosyl hóa có thể phụ thuộc vào cả trình tự của protein (ví dụ như, sự có mặt hoặc không có mặt của gốc axit amin glycosyl hóa cụ thể, được thảo luận dưới đây), hoặc tế bào hoặc sinh vật chủ trong đó protein được sản xuất. Các hệ biểu hiện cụ thể được thảo luận dưới đây.

Sự glycosyl hóa của polypeptit thường được liên kết N hoặc được liên kết O. Được liên kết N dùng để chỉ sự gắn của gốc hydrat cacbon vào chuỗi bên của gốc asparagin. Các trình tự tri-peptit asparagin-X-serin và asparagin-X-threonin, trong đó X

là axit amin bất kỳ ngoại trừ prolin, là các trình tự nhận diện đối với sự gắn enzym của gốc hydrat cacbon vào chuỗi bên asparagin. Do đó, sự có mặt của một trong các trình tự tri-peptit này trong polypeptit tạo ra vị trí glycosyl hóa tiềm năng. Sự glycosyl hóa liên kết với O dùng để chỉ sự gắn của một trong số đường N-acetylgalactosamin, galactosa, hoặc xyloza, vào axit hydroxyamin, phổ biến nhất là serin hoặc threonin, mặc dù 5-hydroxyprolin hoặc 5-hydroxylysin cũng có thể được sử dụng.

Việc bổ sung vị trí glycosyl hóa vào kháng thể có thể được thực hiện một cách thuận lợi bằng cách làm thay đổi trình tự axit amin sao cho nó chứa một hoặc nhiều trình tự tri-peptit được mô tả ở trên (đối với vị trí glycosyl hóa được liên kết N). Sự thay đổi cũng có thể được tạo ra bằng cách bổ sung, hoặc sự thế bằng, một hoặc nhiều gốc serin hoặc threonin vào trình tự bắt đầu (đối với vị trí glycosyl hóa được liên kết O). Để cho dễ, trình tự axit amin kháng thể tốt hơn là được làm thay đổi thông qua sự thay đổi ở cấp độ ADN, cụ thể là bằng cách gây đột biến ADN mã hóa cho polypeptit đích ở các bazơ được chọn trước sao cho các bộ ba mã hóa được tạo ra mà sẽ dịch mã thành axit amin mong muốn.

Phương thức khác để làm tăng số lượng của gốc hydrat cacbon trên protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể) là bằng cách ghép nối theo cách hóa học hoặc enzym các glycosit vào protein. Các quy trình này có ưu điểm ở chỗ không cần sản xuất protein trong tế bào chủ mà có khả năng glycosyl hóa đối với glycosyl hóa được liên kết với N hoặc với O. Tùy thuộc vào phương thức ghép nối được sử dụng, (các) đường có thể được gắn vào (a) arginin và histidin, (b) nhóm carboxyl tự do, (c) nhóm sulfhydryl tự do chẳng hạn như nhóm sulfhydryl của xystein, (d) nhóm hydroxyl tự do chẳng hạn như nhóm hydroxyl của serin, treonin, hoặc hydroxyprolin, (e) các gốc thơm chẳng hạn như các gốc thơm của phenylalanin, tyrosin, hoặc tryptophan, hoặc (f) nhóm amit của glutamin. Các phương pháp này được mô tả trong Công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 87/05330 và trong Aplin and Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259-306, cả hai tài liệu này được kết hợp toàn bộ để tham khảo.

Việc loại bỏ gốc hydrat cacbon có mặt trên kháng thể bắt đầu (ví dụ như, sau dịch mã) có thể được thực hiện bằng phương pháp hóa học hoặc bằng enzym. Sự khử glycosyl hóa hóa học đòi hỏi protein phải tiếp xúc với hợp chất axit triflometansulfonic, hoặc hợp chất tương đương. Việc xử lý này dẫn đến phân cắt hầu hết hoặc toàn bộ các đường ngoại trừ đường liên kết (N-acetylglucosamin hoặc N-acetylgalactosamin), trong khi để

lại polypeptit nguyên vẹn. Sự khử glycosyl hóa hóa học được mô tả bởi Hakimuddin et al., 1987, Arch. Biochem. Biophys. 259:52 và bởi Edge et al., 1981, Anal. Biochem. 118:131, cả hai tài liệu được kết hợp toàn bộ để tham khảo. Sự phân cắt bằng enzym của gốc hydrat cacbon trên polypeptit có thể đạt được bằng cách sử dụng nhiều endo- và exoglycosidaza như được mô tả bởi Thotakura et al., 1987, Meth. Enzymol. 138:350, được kết hợp toàn bộ để tham khảo. Sự glycosyl hóa tại vị trí glycosyl hóa tiềm năng có thể được ngăn chặn bằng cách sử dụng hợp chất tunicamycin như được mô tả bởi Duskin et al., 1982, J. Biol. Chem. 257:3105, được kết hợp toàn bộ để tham khảo. Tunicamycin phong bế sự tạo thành các liên kết protein-N-glycosit.

Loại khác của sự cải biến cộng hóa trị của kháng thể có chứa sự liên kết kháng thể với các polyme không phải là protein, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các rượu đa chức khác nhau chẳng hạn như polyetylen glycol, polypropylen glycol hoặc polyoxyalkylen, theo phương thức nêu trong, ví dụ như, 2005-2006 PEG Catalog từ Nektar Therapeutics (có sẵn tại trang web Nektar), hoặc các Bằng sáng chế Mỹ số 4,640,835; 4,496,689; 4,301,144; 4,670,417; 4,791,192; hoặc 4,179,337, tất cả các tài liệu này được kết hợp toàn bộ để tham khảo. Ngoài ra, như đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật, các đột biến thể axit amin có thể được tạo ra ở các vị trí khác nhau ở trong kháng thể để thuận lợi cho sự bổ sung polyme chẳng hạn như PEG. Xem ví dụ như, Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2005/0114037A1, được kết hợp toàn bộ để tham khảo.

Biến thể Fc khác cho chức năng khác

Ngoài các biến thể axit amin pI và các biến thể khác được mô tả ở trên, có nhiều sự cải biến axit amin Fc hữu dụng mà có thể được tạo ra vì nhiều lý do, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, việc làm thay đổi sự liên kết với một hoặc nhiều thụ thể FcγR, việc làm thay đổi sự liên kết với thụ thể FcRn, v.v.. Các cải biến sau đây có thể được sử dụng ngoài ra hoặc theo cách khác so với cải biến bất kỳ được mô tả ở trên.

Biến thể FcγR

Có nhiều sự thể Fc hữu dụng mà có thể được tạo ra để làm thay đổi sự liên kết với một hoặc nhiều thụ thể FcγR. Sự thể mà dẫn đến sự liên kết tăng cũng như là sự liên kết giảm có thể hữu dụng. Ví dụ như, đã biết rằng sự liên kết tăng với FcγRIIIa thường dẫn đến ADCC tăng (sự gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể; phản ứng qua trung gian tế bào trong đó tế bào gây độc tế bào không đặc hiệu mà biểu hiện

FcγR nhận diện kháng thể liên kết trên tế bào đích và tiếp đó gây ra sự dung giải của tế bào đích). Tương tự, sự liên kết giảm với FcγRIIb (thụ thể ức chế) có thể cũng có lợi trong một số trường hợp. Các đột biến thể axit amin mà được sử dụng trong sáng chế này bao gồm các đột biến được liệt kê trong Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2006/0024298 (cụ thể là Hình 41), 2006/0121032, 2006/0235208, 2007/0148170, tất cả chúng được kết hợp rõ ràng ở đây chỉ để tham khảo và cụ thể là về các biến thể được bộc lộ trong đó. Các biến thể cụ thể mà được sử dụng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, 236A, 239D, 239E, 332E, 332D, 239D/332E, 267D, 267E, 328F, 267E/328F, 236A/332E, 239D/332E/330Y, 239D, 332E/330L, và 299T.

Ngoài ra, có các sự thể Fc khác mà được sử dụng trong sự liên kết tăng với thụ thể FcRn và thời gian bán thải trong huyết thanh tăng lên, như được bộc lộ cụ thể trong Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2009/0163699, được kết hợp ở đây để tham khảo đến toàn bộ nội dung của nó, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, 434S, 428L, 308F, 259I, 428L/434S, 259I/308F, 436I/428L, 436I hoặc V/434S, 436V/428L và 259I/308F/428L.

Các biến thể cắt bỏ Fc

Các biến thể khác mà được sử dụng trong ngữ cảnh của bản mô tả này là các biến thể mà cắt bỏ (ví dụ như, làm giảm hoặc triệt tiêu) sự liên kết với thụ thể Fcγ. Điều này có thể là điều mong muốn để làm giảm các cơ chế tác động tiềm năng (ví dụ như, làm giảm hoạt tính ADCC) của kháng thể đime khác loại. Nhiều biến thể cắt bỏ Fc thích hợp được minh họa trên Hình 6, và có thể tùy ý và độc lập được bao gồm hoặc được loại trừ kết hợp với các biến thể đime hóa khác loại khác bất kỳ, bao gồm các biến thể pI và không gian.

Được sử dụng cụ thể theo một số phương án là monome thứ nhất ("phía âm") mà chứa các biến thể pI N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, các biến thể đối xứng lệch 368D/370S, và các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K, bắt cặp với phía dương không chứa các biến thể pI, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), trong đó phía dương là monome có chứa scFv và chứa cầu nối scFv tích điện. Phương án thứ hai sử dụng monome phía âm thứ nhất có chứa I199T/N203D/K274Q/R355Q/Q419E/K447del, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K (tùy ý cả

hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), bắt cặp với phía dương có chứa các biến thể pI Q196K/I199T/P271R/P228R/N276K, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), trong đó phía dương là monome có chứa scFv và chứa cầu nối scFv tích điện. Phương án thứ ba sử dụng monome phía âm

thứ nhất có chứa I199T/N203D/K274Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447del, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), bắt cặp với monome phía dương không chứa các biến thể pI, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), trong đó phía dương là monome có chứa scFv và chứa cầu nối scFv tích điện. Phương án thứ tư sử dụng monome thứ nhất ("phía âm") mà chứa các biến thể pI N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, các biến thể đối xứng lệch 368D/370S, và các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S239K, bắt cặp với phía dương không chứa các biến thể pI, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S239K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S). Phương án thứ năm sử dụng monome phía âm thứ nhất có chứa I199T/N203D/K274Q/R355Q/Q419E/K447del, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S239K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), bắt cặp với phía dương có chứa các biến thể pI Q196K/I199T/P271R/P228R/N276K, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S239K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S). Phương án thứ sáu sử dụng monome

phía âm thứ nhất có chứa I199T/N203D/K274Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447del, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S267K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), bắt cặp với phía dương monome các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ E233P/L234V/L235A/G236del/S239K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), trong đó phía dương là monome scFv và chứa cầu

nối scFv tích điện (cụ thể là khi scFv là kháng-CD3). Phương án thứ bảy sử dụng monome thứ nhất ("phía âm") mà chứa các biến thể pI N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, các biến thể đối xứng lệch 368D/370S, và các biến thể cắt bỏ S239K/S267K, bắt cặp với phía dương không chứa các biến thể pI, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ S239K/S267K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), trong đó phía dương là monome scFv và chứa cầu nối scFv tích điện. Phương án thứ tám sử dụng monome phía âm thứ nhất có chứa I199T/N203D/K274Q/R355Q/Q419E/K447del, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ S239K/S267K, (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), bắt cặp với phía dương có chứa các biến thể pI Q196K/I199T/P271R/P228R/N276K, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ S239K/S267K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), trong đó phía dương là monome scFv và chứa cầu nối scFv tích điện. Phương án thứ chín sử dụng monome phía âm thứ nhất có chứa I199T/N203D/K274Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447del, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ S239K/S267K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), bắt cặp với phía dương monome không chứa các biến thể pI, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ S239K/S267K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), trong đó phía dương là monome scFv và chứa cầu nối scFv tích điện. Phương án thứ mười sử dụng monome thứ nhất ("phía âm") mà chứa các biến thể pI N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, các biến thể đối xứng lệch 368D/370S, và các biến thể cắt bỏ S267K/P329K, bắt cặp với phía dương không chứa các biến thể pI, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ S267K/P329K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), trong đó phía dương là monome scFv và chứa cầu nối scFv tích điện. Phương án thứ mười một sử dụng monome phía âm thứ nhất có chứa I199T/N203D/K274Q/R355Q/Q419E/K447del, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ S267K/P329K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), bắt cặp với phía dương có chứa các biến thể pI Q196K/I199T/P271R/P228R/N276K, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ S267K/P329K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), trong đó phía dương là monome scFv và chứa cầu nối scFv tích điện. Phương án thứ 12

sử dụng monome phía âm thứ nhất có chứa I199T/N203D/K274Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447del, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ S267K/P329K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), bắt cặp với phía dương monome không chứa biến thể pI, các biến thể đối xứng lệch S364K/E357Q và các biến thể cắt bỏ S267K/P329K (tùy ý cả hai monome chứa các biến thể FcRn 428L/434S), trong đó phía dương là monome scFv và chứa cầu nối scFv tích điện.

Theo các khía cạnh khác nhau, monome thứ nhất có chứa chuỗi nặng thứ nhất có chứa miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất, chuỗi nặng không đổi thứ nhất có chứa miền CH1 thứ nhất và miền Fc thứ nhất, scFv mà liên kết CD3 người và có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ scFv, cầu nối scFv và miền biến đổi chuỗi nặng scFv (tức là, chuỗi nặng "Fab-scFv-Fc") có chứa sự làm khuyết trong bản lề phía trên và các đột biến thể CH2 và CH3 được đưa vào. Các đột biến thể bao gồm, ví dụ như, một hoặc nhiều (ví dụ như, tất cả) trong số E233P, delL234, L235V, G236A, S267K, r292c, n297g, v302c, E357Q, và S364K (đánh số EU, các chữ cái viết thường dùng để chỉ đột biến thể SEFL2). Monome thứ hai có chứa chuỗi nặng thứ hai có chứa miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai và chuỗi nặng không đổi thứ hai có chứa miền Fc thứ hai tùy ý có chứa một hoặc nhiều (ví dụ như, tất cả) trong số các đột biến sau đây: N208D, E233P, delL234, L235V, G236A, S267K, r292c, Q295E, n297g, v302c, L368D, K370S, N384D, Q418E, và N421D (đánh số EU, các chữ cái viết thường dùng để chỉ sự thể SEFL2).

Cầu nối

"Cầu nối" trong bản mô tả này còn được đề cập đến dưới dạng "trình tự cầu nối" hoặc "đoạn đệm" hoặc từ tương đương về mặt ngữ pháp. Cầu nối hai chức giống nhau hoặc khác nhau như đã được biết rõ (xem, 1994 Pierce Chemical Company catalog, phần kỹ thuật về cầu nối chéo, các trang 155-200, được kết hợp toàn bộ để tham khảo). (Lưu ý sự khác biệt giữa "cầu nối" chung và "cầu nối scFv" và "cầu nối scFv tích điện"). Nhiều chiến lược có thể được sử dụng để liên kết cộng hóa trị các phân tử với nhau. Chúng bao gồm, nhưng không giới hạn ở liên kết polypeptit giữa các đầu tận cùng N và C của protein hoặc miền protein, liên kết thông qua liên kết disulfua, và liên kết thông qua chất phản ứng liên kết chéo hóa học. Theo một khía cạnh của phương án này, cầu nối là liên kết peptit, được tạo ra bằng kỹ thuật tái tổ hợp hoặc tổng hợp peptit. Peptit cầu nối có thể chủ yếu bao gồm các gốc axit amin sau: Gly, Ser, Ala, hoặc Thr. Peptit

cầu nối phải có chiều dài đủ để liên kết hai phân tử theo cách sao cho chúng có cấu hình đúng so với nhau để cho chúng giữ được hoạt tính mong muốn. Theo một phương án, cầu nối có chiều dài từ khoảng 1 đến 50 axit amin, tốt hơn là có chiều dài từ khoảng 1 đến 30 axit amin. Theo một phương án, cầu nối có chiều dài từ 1 đến 20 axit amin có thể được sử dụng. Các cầu nối hữu dụng bao gồm polyme glyxin-serin, bao gồm ví dụ như (GS)_n, (GSGGS)_n (SEQ ID NO: 178), (GGGGS)_n (SEQ ID NO: 179), và (GGGS)_n (SEQ ID NO: 180), trong đó n là số nguyên bằng ít nhất là một; polyme glyxin-alanin; polyme alanin-serin; và các cầu nối linh hoạt khác. Theo cách khác, nhiều polyme không phải protein khác, bao gồm, nhưng không giới hạn ở polyetylen glycol (PEG), polypropylen glycol, polyoxyalkylen, hoặc copolyme của polyetylen glycol và polypropylen glycol, có thể được sử dụng làm cầu nối, tức là có thể được sử dụng làm cầu nối.

Các trình tự cầu nối khác có thể bao gồm trình tự bất kỳ có chiều dài bất kỳ của miền CL/CH1 nhưng không phải tất cả các gốc của miền CL/CH1; ví dụ các gốc axit amin 5-12 thứ nhất của miền CL/CH1. Cầu nối có thể được tạo ra từ chuỗi nhẹ globulin miễn dịch, ví dụ như C_κ hoặc C_λ. Cầu nối có thể được tạo ra từ chuỗi nặng globulin miễn dịch của isotyp bất kỳ, bao gồm ví dụ như C_γ1, C_γ2, C_γ3, C_γ4, C_α1, C_α2, C_δ, C_ε, và C_μ. Trình tự cầu nối cũng có thể có nguồn gốc từ các protein khác như protein giống như Ig (ví dụ, TCR, FcR, KIR), trình tự có nguồn gốc từ vùng bản lề, và các trình tự tự nhiên khác từ các protein khác.

Theo một số phương án, cầu nối là "cầu nối miền", được sử dụng để liên kết hai miền bất kỳ như được mô tả trong bản mô tả này cùng với nhau. Ví dụ như, trên Hình 18F, có thể có cầu nối miền mà gắn đầu tận cùng C của miền CH1 của Fab vào đầu tận cùng N của scFv, với cầu nối miền khác tùy ý gắn đầu tận cùng C của scFv vào miền CH2 (mặc dù theo nhiều phương án bản lề được sử dụng làm cầu nối miền này). Theo một số phương án, cầu nối là vùng bản lề hoặc mảnh của chúng.

Thể liên hợp thuốc kháng thể

Protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể hoặc kháng thể đime khác loại) theo sáng chế tùy ý được liên hợp với thuốc để tạo thành thể liên hợp thuốc kháng thể (ADC). Nhìn chung, ADC được sử dụng trong nhiều ngữ cảnh, bao gồm các ứng dụng ung thư học, trong đó việc sử dụng thể liên hợp thuốc kháng thể để phân phối cục

bộ tác nhân gây độc tế bào hoặc kim hãm tế bào cho phép sự phân phối nhắm đích của gốc thuốc đến khối u, mà có thể cho hiệu quả cao hơn, sự gây độc thấp hơn, v.v.. Tổng quan về công nghệ này được nêu trong Ducry et al., *Bioconjugate Chem.*, 21:5-13 (2010); Carter et al., *Cancer J.* 14(3):154 (2008); và Senter, *Current Opin. Chem. Biol.* 13:235-244 (2009), tất cả các tài liệu này được kết hợp ở đây để tham khảo đến toàn bộ nội dung của chúng.

Nhìn chung, sự liên hợp được thực hiện bằng sự gắn cộng hóa trị vào kháng thể, như được mô tả thêm dưới đây, và thường dựa trên cầu nối, thường là liên kết peptit (mà, như được mô tả trong bản mô tả này, có thể được thiết kế để nhạy với sự phân cắt bằng proteaza tại vị trí đích hoặc không). Ngoài ra, liên kết của đơn vị cầu nối-thuốc (LU-D) có thể đạt được bằng sự gắn vào cysteine ở trong kháng thể. Số lượng của gốc thuốc cho mỗi kháng thể có thể thay đổi, tùy thuộc vào điều kiện của phản ứng, và có thể thay đổi từ 1:1 đến 10:1 thuốc:kháng thể. Như được hiểu rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, số lượng thực tế là giá trị trung bình.

Thuốc của ADC có thể được chọn từ tác nhân bất kỳ trong số nhiều tác nhân, bao gồm nhưng không giới hạn ở tác nhân gây độc tế bào chẳng hạn như tác nhân hóa trị liệu, chất ức chế sinh trưởng, độc tố (ví dụ như, độc tố có hoạt tính enzym có nguồn gốc vi khuẩn, nấm, thực vật, hoặc động vật, hoặc mảnh của chúng), hoặc đồng vị có hoạt tính phóng xạ (tức là, thể liên hợp phóng xạ). Sáng chế còn đề xuất phương pháp sử dụng ADC.

Thuốc để sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế bao gồm thuốc gây độc tế bào, cụ thể là thuốc gây độc tế bào dùng để trị liệu ung thư. Thuốc này bao gồm, thường là, tác nhân gây hư hỏng ADN, chất chống chuyển hóa, sản phẩm tự nhiên và chất tương tự của chúng. Các nhóm ví dụ của tác nhân gây độc tế bào bao gồm chất ức chế enzym chẳng hạn như chất ức chế dihydrofolat reductaza, và chất ức chế thymidylat synthaza, chất xen giữa ADN, chất phân cắt ADN, chất ức chế topoisomeraza, họ anthracyclin của thuốc, thuốc vinca, mitomycin, bleomycin, nucleosit gây độc tế bào, họ pteridin của thuốc, diynen, podophyllotoxin, dolastatin, maytansinoid, chất gây biệt hóa, và taxol.

Các thành viên của các nhóm này bao gồm, ví dụ như, methotrexat, methopterin, diclomethotrexat, 5-fluoraxin, 6-mercaptopurin, xytosin arabinosit, melphalan, leurosin, leurosidein, actinomycin, daunorubicin, doxorubicin, mitomycin C, mitomycin A,

caminomycin, aminopterin, tallysomycin, podophyllotoxin và dẫn xuất podophyllotoxin chẳng hạn như etoposid hoặc etoposid phosphat, vinblastin, vincristin, vindesin, taxan bao gồm taxol, axit taxotretinoic, axit butyric, N8-axetyl spermidin, camptothecin, calicheamicin, esperamicin, ene-diyn, duocarmycin A, duocarmycin SA, calicheamicin, camptothecin, maytansinoid (bao gồm DM1), monomethylauristatin E (MMAE), monomethylauristatin F (MMAF), và maytansinoid (DM4) và các chất tương tự của chúng.

Độc tố có thể được sử dụng dưới dạng thể liên hợp kháng thể-độc tố và bao gồm độc tố vi khuẩn chẳng hạn như độc tố bạch hầu, độc tố thực vật chẳng hạn như ricin, độc tố phân tử nhỏ chẳng hạn như geldanamycin (Mandler et al (2000) J. Nat. Cancer Inst. 92(19):1573-1581; Mandler et al (2000) Bioorganic & Med. Chem. Letters 10:1025-1028; Mandler et al (2002) Bioconjugate Chem. 13:786-791), maytansinoid (EP 1391213; Liu et al., (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623), và calicheamicin (Lode et al (1998) Cancer Res. 58:2928; Hinman et al (1993) Cancer Res. 53:3336-3342). Độc tố có thể gây ra tác dụng gây độc tế bào và kìm hãm tế bào của chúng bằng các cơ chế bao gồm liên kết tubulin, liên kết ADN, hoặc ức chế topoisomeraza.

Các thể liên hợp của kháng thể (hoặc protein liên kết kháng nguyên khác) và một hoặc nhiều độc tố phân tử nhỏ, chẳng hạn như maytansinoid, dolastatin, auristatin, trichothexen, calicheamicin, và CC1065, và dẫn xuất của các độc tố này mà có hoạt tính gây độc, được dự tính.

Hợp chất maytansin thích hợp để sử dụng làm gốc thuốc maytansinoid được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật, và có thể được phân lập từ các nguồn tự nhiên theo phương pháp đã biết, được sản xuất bằng cách sử dụng kỹ thuật thiết kế di truyền (xem Yu et al (2002) PNAS 99:7968-7973), hoặc các chất tương tự maytansinol và maytansinol được điều chế theo cách tổng hợp theo phương pháp đã biết. Như được mô tả dưới đây, thuốc có thể được cải biến bằng sự kết hợp của nhóm hoạt tính chức năng chẳng hạn như nhóm thiol hoặc amin để liên hợp vào kháng thể.

Gốc thuốc maytansinoid ví dụ bao gồm gốc thuốc có vòng thơm được cải biến, chẳng hạn như: C-19-đeclo (Bằng sáng chế Mỹ số 4,256,746) (được điều chế bằng sự khử lithi nhôm hydrua của ansamycin P2); C-20-hydroxy (hoặc C-20-đemetyl) +/-C-19-đeclo (Bằng sáng chế Mỹ số 4,361,650 và 4,307,016) (được điều chế bằng sự demetyl

hóa bằng cách sử dụng *Streptomyces* hoặc *Actinomyces* hoặc sự khử clo bằng cách sử dụng LAH); và C-20-đemetoxy, C-20-axyloxy (--OCOR), +/-đeclo (Bằng sáng chế Mỹ số 4,294,757) (được điều chế bằng sự axyl hóa bằng cách sử dụng axyl clorua) và các gốc thuốc có sự cải biến ở các vị trí khác.

Gốc thuốc maytansinoit ví dụ còn bao gồm gốc thuốc có sự cải biến chẳng hạn như: C-9-SH (Bằng sáng chế Mỹ số 4,424,219) (được điều chế bằng phản ứng của maytansinol với H₂S hoặc P₂S₅); C-14-alkoxymetyl(đemetoxy/CH₂OR) (Bằng sáng chế Mỹ số 4,331,598); C-14-hydroxymetyl hoặc axyloxymetyl (CH₂OH hoặc CH₂OAc) (Bằng sáng chế Mỹ số 4,450,254) (được điều chế từ *Nocardia*); C-15-hydroxy/axyloxy (Bằng sáng chế Mỹ số 4,364,866) (được điều chế bằng sự chuyển hóa của maytansinol bằng *Streptomyces*); C-15-metoxy (các Bằng sáng chế Mỹ số 4,313,946 và 4,315,929) (được phân lập từ *Trewia nudiflora*); C-18-N-đemetyl (các Bằng sáng chế Mỹ số 4,362,663 và 4,322,348) (được điều chế bằng sự demetyl hóa của maytansinol bằng *Streptomyces*); và 4,5-đeoxy (Bằng sáng chế Mỹ số 4,371,533) (được điều chế bằng sự khử titan trichlorua/LAH của maytansinol).

Việc sử dụng cụ thể là DM1 (được bộc lộ trong Bằng sáng chế Mỹ số 5,208,020, được kết hợp để tham khảo) và DM4 (được bộc lộ trong Bằng sáng chế Mỹ số 7,276,497, được kết hợp để tham khảo). Cũng xem nhiều dẫn xuất maytansinoit khác và phương pháp trong các Bằng sáng chế Mỹ số 5,416,064; 6,441,163; 7,303,749; 7,368,565; và 7,601,354; các Công bố đơn quốc tế số WO/01/24763, WO02/098883, WO02/16368 và WO04/1033272; và USSN 12/631,508, tất cả chúng được kết hợp rõ ràng để tham khảo đến toàn bộ nội dung của chúng.

ADC chứa maytansinoit, phương pháp tạo ra chúng, và việc sử dụng để trị liệu của chúng được bộc lộ, ví dụ như, trong các Bằng sáng chế Mỹ số 5,208,020; 5,416,064; 6,441,163 và Bằng sáng chế châu Âu EP 0 425 235 B1, bản mô tả của chúng được kết hợp rõ ràng ở đây để tham khảo. Liu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623 (1996) mô tả ADC có chứa maytansinoit được ký hiệu là DM1 được liên kết với kháng thể đơn dòng C242 được định hướng chống lại bệnh ung thư kết trực tràng ở người.

Chari et al., Cancer Research 52:127-131 (1992) mô tả ADC trong đó maytansinoit được liên hợp thông qua cầu nối disulfua với kháng thể chuột nhắt A7 liên kết với kháng nguyên trên dòng tế bào ung thư kết tràng người, hoặc với kháng thể đơn

dòng chuột nhắt khác TA.1 mà liên kết gen ung thư HER-2/neu. Thể liên hợp thuốc đạt được mức độ gây độc tế bào tương tự với thuốc maytansinoid tự do, mà có thể được tăng lên bằng cách làm tăng số lượng của phân tử maytansinoid cho mỗi phân tử kháng thể.

Theo một số phương án, ADC có chứa chất tương tự peptit dolastatin hoặc dolostatin hoặc dẫn xuất, hoặc auristatin (các Bằng sáng chế Mỹ số 5,635,483 và 5,780,588). Dolastatin và auristatin đã được chứng minh là gây trở ngại cho động học vi ống, sự thủy phân GTP, và sự phân chia nhân và tế bào (Woyke et al (2001) *Antimicrob. Agents and Chemother.* 45(12):3580-3584) và có hoạt tính kháng ung thư (Bằng sáng chế Mỹ số 5,663,149) và kháng nấm (Pettit et al (1998) *Antimicrob. Agents Chemother.* 42:2961-2965). Gốc thuốc dolastatin hoặc auristatin có thể được gắn vào kháng thể thông qua đầu tận cùng N (amino) hoặc đầu tận cùng C (carboxyl) của gốc thuốc peptit (Công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 02/088172). Theo các khía cạnh khác nhau, kháng thể dime khác loại là một phần của kế hoạch điều trị mà còn bao gồm việc dùng eribulin.

Các phương án auristatin ví dụ bao gồm gốc thuốc monomethylauristatin được liên kết đầu tận cùng N DE và DF, được bộc lộ trong "Senter et al, Proceedings of the American Association for Cancer Research, Volume 45, Abstract Number 623, presented Mar. 28, 2004 và được mô tả trong Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2005/0238648, phần bộc lộ của chúng được kết hợp rõ ràng để tham khảo đến toàn bộ nội dung của nó. Phương án auristatin ví dụ là MMAE (xem Bằng sáng chế Mỹ số 6,884,869 được kết hợp rõ ràng để tham khảo đến toàn bộ nội dung của nó). Phương án auristatin ví dụ khác là MMAF (xem Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2005/0238649 và các Bằng sáng chế Mỹ số 5,767,237 và 6,124,431, được kết hợp rõ ràng để tham khảo đến toàn bộ nội dung của chúng).

Thông thường, gốc thuốc dựa trên peptit có thể được điều chế bằng cách tạo thành liên kết peptit giữa hai hoặc hơn hai axit amin và/hoặc mảnh peptit. Liên kết peptit này có thể được điều chế, ví dụ như, theo phương pháp tổng hợp pha lỏng (xem E. Schroder and K. Lubke, "The Peptides", volume 1, pp 76-136, 1965, Academic Press) mà đã được biết rõ trong lĩnh vực hóa học peptit. Gốc thuốc auristatin/dolastatin có thể được điều chế theo phương pháp của: các Bằng sáng chế Mỹ số 5,635,483 và 5,780,588; Pettit et al (1989) *J. Am. Chem. Soc.* 111:5463-5465; Pettit et al (1998) *Anti-Cancer Drug Design* 13:243-277; Pettit, G. R., et al. *Synthesis*, 1996, 719-725; Pettit et al (1996) *J.*

Chem. Soc. Perkin Trans. 1 5:859-863; và Doronina (2003) Nat Biotechnol 21(7):778-784.

Theo các phương án khác, ADC có chứa một hoặc nhiều phân tử calicheamicin. Ví dụ như, Mylotarg là thuốc ADC thương mại đầu tiên và sử dụng calicheamicin $\gamma 1$ làm tải lượng (xem Bằng sáng chế Mỹ số 4,970,198, được kết hợp để tham khảo đến toàn bộ nội dung của nó). Dẫn xuất calicheamicin khác được mô tả trong các Bằng sáng chế Mỹ số 5,264,586, 5,384,412, 5,550,246, 5,739,116, 5,773,001, 5,767,285 và 5,877,296, tất cả được kết hợp rõ ràng để tham khảo. Họ calicheamicin của kháng sinh có khả năng tạo ra sự đứt ADN sợi kép ở nồng độ dưới picomol. Để điều chế thể liên hợp của họ calicheamicin, xem các Bằng sáng chế Mỹ số 5,712,374, 5,714,586, 5,739,116, 5,767,285, 5,770,701, 5,770,710, 5,773,001, 5,877,296 (đều của American Cyanamid Company). Các chất tương tự cấu trúc của calicheamicin mà có thể được sử dụng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $\gamma 1I$, $\alpha 2I$, $\alpha 2I$, N-axetyl- $\gamma 1I$, PSAG và $\theta 1I$ (Hinman et al., Cancer Research 53:3336-3342 (1993), Lode et al., Cancer Research 58:2925-2928 (1998), và các bằng sáng chế Mỹ nêu trên của American Cyanamid). Thuốc kháng-khối u khác mà kháng thể có thể được liên hợp là QFA mà là antifolat. Cả calicheamicin và QFA đều có các vị trí tác động nội bào và không dễ dàng đi qua màng tương bào. Do đó, sự hấp thụ tế bào của các tác nhân này thông qua sự nội tại hóa qua trung gian kháng thể tăng cường mạnh tác dụng gây độc tế bào của chúng.

CC-1065 (xem Bằng sáng chế Mỹ số 4,169,888, được kết hợp để tham khảo) và duocarmyxin là các thành viên của họ kháng sinh kháng khối u dùng trong ADC. Các kháng sinh này dường như hoạt động thông qua việc alkyl hóa chọn lọc trình tự ADN tại N3 của adenin trong rãnh nhỏ, mà làm bắt đầu chuỗi sự kiện mà dẫn đến sự chết theo chương trình. Các thành viên quan trọng của duocarmyxin bao gồm duocarmyxin A (Bằng sáng chế Mỹ số 4,923,990, được kết hợp để tham khảo) và duocarmyxin SA (Bằng sáng chế Mỹ số 5,101,038, được kết hợp để tham khảo), và số lượng lớn các chất tương tự như được mô tả trong các Bằng sáng chế Mỹ số 7,517,903, 7,691,962, 5,101,038; 5,641,780; 5,187,186; 5,070,092; 5,070,092; 5,641,780; 5,101,038; 5,084,468; 5,475,092; 5,585,499; 5,703,080; 6,989,452; 7,087,600; 7,129,261; 7,498,302; 7,507,420; và 5,846,545; và Công bố đơn sáng chế quốc tế số WO2007/089149 và WO2009/017394A1, tất cả chúng được kết hợp rõ ràng để tham khảo.

Các tác nhân gây độc tế bào khác

Các tác nhân kháng khối u khác mà có thể được liên hợp vào protein liên kết kháng nguyên bao gồm BCNU, streptozocin, vincristin và 5-flouraxin, họ tác nhân đã biết chung chung là phức hợp LL-E33288 được mô tả trong các Bằng sáng chế Mỹ số 5,053,394 và 5,770,710, cũng như là esperamicin (Bằng sáng chế Mỹ số 5,877,296).

Độc tố có hoạt tính enzym và mảnh của chúng mà có thể được sử dụng bao gồm chuỗi A độc tố bạch hầu, mảnh hoạt tính không liên kết của độc tố bạch hầu, chuỗi A ngoại độc tố (từ *Pseudomonas aeruginosa*), chuỗi A rixin, chuỗi A abrin, chuỗi A modeccin, alpha-sarcin, protein Aleurites fordii, protein dianthin, protein Phytolacca americana (PAPI, PAPII, và PAP-S), chất ức chế momordica charantia, curxin, crotin, chất ức chế saponaria officinalis, gelonin, mitogellin, restrictoxin, phenomyxin, enomyxin, và tricothexen. Xem, ví dụ như, Công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 93/21232.

Sáng chế còn dự tính ADC được tạo thành giữa protein liên kết kháng nguyên và hợp chất có hoạt tính phân giải nhân (ví dụ như, ribonucleaza hoặc ADN endonucleaza chẳng hạn như deoxyribonucleaza; ADNaza).

Để phá hủy chọn lọc khối u, protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể hoặc kháng thể dime khác loại) có thể có chứa nguyên tử có hoạt tính phóng xạ cao. Nhiều loại đồng vị phóng xạ có sẵn để sản xuất thể liên hợp phóng xạ. Các ví dụ bao gồm At211, I131, I125, Y90, Re186, Re188, Sm153, Bi212, P32, Pb212 và các đồng vị có hoạt tính phóng xạ của Lu.

Nhãn phóng xạ hoặc các nhãn khác có thể được kết hợp trong thể liên hợp theo cách đã biết. Ví dụ như, peptit có thể được sinh tổng hợp hoặc có thể được tổng hợp bằng cách tổng hợp axit amin hóa học bằng cách sử dụng tiền chất axit amin thích hợp gồm, ví dụ như, flo-19 thay cho hydro. Các nhãn chẳng hạn như Tc99m hoặc I123, Re186, Re188, và In111 có thể được gắn thông qua gốc xystein trong peptit. Ytri-90 có thể được gắn thông qua gốc lysin. Phương pháp IODOGEN (Fraker et al (1978) Biochem. Biophys. Res. Commun. 80: 49-57 có thể được sử dụng để kết hợp Iot-123. "Monoclonal Antibodies in Immunoscintigraphy" (Chatal, CRC Press 1989) mô tả các phương pháp khác một cách chi tiết.

Trong một số trường hợp, sự tách, tinh chế, và sự xác định đặc điểm của ADC đồng nhất trong đó p là giá trị nhất định từ ADC với các tải lượng thuốc khác có thể đạt được bằng các phương thức chẳng hạn như HPLC pha đảo hoặc điện di. Trong các phương án ví dụ, p bằng 2, 3, 4, 5, 6, 7, hoặc 8 hoặc phân số của chúng.

Cần hiểu rằng sự cải biến hóa học cũng có thể được tạo ra cho hợp chất mong muốn để tạo ra phản ứng của hợp chất đó thuận tiện hơn nhằm mục đích điều chế thể liên hợp theo sáng chế. Ví dụ như nhóm chức ví dụ như, amin, hydroxyl, hoặc sulfhydryl, có thể được gắn vào thuốc tại vị trí mà có tác dụng tối thiểu hoặc chấp nhận được đối với hoạt tính hoặc các tính chất khác của thuốc.

Đơn vị cầu nối

Thông thường, thể liên hợp protein liên kết kháng nguyên-thuốc có chứa đơn vị cầu nối giữa đơn vị thuốc và đơn vị protein liên kết kháng nguyên. Theo một số phương án, cầu nối có thể phân cắt được trong điều kiện nội bào hoặc ngoại bào, sao cho sự phân cắt của cầu nối giải phóng đơn vị thuốc từ protein liên kết kháng nguyên trong môi trường thích hợp. Ví dụ như, khối u rắn mà tiết ra proteaza nhất định có thể đóng vai trò làm đích của cầu nối có thể phân cắt; theo các phương án khác, proteaza này là proteaza nội bào mà được sử dụng. Theo các phương án khác nữa, đơn vị cầu nối không phân cắt được và thuốc được giải phóng, ví dụ như, bởi sự thoái hóa kháng thể trong lysosom.

Theo một số phương án, cầu nối có thể phân cắt được bằng tác nhân phân cắt mà có mặt trong môi trường nội bào (ví dụ như, ở trong lysosom hoặc endosom hoặc túi màng). Phần liên kết có thể là, ví dụ, phần liên kết peptidyl mà được phân cắt bằng enzym peptidaza hoặc proteaza nội bào, bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, proteaza của lysosom hoặc endosom. Theo một số phương án, cầu nối peptidyl dài ít nhất là hai axit amin hoặc dài ít nhất là ba axit amin hoặc hơn.

Tác nhân phân cắt có thể bao gồm, mà không giới hạn, cathepsin B và D và plasmin, tất cả chúng đã biết là dễ thủy phân dẫn xuất thuốc dipeptit dẫn đến sự giải phóng của thuốc hoạt tính bên trong tế bào đích (xem tài liệu, ví dụ, Dubowchik and Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83:67-123). Cầu nối peptidyl mà có thể phân cắt được bằng enzym có mặt trong tế bào biểu hiện CD38. Ví dụ như, cầu nối peptidyl mà có thể phân cắt được bằng proteaza phụ thuộc thiol cathepsin-B, mà được biểu hiện mức độ cao ở mô ung thư, có thể được sử dụng (ví dụ như, cầu nối Phe-Leu hoặc Gly-Phe-

Leu-Gly (SEQ ID NO: 181)). Các ví dụ khác về cầu nối này được mô tả, ví dụ như, trong Bằng sáng chế Mỹ số 6,214,345, được kết hợp trong bản mô tả này để tham khảo đến toàn bộ nội dung của nó.

Theo một số phương án, cầu nối peptidyl có thể phân cắt được bằng proteaza nội bào là cầu nối Val-Cit hoặc cầu nối Phe-Lys (xem, ví dụ như, Bằng sáng chế Mỹ số 6,214,345, mà mô tả sự tổng hợp doxorubicin với cầu nối Val-Cit).

Theo các phương án khác, cầu nối có thể phân cắt là nhạy với độ pH, tức là, nhạy cảm đối với sự thủy phân tại các giá trị pH nhất định. Thông thường, cầu nối nhạy với độ pH có thể thủy phân trong điều kiện axit. Ví dụ như, cầu nối không bền trong axit mà có thể thủy phân trong lysosom (ví dụ, hydrazon, semicarbazon, thiosemicarbazon, cis-aconitic amit, orthoeste, axetal, ketal, hoặc dạng tương tự) có thể được sử dụng. (Xem, ví dụ như, các Bằng sáng chế Mỹ số 5,122,368; 5,824,805; và 5,622,929; Dubowchik and Walker, 1999, *Pharm. Therapeutics* 83:67-123; Neville et al., 1989, *Biol. Chem.* 264:14653-14661.) Cầu nối này tương đối ổn định trong điều kiện độ pH trung tính, chẳng hạn như điều kiện trong máu, nhưng không ổn định ở dưới độ pH 5,5 hoặc 5,0, xấp xỉ độ pH của lysosom. Theo các phương án nhất định, cầu nối có thể thủy phân là cầu nối thioete (chẳng hạn như, ví dụ như, thioete gắn vào tác nhân trị liệu thông qua liên kết axylhydrazon (xem, ví dụ như, Bằng sáng chế Mỹ số 5,622,929)).

Theo các phương án khác nữa, cầu nối có thể phân cắt được trong điều kiện khử (ví dụ, cầu nối disulfua). Nhiều loại cầu nối disulfua là đã biết trong lĩnh vực, bao gồm, ví dụ như, các cầu nối mà có thể được tạo thành bằng cách sử dụng SATA (N-succinimidyl-5-axetylthioaxetat), SPDP (N-succinimidyl-3-(2-pyridyldithio)propionat), SPDB (N-succinimidyl-3-(2-pyridyldithio)butyrat) và SMPT (N-succinimidyl-oxycarbonyl-alpha-metyl-alpha-(2-pyridyl-dithio)toluen)-, và SPDB và SMPT. Xem, ví dụ như, Thorpe et al., 1987, *Cancer Res.* 47:5924-5931; Wawrzynczak et al., In *Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimager and Therapy of Cancer* (C. W. Vogel ed., Oxford U. Press, 1987). Cũng xem Bằng sáng chế Mỹ số 4,880,935.

Theo các phương án khác, cầu nối là cầu nối malonat (Johnson et al., 1995, *Anticancer Res.* 15:1387-93), cầu nối maleimidobenzoyl (Lau et al., 1995, *Bioorg-Med-*

Chem. 3(10):1299-1304), hoặc chất tương tự 3'-N-amit (Lau et al., 1995, Bioorg-Med-Chem. 3(10):1305-12).

Theo các phương án khác nữa, đơn vị cầu nối không phân cắt được và thuốc được giải phóng bởi sự thoái hóa kháng thể. Xem, ví dụ như, Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2005/0238649 được kết hợp để tham khảo trong bản mô tả này đến toàn bộ nội dung của nó.

Theo nhiều phương án, cầu nối là cầu nối tự diệt. Như dùng trong bản mô tả này, thuật ngữ "đoạn đệm tự diệt" dùng để chỉ gốc hóa học hai chức mà có khả năng liên kết cộng hóa trị hai gốc hóa học cách quãng với nhau thành phân tử ba thành phần ổn định. Nó sẽ tự động tách ra khỏi gốc hóa học thứ hai nếu sự liên kết của nó với gốc thứ nhất bị phân cắt. Xem, ví dụ như, Công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 2007059404A2, WO06110476A2, WO05112919A2, WO2010/062171, WO09/017394, WO07/089149, WO 07/018431, WO04/043493, và WO02/083180, mà đề cập đến thể liên hợp thuốc-cơ chất có thể phân cắt được trong đó thuốc và cơ chất có thể phân cắt được tùy ý được liên kết thông qua cầu nối tự diệt và tất cả được kết hợp rõ ràng để tham khảo.

Thông thường cầu nối về cơ bản không nhạy đối với môi trường ngoại bào, tức là, không nhiều hơn khoảng 20%, 15%, 10%, 5%, 3%, hoặc không nhiều hơn khoảng 1% của cầu nối, trong mẫu của thể liên hợp protein liên kết kháng nguyên-thuốc, được phân cắt khi thể liên hợp protein liên kết kháng nguyên-thuốc có mặt trong môi trường ngoại bào (ví dụ như, trong huyết tương). Liệu cầu nối về cơ bản không nhạy đối với môi trường ngoại bào có thể được xác định hay không, ví dụ như, bằng cách ủ với huyết tương hợp chất thể liên hợp protein liên kết kháng nguyên-thuốc trong khoảng thời gian định trước (ví dụ như, 2, 4, 8, 16, hoặc 24 giờ) và sau đó định lượng hàm lượng của thuốc tự do có mặt trong huyết tương.

Theo các phương án không loại trừ lẫn nhau khác, cầu nối thúc đẩy sự nội tại hóa tế bào. Theo các phương án nhất định, cầu nối thúc đẩy sự nội tại hóa tế bào khi liên hợp với tác nhân trị liệu (tức là, trong trường hợp của gốc cầu nối-tác nhân trị liệu của ADC như được mô tả trong bản mô tả này). Theo các phương án khác nữa, cầu nối thúc đẩy sự nội tại hóa tế bào khi liên hợp với cả hợp chất auristatin và protein liên kết kháng nguyên theo sáng chế.

Nhiều câu nổi ví dụ mà có thể được sử dụng với hợp phần và phương pháp này được mô tả trong Công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 2004-010957 và Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2006/0074008, 20050238649, và 2006/0024317 (mỗi tài liệu này được kết hợp để tham khảo trong bản mô tả này đến toàn bộ nội dung của nó).

Cần hiểu rõ rằng các liệu pháp được mô tả ở trên có thể được dùng riêng rẽ, tức là, không liên hợp với protein liên kết kháng nguyên, theo các phương án khác nhau.

Tải lượng thuốc

Tải lượng thuốc được thể hiện bằng p là số lượng trung bình của gốc thuốc cho mỗi protein liên kết kháng nguyên trong phân tử. Tải lượng thuốc (" p ") có thể là 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 hoặc nhiều gốc (D) hơn cho mỗi protein liên kết kháng nguyên, mặc dù thông thường số lượng trung bình là phân số hoặc số thập phân. Nhìn chung, tải lượng thuốc nằm trong khoảng từ 1 đến 4 thường hữu dụng, và từ 1 đến 2 cũng hữu dụng. ADC theo sáng chế bao gồm tập hợp của các protein liên kết kháng nguyên liên hợp với khoảng giá trị của gốc thuốc, từ 1 đến 20. Số lượng trung bình của gốc thuốc cho mỗi protein liên kết kháng nguyên trong các chế phẩm ADC từ phản ứng liên hợp có thể được xác định bằng các phương thức thông thường chẳng hạn như đo phổ khối và, thử nghiệm ELISA.

Sự phân bố định lượng của ADC đối với p cũng có thể được xác định. Trong một số trường hợp, sự tách, tinh chế, và sự xác định đặc điểm của ADC đồng nhất trong đó p là giá trị nhất định từ ADC với các tải lượng thuốc khác có thể đạt được bằng các phương thức chẳng hạn như điện di.

Đối với một số ADC, p có thể bị giới hạn bởi số lượng của vị trí gắn trên protein liên kết kháng nguyên. Ví dụ như, khi sự gắn là nhóm thiol xystein, như trong các phương án ví dụ nêu trên, protein liên kết kháng nguyên có thể chỉ có một hoặc một vài nhóm thiol xystein, hoặc có thể chỉ có một hoặc một vài nhóm thiol có đủ khả năng phản ứng mà câu nổi có thể được gắn qua đó. Theo các phương án nhất định, tải lượng thuốc cao hơn, ví dụ như $p > 5$, có thể gây ra sự kết tụ, sự không tan, sự gây độc, hoặc sự mất tính thẩm tế bào của các thể liên hợp thuốc kháng thể nhất định. Theo các phương án nhất định, tải lượng thuốc đối với ADC theo sáng chế nằm trong khoảng từ 1 đến khoảng 8; từ khoảng 2 đến khoảng 6; từ khoảng 3 đến khoảng 5; từ khoảng 3 đến khoảng 4; từ khoảng 3,1 đến khoảng 3,9; từ khoảng 3,2 đến khoảng 3,8; từ khoảng 3,2 đến khoảng

3,7; từ khoảng 3,2 đến khoảng 3,6; từ khoảng 3,3 đến khoảng 3,8; hoặc từ khoảng 3,3 đến khoảng 3,7. Thực vậy, đã chứng minh được rằng đối với các ADC nhất định, tỉ lệ tối ưu của gốc thuốc cho mỗi protein liên kết kháng nguyên có thể nhỏ hơn 8, và có thể nằm trong khoảng từ khoảng 2 đến khoảng 5. Xem Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2005/0238649 A1 (được kết hợp ở đây để tham khảo đến toàn bộ nội dung của nó).

Theo các phương án nhất định, ít hơn số lượng lớn nhất theo lý thuyết của gốc thuốc được liên hợp với protein liên kết kháng nguyên trong phản ứng liên hợp. Protein liên kết kháng nguyên có thể chứa, ví dụ như, gốc lysin mà không phản ứng với hợp chất trung gian thuốc-cầu nối hoặc chất phản ứng cầu nối, như được thảo luận dưới đây. Nhìn chung, kháng thể không chứa nhiều nhóm thiol xystein tự do và phản ứng mà có thể được liên kết với gốc thuốc; thực vậy hầu hết gốc thiol xystein trong kháng thể tồn tại dưới dạng cầu disulfua. Theo các phương án nhất định, kháng thể có thể được khử bằng tác nhân khử chẳng hạn như dithiothreitol (DTT) hoặc tricarbonyl-ethylphosphin (TCEP), trong điều kiện khử một phần hoặc toàn bộ, để tạo ra các nhóm thiol xystein phản ứng. Theo các phương án nhất định, kháng thể được đưa vào điều kiện biến tính để làm lộ ra nhóm ưa nhân có khả năng phản ứng chẳng hạn như lysin hoặc xystein.

Tải lượng (tỉ lệ thuốc/protein liên kết kháng nguyên) của ADC có thể được kiểm soát theo nhiều cách, ví dụ như, bằng cách: (i) giới hạn lượng mol dư của hợp chất trung gian thuốc-cầu nối hoặc chất phản ứng cầu nối tương quan với kháng thể, (ii) giới hạn thời gian hoặc nhiệt độ của phản ứng liên hợp, (iii) chỉ có một phần hoặc giới hạn điều kiện khử đối với sự cải biến xystein thiol, (iv) thiết kế bằng kỹ thuật tái tổ hợp trình tự axit amin của protein liên kết kháng nguyên sao cho số lượng và vị trí của gốc xystein được cải biến để kiểm soát số lượng và/vị trí của sự gắn cầu nối-thuốc (chẳng hạn như thioMab hoặc thioFab được điều chế như được bộc lộ trong, ví dụ như, Công bố đơn sáng chế quốc tế số WO2006/034488 (được kết hợp ở đây để tham khảo đến toàn bộ nội dung của nó)).

Cần hiểu rằng khi nhiều hơn một nhóm ưa nhân phản ứng với hợp chất trung gian thuốc-cầu nối hoặc chất phản ứng cầu nối sau đó là chất phản ứng gốc thuốc, thì sản phẩm thu được là hỗn hợp của hợp chất ADC với sự phân bố của một hoặc nhiều gốc thuốc gắn vào protein liên kết kháng nguyên. Số lượng trung bình của thuốc cho mỗi protein liên kết kháng nguyên có thể được tính từ hỗn hợp bằng thử nghiệm kháng thể ELISA kép, mà đặc hiệu đối với protein liên kết kháng nguyên và đặc hiệu đối với thuốc.

Các phân tử ADC riêng lẻ có thể được xác định trong hỗn hợp bằng cách đo phổ khối và được tách bằng HPLC, ví dụ như, sắc ký tương tác kỵ nước.

Theo một số phương án, ADC đồng nhất với giá trị tải lượng đơn lẻ có thể được phân lập từ hỗn hợp liên hợp bằng điện di hoặc sắc ký.

Hợp phần

Các chế phẩm để sử dụng theo sáng chế được bào chế để lưu trữ bằng cách trộn protein liên kết kháng nguyên có độ tinh sạch mong muốn với chất mang, tá dược hoặc chất làm ổn định được dụng tùy ý (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. [1980]), ở dạng chế phẩm khô lạnh hoặc dung dịch trong nước. Hợp phần theo sáng chế tốt hơn là tiệt trùng. Chất mang, tá dược, hoặc chất làm ổn định chấp nhận được không độc đối với người nhận ở liều lượng và nồng độ được sử dụng, và bao gồm chất đệm chẳng hạn như phosphat, xitrat, và các axit hữu cơ khác; chất chống oxy hóa bao gồm axit ascorbic và methionin; chất bảo quản (chẳng hạn như octadecylđimethylbenzyl amoni clorua; hexameton clorua; benzalkoni clorua, benzethoni clorua; rượu phenol, butyl hoặc benzyl; alkyl paraben chẳng hạn như metyl hoặc propyl paraben; catechol; resorcinol; xyclohexanol; 3-pentanol; và m-cresol); polypeptit có khối lượng phân tử thấp (nhỏ hơn khoảng 10 gốc); protein, chẳng hạn như albumin huyết thanh, gelatin, hoặc globulin miễn dịch; polyme ưa nước chẳng hạn như polyvinylpyrrolidon; các axit amin chẳng hạn như glyxin, glutamin, asparagin, histidin, arginin, hoặc lysin; monosacarit, disacarit, và các hydrat cacbon khác bao gồm glucoza, manosa, hoặc dextrin; chất tạo chelat chẳng hạn như EDTA; đường chẳng hạn như sucroza, manitol, trehaloza hoặc sorbitol; đôi ion tạo muối chẳng hạn như natri; phức hợp kim loại (ví dụ như, phức hợp Zn-protein); và/hoặc chất hoạt động bề mặt không ion chẳng hạn như TWEEN™, PLURONICS™ hoặc polyetylen glycol (PEG).

Chế phẩm cũng có thể chứa nhiều hơn một hoạt chất khi cần thiết cho chỉ định cụ thể cần điều trị, tốt hơn là hoạt chất có hoạt tính bổ sung mà không ảnh hưởng bất lợi đến nhau. Ví dụ như, có thể mong muốn tạo ra protein liên kết kháng nguyên với các tính đặc hiệu khác. Theo cách khác, hoặc ngoài ra, hợp phần có thể có chứa chất gây độc tế bào, xytokin, chất ức chế sinh trưởng và/hoặc chất đối kháng phân tử nhỏ, chẳng hạn như thuốc bất kỳ được đề cập trong bản mô tả này. Các phân tử này có mặt một cách thích hợp ở dạng kết hợp ở lượng hữu hiệu cho mục đích dự định.

Thành phần hoạt tính cũng có thể được bẫy trong viên vi nang được bào chế, ví dụ, bằng kỹ thuật tụ giọt hoặc bằng cách polyme hóa mặt phân cách, ví dụ, hydroxymethylxenluloza hoặc viên vi nang gelatin và viên vi nang poly-(methylmetaxylat), lần lượt, trong hệ phân phối thuốc dạng keo (ví dụ, liposom, vi cầu albumin, vi nhũ tương, hạt nano và viên nang nano) hoặc trong đại nhũ tương. Các kỹ thuật này được bộc lộ trong tài liệu Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980).

Chế phẩm giải phóng kéo dài có thể được bào chế. Ví dụ thích hợp về chế phẩm giải phóng kéo dài bao gồm nền bán thấm của polyme kỵ nước rắn chứa protein liên kết kháng nguyên, mà nền này ở dạng vật phẩm tạo hình, ví dụ như, màng hoặc viên vi nang. Ví dụ về nền giải phóng kéo dài bao gồm polyeste, hydrogel (ví dụ, poly(2-hydroxyethyl-metacrylat), hoặc poly(vinylalcohol)), polylactit (Bằng sáng chế Mỹ số 3,773,919), copolyme của axit L-glutamic và γ -etyl-L-glutamat, etylen-vinyl axetat không phân hủy được, copolyme của axit lactic-axit glycolic phân hủy được chẳng hạn như LUPRON DEPOT™ (vi cầu tiêm được bao gồm copolyme của axit lactic-axit glycolic và leuprolit axetat), và axit poly-D-(-)-3-hydroxybutyric. Mặc dù các polyme chẳng hạn như etylen-vinyl axetat và axit lactic-axit glycolic có thể giải phóng phân tử trong hơn 100 ngày, các hydrogel nhất định giải phóng protein trong thời gian ngắn hơn.

Khi kháng thể được bao nang vẫn ở trong cơ thể trong thời gian dài, chúng có thể biến tính hoặc kết tụ là kết quả của việc tiếp xúc với hơi ẩm ở nhiệt độ 37°C, dẫn đến mất hoạt tính sinh học và có thể thay đổi khả năng sinh miễn dịch. Chiến lược hợp lý có thể được đặt ra để làm ổn định tùy thuộc vào cơ chế được bao gồm. Ví dụ, nếu cơ chế kết tụ được phát hiện thấy là sự tạo thành liên kết S-S giữa các phân tử thông qua sự trao đổi thio-disulfua, sự làm ổn định có thể đạt được bằng cách cải biến gốc sulfhydryl, làm khô lạnh từ dung dịch axit, kiểm soát hàm lượng hơi ẩm, bằng cách sử dụng chất bổ trợ thích hợp, và phát triển hợp phần nền polyme đặc hiệu.

Cách thức dùng

Protein liên kết kháng nguyên và, tùy ý, đồng trị liệu, chẳng hạn như (các) tác nhân hóa trị liệu hoặc trị liệu kháng thể khác (ví dụ, kháng thể kháng-PD-1) được cho đối tượng dùng theo phương pháp chấp nhận được về mặt lâm sàng, chẳng hạn như đường trong tĩnh mạch, trong cơ, trong màng bụng, dưới da, trong khớp, trong thương

tổn, trong hoạt dịch, nội tủy mạc, qua đường miệng, tại chỗ, trong khối u, thông qua mạch bạch huyết hướng tâm, hoặc xông. Việc dùng trong tĩnh mạch hoặc dưới da của protein liên kết kháng nguyên được ưu tiên. Tiêm liều bolus và truyền liên tục được dự tính, khi cục bộ hóa việc dùng, ví dụ như, tại vị trí bị bệnh hoặc tổn thương. Việc sử dụng protein liên kết kháng nguyên (tùy ý với tác nhân trị liệu khác) trong quy trình *ex vivo* cũng được dự tính. Ví dụ như, máu hoặc dịch cơ thể khác của bệnh nhân có thể được cho tiếp xúc với protein liên kết kháng nguyên *ex vivo*, và tùy ý được dùng. Protein liên kết kháng nguyên có thể được liên kết với chất nền không tan hoặc nguyên liệu đỡ rắn thích hợp.

Phương pháp sử dụng

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị đối tượng cần chúng, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng dùng protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể hoặc kháng thể đime khác loại) được mô tả trong bản mô tả này. Theo các phương án khác nhau, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư (chẳng hạn như bệnh ung thư tuyến tiền liệt hoặc ung thư mô liên kết Ewing) ở đối tượng cần chúng, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng dùng protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể hoặc kháng thể đime khác loại) được mô tả trong bản mô tả này. Sáng chế còn đề xuất việc sử dụng protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể hoặc kháng thể đime khác loại) theo sáng chế để điều trị đối tượng cần chúng, chẳng hạn như sử dụng để điều trị bệnh ung thư (ví dụ như, bệnh ung thư tuyến tiền liệt hoặc ung thư mô liên kết Ewing) ở đối tượng. Bệnh ung thư tốt hơn là bệnh ung thư liên quan đến sự biểu hiện tăng của STEAP1 (ví dụ như, lớn hơn 10.000 STEAP1/tế bào). Các ví dụ về bệnh ung thư bao gồm, nhưng không giới hạn ở, bệnh ung thư của tuyến tiền liệt, vú, tụy, bàng quang, đường dạ dày-ruột, tinh hoàn, buồng trứng, cổ tử cung, cũng như là ung thư mô liên kết (ung thư mô liên kết Ewing) và u melanin.

Phương pháp điều trị đối tượng được mô tả trong bản mô tả này được dự định để tạo ra sự cải thiện ở bệnh hoặc tình trạng bệnh, và/hoặc sự cải thiện ở triệu chứng liên quan đến bệnh hoặc tình trạng bệnh. Ví dụ, đáp ứng trị liệu dùng để chỉ một hoặc nhiều cải thiện dưới đây ở bệnh: (1) sự giảm số lượng tế bào khối u; (2) sự tăng lên của sự chết tế bào khối u; (3) sự ức chế của sự sống sót tế bào khối u; (5) sự ức chế (tức là, làm chậm đến mức độ nào đó, tốt hơn là làm ngừng) sự phát triển khối u hoặc sự xuất hiện của tổn thương mới; (6) tỉ lệ sống sót của bệnh nhân tăng lên; và/hoặc (7) giảm bớt một

hoặc nhiều triệu chứng liên quan đến bệnh hoặc tình trạng bệnh (ví dụ như, trong trường hợp của bệnh ung thư tuyến tiền liệt, đi tiểu thường xuyên, tiểu đêm, tiểu ra máu, chứng khó bài niệu, hoặc đau xương; trong trường hợp của ung thư mô liên kết Ewing, đau, sưng, hoặc nhạy cảm ở khu vực bị ảnh hưởng).

Đáp ứng trị liệu ở bệnh hoặc tình trạng bệnh nhất định bất kỳ có thể được xác định bằng tiêu chuẩn đáp ứng chuẩn hóa đặc hiệu đối với bệnh hoặc tình trạng bệnh đó. Đáp ứng khối u có thể được đánh giá bằng cách sử dụng các kỹ thuật sàng lọc chẳng hạn như quét chụp ảnh cộng hưởng từ (MRI), chụp ảnh X quang, quét xạ hình vi tính (CT), quét xạ hình cắt lớp positron (PET), quét xương, siêu âm, lấy mẫu sinh thiết khối u, đếm tế bào khối u trong hệ tuần hoàn, và/hoặc đo kháng nguyên khối u (ví dụ như, kháng nguyên đặc hiệu tuyến tiền liệt (PSA) và/hoặc alphafetoprotein (AFP)). Ngoài các đáp ứng trị liệu này, đối tượng trải qua liệu pháp có thể trải qua tác dụng có lợi của sự cải thiện của triệu chứng liên quan đến bệnh.

Đối tượng là động vật có vú, tốt hơn là người, tùy ý là nam giới. Trong trường hợp của bệnh ung thư, đối tượng có thể được chẩn đoán ở giai đoạn bất kỳ của bệnh (tức là, bệnh ung thư tuyến tiền liệt giai đoạn I, giai đoạn II, giai đoạn III, hoặc giai đoạn IV), hoặc có thể có nguy cơ phát triển bệnh ung thư mà chưa được xác nhận về mặt lâm sàng.

Đối với bệnh ung thư tuyến tiền liệt, đối tượng có thể trải qua sự giảm đi của triệu chứng liên quan đến bệnh ung thư tuyến tiền liệt (chẳng hạn như các triệu chứng được mô tả trong bản mô tả này), sự giảm đi của kích thước khối u, sự giảm đi của hàm lượng chỉ thị ung thư tuyến tiền liệt, sự giảm đi của tốc độ xuất hiện của tổn thương mới, và dạng tương tự. Theo các khía cạnh khác nhau, phương pháp theo sáng chế còn bao gồm bước theo dõi việc điều trị ở đối tượng. Sự cải thiện bất kỳ trong tình trạng sức khỏe của đối tượng được dự tính (ví dụ như, sự không có mặt của bệnh có thể phát hiện được về mặt lâm sàng, sự giảm đi bất kỳ (chẳng hạn như sự giảm đi ít nhất là khoảng 50%) ở gánh nặng khối u có thể đo được (tức là, số lượng của tế bào ác tính có mặt ở đối tượng hoặc khối được đo của khối lượng khối u) trong sự không có mặt của các tổn thương mới, sự giảm đi của chứng đau, sự cải thiện của sự tiểu tiện).

Việc điều trị theo sáng chế bao gồm "lượng hữu hiệu để điều trị" của thuốc được sử dụng. "Lượng hữu hiệu để điều trị" dùng để chỉ lượng hữu hiệu, ở liều lượng và trong khoảng thời gian cần thiết, để đạt được kết quả trị liệu mong muốn. Lượng hữu hiệu để

điều trị có thể thay đổi theo các yếu tố chẳng hạn như trạng thái bệnh, tuổi, giới tính, và khối lượng của cá thể, và khả năng của thuốc để gây ra đáp ứng mong muốn ở cá thể. Lượng hữu hiệu để điều trị còn là lượng trong đó tác dụng gây độc hoặc bất lợi bất kỳ bị vượt qua bởi các hiệu quả điều trị có lợi. "Lượng hữu hiệu để điều trị" đối với liệu pháp khối u cũng có thể được đo bởi khả năng của nó để làm ổn định sự tiến triển của bệnh. Khoảng giá trị không làm giới hạn sáng chế, để làm ví dụ đối với lượng hữu hiệu để điều trị của protein liên kết kháng nguyên của sáng chế là khoảng 0,1-100 mg/kg. Hợp phần dùng ngoài đường tiêu hóa có thể được tạo chế phẩm ở dạng đơn vị liều lượng để dễ sử dụng và có được tính đồng đều của liều lượng. Dạng đơn vị liều lượng như được dùng trong bản mô tả này dùng để chỉ các đơn vị riêng rẽ về mặt vật lý thích hợp làm liều lượng đơn vị cho đối tượng cần điều trị; mỗi đơn vị chứa lượng định trước của chất trị liệu được tính để tạo ra tác dụng sinh học mong muốn khi kết hợp với chất mang được cần thiết.

Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể đơn đặc hiệu hoặc kháng thể dime khác loại) được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân trị liệu bổ sung, ví dụ như, tác nhân hóa trị liệu hoặc tác nhân trị liệu miễn dịch. (Các) tác nhân trị liệu bổ sung có thể được dùng nối tiếp (trong khoảng cách phút, giờ, ngày, hoặc tuần so với nhau) hoặc song song; chúng cũng có thể được dùng cho bệnh nhân trong hợp phần đơn lẻ đã trộn sẵn.

Ví dụ không làm giới hạn sáng chế về tác nhân hóa trị liệu làm hư hỏng ADN bao gồm chất ức chế topoisomeraza I (ví dụ, irinotecan, topotecan, camptothecin và chất tương tự hoặc chất chuyển hóa của chúng, và doxorubicin); chất ức chế topoisomeraza II (ví dụ, etoposid, teniposid, và daunorubicin); chất alkyl hóa (ví dụ, melphalan, chlorambucil, busulfan, thiopeta, ifosfamid, carmustin, lomustin, semustin, streptozoxin, decarbazin, methotrexat, mitomycin C, và cyclophosphamid); chất xen giữa ADN (ví dụ, cisplatin, oxaliplatin, epirubicin, và carboplatin); chất xen giữa ADN và chất tạo gốc tự do chẳng hạn như bleomycin; và giả nucleosid (ví dụ, 5-fluoraxin, capecitabin, gemcitabin, fludarabin, cytarabin, mercaptopurin, thioguanin, pentostatin, và hydroxyure).

Tác nhân hóa trị liệu mà phá vỡ sự sao chép tế bào bao gồm, nhưng không giới hạn ở, paclitaxel, docetaxel, và chất tương tự liên quan; cabazitaxel, vincristin, vinblastin, và chất tương tự liên quan; thalidomit, lenalidomit, và chất tương tự liên quan (ví dụ,

CC-5013 và CC-4047); chất ức chế protein tyrosin kinaza (ví dụ, imatinib mesylat và gefitinib); chất ức chế proteasom (ví dụ, bortezomib); chất ức chế NF- κ B, bao gồm chất ức chế I κ B kinaza; kháng thể mà liên kết với protein được biểu hiện quá mức ở bệnh ung thư và bằng cách đó điều hòa giảm sự sao chép tế bào (ví dụ, trastuzumab, rituximab, cetuximab, và bevacizumab); và chất ức chế khác của protein hoặc enzym đã biết là cần được điều hòa tăng, được biểu hiện quá mức hoặc được kích hoạt ở bệnh ung thư, sự ức chế của chúng làm điều hòa giảm sự sao chép tế bào.

Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể đơn đặc hiệu hoặc kháng thể đime khác loại) theo sáng chế có thể được sử dụng trước, đồng thời với, hoặc sau khi điều trị bằng docetaxol. Theo các khía cạnh khác nhau, protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể đơn đặc hiệu hoặc kháng thể đime khác loại) được dùng dưới dạng một phần của kế hoạch điều trị mà bao gồm phẫu thuật và/hoặc xạ trị (ví dụ như, chùm tia ngoài hoặc xạ trị áp sát).

Theo các khía cạnh khác nhau, protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể đơn đặc hiệu hoặc kháng thể đime khác loại) được cung cấp dưới dạng một phần của kế hoạch điều trị mà còn bao gồm việc dùng liệu pháp hormon (ví dụ như, liệu pháp giảm lượng androgen, chẳng hạn như các tác nhân mà phong bế sự giải phóng hoặc sự sản xuất của hormon làm giải phóng hormon tạo thể vàng (ví dụ như, leuprolit, goserelin, triptorelin, hoặc degarelix), kháng-androgen (ví dụ như, bicalutamit, flutamit, hoặc nilutamit), ketoconazol, abirateron axetat, enzalutamit)),

Theo các khía cạnh khác nhau, protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể đơn đặc hiệu hoặc kháng thể đime khác loại) được cung cấp dưới dạng một phần của kế hoạch điều trị mà còn bao gồm việc dùng trị liệu miễn dịch khác (ví dụ như, sipuleucel-T, bevacizumab, atezolizumab, avelumab, ipilimumab, tremelimumab, AM-224, MDX-1105, eftilagimod alpha (IMP321), hoặc enoblituzumab (MGA271)). Đối với vấn đề này, phương pháp này tùy ý có chứa việc dùng protein liên kết kháng nguyên khác mà nhắm đích kháng nguyên khác, chẳng hạn như kháng nguyên liên quan đến bệnh ung thư hoặc kháng nguyên liên quan đến đáp ứng miễn dịch. Ví dụ như, theo các phương án khác nhau, protein liên kết kháng nguyên kháng-STEAP1 được dùng cho đối tượng bên cạnh protein liên kết kháng nguyên nhắm đích PD-1 (ví dụ như, kháng thể) mà làm giảm, phong bế, ức chế, loại bỏ, hoặc cản trở sự truyền tín hiệu bắt nguồn từ sự tương tác của PD-1 với một hoặc nhiều đối tác liên kết của nó, chẳng hạn như PD-L1

hoặc PD-L2. Theo khía cạnh cụ thể, protein liên kết kháng nguyên PD-1 ức chế sự liên kết của PD-1 với PD-L1 và/hoặc PD-L2. Theo một phương án, protein liên kết kháng nguyên PD-1 làm giảm tín hiệu đồng kích thích âm tính qua trung gian hoặc thông qua protein bề mặt tế bào được biểu hiện trên tế bào lympho T qua trung gian việc truyền tín hiệu thông qua PD-1 nhờ vậy làm cho tế bào T loạn chức năng ít loạn chức năng hơn (ví dụ như, tăng cường đáp ứng tác động đối với sự nhận diện kháng nguyên). Các ví dụ về kháng thể kháng-PD-1 bao gồm nivolumab (BMS-936558), pembrolizumab (MK-3475), BMS 936558, BMS- 936559, TSR-042 (Tesaro), ePDR001 (Novartis), và pidilizumab (CT-011). Mặc dù sáng chế đề cập đến protein liên kết kháng nguyên PD-1, sáng chế cũng dự tính việc sử dụng chất đối kháng liên kết PD-1 khác mà làm giảm, phong bế, ức chế, loại bỏ, hoặc cản trở sự truyền tín hiệu bắt nguồn từ sự tương tác của PD-1 với một hoặc nhiều đối tác liên kết của nó, chẳng hạn như PD-L1 hoặc PD-L2.

Sáng chế được đề xuất trong bản mô tả này đối với protein liên kết kháng nguyên kháng-STEAP1 cũng áp dụng cho protein liên kết kháng nguyên kháng-PD-1. Ví dụ như, trong các trường hợp khác nhau, protein liên kết kháng nguyên kháng-PD-1 là kháng thể, chẳng hạn như IgG đơn dòng. Kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 là hóa trị một hoặc hóa trị hai. Trong các khía cạnh ví dụ, kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 liên kết với PD-1 người, mà có trình tự axit amin SEQ ID NO: 187. Trong các khía cạnh ví dụ, kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 liên kết với PD-1 khỉ cynomolgus, mà có trình tự axit amin SEQ ID NO: 188. Trong các trường hợp ví dụ, kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 liên kết với cả PD-1 người và PD-1 khỉ cynomolgus.

Trong các phương án ví dụ, độ mạnh liên kết của kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 với PD-1 có thể được mô tả theo KD. Trong các khía cạnh ví dụ, Kd của kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 được đề xuất trong bản mô tả này là khoảng 10^{-1} M, khoảng 10^{-2} M, khoảng 10^{-3} M, khoảng 10^{-4} M, khoảng 10^{-5} M, khoảng 10^{-6} M, khoảng 10^{-7} M, khoảng 10^{-8} M, khoảng 10^{-9} M, hoặc nhỏ hơn. Trong các khía cạnh ví dụ, Kd

của kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 được đề xuất trong bản mô tả này là micromol, nanomol, picomol, hoặc femtomol. Trong các khía cạnh ví dụ, Kd của kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 được đề xuất trong bản mô tả này nằm trong khoảng từ khoảng 10^{-4} đến 10^{-6} M, hoặc từ 10^{-7} đến 10^{-9} M, hoặc từ 10^{-10} đến 10^{-12} M, hoặc từ 10^{-13} đến 10^{-15} M. Trong các khía cạnh ví dụ, kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 có ái lực cao đối với PD-1 người, PD-1 khỉ cynomolgus, hoặc cả hai. Trong các khía cạnh ví dụ, kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 có KD đối với PD-1 người nhỏ hơn 100 pM, tùy ý, từ khoảng 1 pM đến khoảng 50 pM. Trong các khía cạnh ví dụ, kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 có KD đối với PD-1 người nằm trong khoảng từ khoảng 1 pM đến khoảng 20 pM hoặc nhỏ hơn khoảng 10 pM. Trong các khía cạnh ví dụ, kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 có KD đối với PD-1 khỉ cynomolgus nhỏ hơn 100 pM, tùy ý, khoảng 1 pM đến khoảng 75 pM. Trong các khía cạnh ví dụ, kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 có KD đối với PD-1 khỉ cynomolgus nằm trong khoảng từ khoảng 1 pM đến khoảng 20 pM hoặc nhỏ hơn 10 pM.

Trong các khía cạnh ví dụ, kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 ức chế ít nhất là 50% của sự tương tác liên kết giữa PD-1 và PD-L1 hoặc PD-L2. Trong các khía cạnh ví dụ, kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 thể hiện sự ức chế ít nhất là khoảng 50%, ít nhất là khoảng 60%, hoặc ít nhất là khoảng 70% của sự tương tác liên kết giữa PD-1 và PD-L1 hoặc PD-L2.

Trong các trường hợp ví dụ, kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 ức chế sự sản xuất qua trung gian PD-1 của IL-2 bằng tế bào T trong phản ứng tế bào lympho hỗn hợp (MLR). Trong các khía cạnh ví dụ, IC₅₀ của kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể

liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 trong MLR nằm trong khoảng từ khoảng 0,1 nM đến khoảng 5 nM. Trong các khía cạnh ví dụ, IC50 của kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 trong MLR nhỏ hơn 2 nM hoặc nhỏ hơn 1 nM. Trong các khía cạnh ví dụ, IC50 của kháng thể kháng-PD-1, mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng, hoặc sản phẩm protein kháng thể kháng-PD-1 trong MLR nằm trong khoảng từ khoảng 0,5 nM đến khoảng 2 nM.

Phương pháp thử nghiệm kháng thể về khả năng để liên kết với PD-1 đã được biết đến trong lĩnh vực và bao gồm thử nghiệm liên kết kháng thể-kháng nguyên thích hợp bất kỳ, chẳng hạn như, ví dụ như, thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA), ELISA, thẩm tách Western, kết tủa miễn dịch, SPR, và thử nghiệm ức chế cạnh tranh (xem, ví dụ như, Janeway et al., nêu trên, và Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2002/0197266, và phần ở trên liên quan đến thử nghiệm cạnh tranh). Các thử nghiệm liên kết khác, ví dụ như, thử nghiệm liên kết cạnh tranh hoặc thử nghiệm cạnh tranh, mà thử nghiệm khả năng của kháng thể để cạnh tranh với kháng thể thứ hai để liên kết với kháng nguyên hoặc với epitop của chúng có thể được sử dụng để thử nghiệm khả năng của kháng thể để liên kết với PD-1. Xem, ví dụ như, Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2014/0178905; Chand et al., *Biologicals* 46: 168-171 (2017); Liu et al., *Anal Biochem* 525: 89-91 (2017); và Goolia et al., *J Vet Diagn Invest* 29(2): 250-253 (2017). Ngoài ra, các phương pháp khác để so sánh hai kháng thể là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật, và bao gồm, ví dụ, cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR). SPR có thể được sử dụng để xác định các hằng số liên kết của kháng thể và kháng thể thứ hai và hai hằng số liên kết có thể được so sánh. Sáng chế dự tính việc sử dụng protein liên kết kháng nguyên kháng-PD1 mà cạnh tranh với, hoặc phong bế chéo, sự liên kết của kháng thể kháng-PD-1 bất kỳ được mô tả trong bản mô tả này với protein PD-1 trong ngữ cảnh của phương pháp được bộc lộ.

Phương pháp đại diện để xác định đặc điểm ái lực liên kết PD-1 người và khỉ cynomolgus như sau. Kháng thể được ủ trong các giếng chứa dịch pha loãng theo dãy 3 lần của thụ thể tái tổ hợp, hòa tan PD-1(1-170)-FLAG-His người hoặc PD-1(1-167)-FLAG-His khỉ cynomolgus. Trong cả hai trường hợp, nồng độ PD-1 cao nhất bằng 30 nM có thể được chọn. Sự kết hợp trong 300 giây và sự phân ly trong 500 giây có thể được sử dụng, vì các thông số này thường tạo ra đủ độ cong cho sự làm khớp động học chính xác. Ái lực liên kết PD-1 người/khỉ cynomolgus có thể được định lượng bằng các

thiết bị ForteBio Octet HTX và RED384. Chất đệm mẫu Octet tiêu chuẩn có thể được sử dụng cho các bước pha loãng mẫu và đường cơ sở liên kết, sự kết hợp, và sự phân ly (ví dụ như, 10 mM Tris, độ pH 7,5, 150 mM NaCl, 1 mM CaCl₂, 0,10 mg.ml BSA, 0,13% (thể tích/thể tích) Triton X-100). Dữ liệu thô ForteBio có thể được xử lý theo phương thức sau đây bằng cách sử dụng phần mềm phân tích dữ liệu thiết bị tiêu chuẩn (v9 và v10): (a) hai đường cong tham chiếu mà có đích được cố định nhưng không tương tác (tức là, chỉ có chất đệm) được tính trung bình và được trừ đi từ các đường cong mẫu còn lại trong cùng một cột; (b) các đường cong kết hợp và phân ly được tách ra và được sắp xếp thẳng hàng với trục Y; (c) sự kết hợp và sự phân ly giữa các bước được sắp xếp thẳng hàng; (d) việc lọc Savitzky-Golay được thực hiện để làm giảm tạp âm tín hiệu và (e) tập hợp thu được của các đường cong kết hợp và phân ly đối với mỗi sự tương tác mẫu-đích được làm khớp tổng thể với mô hình liên kết 1:1 đơn lẻ để xác định các giá trị đo được của hằng số tốc độ kết hợp k_a và hằng số tốc độ phân ly k_d ; hằng số phân ly cân bằng KD được tính dưới dạng tỉ lệ của các hằng số tốc độ phân ly và kết hợp ($= k_d/k_a$).

Trong các trường hợp ví dụ, kháng thể kháng-PD-1 (hoặc mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng hoặc sản phẩm protein kháng thể) có chứa trình tự axit amin vùng xác định tính bổ sung 1 chuỗi nặng (HC) (vhCDR1) nêu trong SEQ ID NO: 189, trình tự axit amin CDR2 HC (vhCDR2) nêu trong SEQ ID NO: 190, trình tự axit amin CDR3 HC (vhCDR3) nêu trong SEQ ID NO: 191, trình tự axit amin CDR1 chuỗi nhẹ (LC) (vlCDR1) nêu trong SEQ ID NO: 192, trình tự axit amin CDR2 LC (vlCDR2) nêu trong SEQ ID NO: 193, và trình tự axit amin CDR3 LC (vlCDR3) nêu trong SEQ ID NO: 194. Trong các phương án ví dụ, kháng thể kháng-PD-1 (hoặc mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng hoặc sản phẩm protein kháng thể) có chứa vùng biến đổi chuỗi nặng (vh) có chứa trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất là 90% (ví dụ như, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc tương đồng 100%) với trình tự axit amin SEQ ID NO: 195 và/hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ (vl) có chứa trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất là 90% (ví dụ như, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc tương đồng 100%) với trình tự axit amin SEQ ID NO: 196. Trong các phương án ví dụ, kháng thể kháng-PD-1 (hoặc mảnh kháng thể liên kết kháng nguyên của chúng hoặc sản phẩm protein kháng thể) có chứa chuỗi nặng có chứa trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất là 90% (ví dụ như, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%,

98%, 99%, hoặc tương đồng 100%) với trình tự axit amin SEQ ID NO: 197 và/hoặc chuỗi nhẹ có chứa trình tự axit amin mà tương đồng ít nhất là 90% (ví dụ như, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, hoặc tương đồng 100%) với trình tự axit amin SEQ ID NO: 198.

Trong các khía cạnh ví dụ, cấu trúc kháng-STEAP1 được mô tả trong bản mô tả này là một phần của phác đồ điều trị mà bao gồm việc dùng xytokin, lymphokin, yếu tố sinh trưởng, hoặc yếu tố tạo máu hữu hiệu trong việc ức chế sự di căn khối u và/hoặc có tác dụng chống tăng sinh trên ít nhất là một quần thể tế bào. Các xytokin, lymphokin, yếu tố sinh trưởng, hoặc các yếu tố tạo huyết này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở: M-CSF, GM-CSF, TNF, IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IFN, TNF α , TNF1, TNF2, G-CSF, Meg-CSF, GM-CSF, thrombopoietin, yếu tố tế bào gốc, và erythropoietin. Các yếu tố sinh trưởng khác bao gồm, ví dụ như, angiogenin, protein tạo hình xương-1, protein tạo hình xương-2, protein tạo hình xương-3, protein tạo hình xương-4, protein tạo hình xương-5, protein tạo hình xương-6, protein tạo hình xương-7, protein tạo hình xương-8, protein tạo hình xương-9, protein tạo hình xương-10, protein tạo hình xương-11, protein tạo hình xương-12, protein tạo hình xương-13, protein tạo hình xương-14, protein tạo hình xương-15, thụ thể protein tạo hình xương IA, thụ thể protein tạo hình xương IB, yếu tố dinh dưỡng thần kinh có nguồn gốc từ não, yếu tố dinh dưỡng thần kinh ở thể mi, thụ thể yếu tố dinh dưỡng thần kinh ở thể mi α , yếu tố hóa hướng động bạch cầu trung tính được cảm ứng bởi xytokin 1, bạch cầu trung tính được cảm ứng bởi xytokin, yếu tố hóa hướng động 2 α , yếu tố hóa hướng động bạch cầu trung tính được cảm ứng bởi xytokin 2 β , yếu tố sinh trưởng tế bào nội mô β , endothelin 1, chất hấp dẫn bạch cầu trung tính có nguồn gốc từ biểu mô, thụ thể yếu tố dinh dưỡng thần kinh có nguồn gốc từ dòng tế bào thần kinh đệm α 1, thụ thể yếu tố dinh dưỡng thần kinh có nguồn gốc từ dòng tế bào thần kinh đệm α 2, protein liên quan đến sinh trưởng, protein liên quan đến sinh trưởng α , protein liên quan đến sinh trưởng β , protein liên quan đến sinh trưởng γ , yếu tố sinh trưởng biểu bì liên kết heparin, yếu tố sinh trưởng tế bào gan, thụ thể yếu tố sinh trưởng tế bào gan, yếu tố sinh trưởng giống insulin I, thụ thể yếu tố sinh trưởng giống insulin, yếu tố sinh trưởng giống insulin II, protein liên kết yếu tố sinh trưởng giống insulin, yếu tố sinh trưởng tế bào keratin, yếu tố ức chế bệnh bạch cầu, thụ thể yếu tố ức chế bệnh bạch cầu α , yếu tố sinh trưởng thần kinh, thụ thể yếu tố sinh trưởng

thần kinh, neurotrophin-3, neurotrophin-4, yếu tố kích thích sinh trưởng tiền tế bào B, yếu tố tế bào gốc, thụ thể yếu tố tế bào gốc, yếu tố sinh trưởng chuyển dạng α , yếu tố sinh trưởng chuyển dạng β , yếu tố sinh trưởng chuyển dạng $\beta 1$, yếu tố sinh trưởng chuyển dạng $\beta 1.2$, yếu tố sinh trưởng chuyển dạng $\beta 2$, yếu tố sinh trưởng chuyển dạng $\beta 3$, yếu tố sinh trưởng chuyển dạng $\beta 5$, yếu tố sinh trưởng chuyển dạng tiềm tàng $\beta 1$, protein liên kết yếu tố sinh trưởng chuyển dạng β I, protein liên kết yếu tố sinh trưởng chuyển dạng β II, protein liên kết yếu tố sinh trưởng chuyển dạng β III, thụ thể yếu tố hoại tử khối u typ I, thụ thể yếu tố hoại tử khối u typ II, thụ thể chất hoạt hóa plasminogen kiểu urokinaza, và protein khảm và mảnh có hoạt tính sinh học hoặc miễn dịch học của chúng. Trong các phương án ví dụ, cấu trúc kháng-STEAP1 được dùng dưới dạng một phần của phác đồ trị liệu gồm việc dùng kháng thể đặc hiệu đối với chất bất kỳ trong số các xytokin, lymphokin, yếu tố sinh trưởng, hoặc yếu tố tạo máu khác nêu trên.

Sáng chế dự tính việc sử dụng protein liên kết kháng nguyên kháng-STEAP1 hoặc kháng thể đime khác loại trong việc điều chế thuốc để điều trị bệnh ung thư ở đối tượng cần chúng. Một cách tùy ý, thuốc này là để dùng lượng hữu hiệu của protein liên kết kháng nguyên kháng-STEAP1 hoặc kháng thể đime khác loại kết hợp với lượng hữu hiệu của protein liên kết kháng nguyên kháng-PD-1 (ví dụ như, protein liên kết kháng nguyên kháng-PD-1 bất kỳ được mô tả trong bản mô tả này).

Sáng chế còn dự tính protein liên kết kháng nguyên kháng-STEAP1 hoặc kháng thể đime khác loại được mô tả trong bản mô tả này để sử dụng trong việc điều trị bệnh ung thư ở đối tượng cần chúng (tức là, trong phương pháp điều trị bệnh ung thư, chẳng hạn như bệnh ung thư tuyến tiền liệt hoặc ung thư mô liên kết Ewing, ở đối tượng cần chúng). Một cách tùy ý, protein liên kết kháng nguyên kháng-STEAP1 hoặc kháng thể đime khác loại được dùng với protein liên kết kháng nguyên kháng-PD1. "Dùng với" có nghĩa là protein liên kết kháng nguyên kháng-STEAP1 hoặc kháng thể đime khác loại là một phần của phác đồ trị liệu mà bao gồm việc dùng protein liên kết kháng nguyên kháng-PD1. Thực vậy, protein liên kết kháng nguyên kháng-STEAP1 (ví dụ như, kháng thể đime khác loại) có thể được sử dụng trước, đồng thời với, hoặc sau khi điều trị bằng protein liên kết kháng nguyên kháng-PD1. Việc dùng protein liên kết kháng nguyên kháng-STEAP1 hoặc kháng thể đime khác loại và protein liên kết kháng nguyên kháng-PD1 không cần phải diễn ra đồng thời, mặc dù sáng chế dự tính các phương án trong đó các thành phần được bao gồm trong cùng một dược phẩm và được dùng cùng nhau. Sáng

chế còn đề xuất phương pháp điều trị trong đó protein liên kết kháng nguyên kháng-STEAP1 hoặc kháng thể đime khác loại và protein liên kết kháng nguyên kháng-PD1 có mặt trong các dược phẩm riêng rẽ mà được dùng song song hoặc được dùng gần như cùng lúc. Protein liên kết kháng nguyên kháng-STEAP1 hoặc kháng thể đime khác loại và protein liên kết kháng nguyên kháng-PD1 có thể được dùng nối tiếp (ví dụ như, trong khoảng cách phút, giờ, ngày, hoặc tuần so với nhau), theo thứ tự bất kỳ. Các phương thức dùng được mô tả ở trên.

Protein liên kết kháng nguyên kháng-STEAP1 được mô tả trong bản mô tả này cũng có thể được sử dụng, ví dụ như, trong các thử nghiệm để phát hiện sự có mặt của STEAP1, *in vitro* hoặc *in vivo*. Protein liên kết kháng nguyên cũng có thể được sử dụng để tinh chế STEAP1 bằng, ví dụ như, sắc ký ái lực miễn dịch.

Axit nucleic, vector, tế bào chủ

Sáng chế còn đề xuất hợp phần axit nucleic mã hóa cho protein liên kết kháng nguyên (ví dụ như, kháng thể đơn đặc hiệu hoặc kháng thể đime khác loại) được mô tả trong bản mô tả này. Các axit nucleic mã hóa cho các thành phần của protein liên kết kháng nguyên theo sáng chế có thể được kết hợp vào vector biểu hiện như đã biết trong lĩnh vực và tùy thuộc vào tế bào chủ dùng để tạo ra protein liên kết kháng nguyên. Các ví dụ về vector biểu hiện bao gồm, nhưng không giới hạn ở, plasmit, vector virus, vector động vật có vú không phải thể bổ sung và vector biểu hiện khác. Thông thường, trình tự axit nucleic mã hóa cho polypeptit mong muốn được liên kết có điều khiển với số lượng bất kỳ của các yếu tố điều hòa (vùng khởi động, điểm mở đầu sao chép, chỉ thị chọn lọc, vị trí liên kết ribosom, tác nhân gây cảm ứng, v.v.). Vector biểu hiện có thể là vector ngoài nhiễm sắc thể hoặc tích hợp.

Axit nucleic và/hoặc vector biểu hiện theo sáng chế tùy ý được đưa vào số lượng bất kỳ của các loại tế bào chủ khác nhau như đã biết rõ trong lĩnh vực, bao gồm tế bào động vật có vú, tế bào vi khuẩn, tế bào nấm men, tế bào côn trùng và/hoặc tế bào nấm, trong đó tế bào động vật có vú (ví dụ tế bào CHO) được dùng trong nhiều phương án. Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất tế bào chủ như vậy mà vector biểu hiện mã hóa cho protein liên kết kháng nguyên đã được đưa vào đó. Các ví dụ về dòng tế bào chủ động vật có vú thích hợp bao gồm dòng COS-7 của tế bào thận khỉ (ATCC CRL 1651) (Gluzman et al., 1981, Cell 23:175), tế bào L, tế bào 293 thận phôi người hoặc dẫn xuất

của chúng (ví dụ như, HEK293T, HEK293-EBNA), tế bào C127, tế bào nguyên bào sợi phôi chuột nhắt (tế bào 3T3) (ATCC CCL 163), tế bào buồng trứng chuột đồng Trung Quốc (CHO) và dẫn xuất của chúng (ví dụ như, CHO-K1, CHO pro-3), tế bào u tủy chuột nhắt (ví dụ như, NS0, GS-NS0, Sp2/0), tế bào ung thư cổ tử cung người (tế bào HeLa), các dòng tế bào của tế bào thận chuột đồng con (BHK) (ATCC CRL 10), tế bào biểu mô ung thư mô liên kết xương người U2-OS, tế bào biểu mô nền phế nang người ung thư biểu mô tuyến (A549), tế bào ung thư mô liên kết sợi người (HT1080), tế bào khối u não chuột (CAD), tế bào ung thư biểu mô phôi (P19), tế bào u nguyên bào thần kinh chuột (N2a), tế bào ung thư vú người (MCF-7), tế bào u nguyên bào võng mạc (Y79), tế bào u nguyên bào võng mạc người (SO-Rb50), tế bào ung thư gan người (Hep G2), tế bào u tủy B chuột nhắt (J558L), và tế bào thận khỉ xanh Châu Phi (ví dụ như, tế bào COS, tế bào VERO và dẫn xuất của chúng (bao gồm dòng tế bào CVI/EBNA có nguồn gốc từ dòng tế bào thận khỉ xanh Châu Phi CVI (ATCC CCL 70) như được mô tả bởi McMahan et al., 1991, EMBO J. 10: 2821)). Tế bào đã biến nạp có thể được nuôi cấy trong điều kiện mà thúc đẩy sự biểu hiện của protein liên kết kháng nguyên, và protein được thu hồi bằng quy trình tinh chế protein thông thường. Một quy trình tinh chế như vậy bao gồm việc sử dụng sắc ký ái lực, ví dụ như, qua chất nền có tất cả hoặc một phần (ví dụ như, một hoặc nhiều vòng ngoại bào) của STEAP1 được liên kết vào đó. Protein liên kết kháng nguyên được dự tính để sử dụng trong bản mô tả này bao gồm protein liên kết kháng nguyên tái tổ hợp về cơ bản đồng nhất về cơ bản không có các vật liệu nội sinh tạp nhiễm.

Đối với kháng thể đime khác loại, theo các khía cạnh khác nhau, hợp phần được cung cấp mà có chứa axit nucleic mã hóa cho monome thứ nhất, axit nucleic mã hóa cho monome thứ hai, và axit nucleic mã hóa cho chuỗi nhẹ chung. Sáng chế còn đề xuất cấu trúc axit nucleic mã hóa cho các phần của monome và chuỗi nhẹ chung, ví dụ như, Fab kháng-STEAP1 hoặc mảnh kháng thể có chứa sáu các CDR được bộc lộ trong bản mô tả này mà liên kết STEAP1, scFv kháng-CD3, miền biến đổi chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng mà liên kết STEAP1 và/hoặc CD3, và dạng tương tự.

Theo một số phương án, các axit nucleic mã hóa cho mỗi monome và, tùy ý, axit nucleic mã hóa cho chuỗi nhẹ chung, mỗi trong số chúng được chứa ở trong vector biểu hiện đơn lẻ, thường là dưới sự kiểm soát của vùng khởi động khác nhau hoặc giống nhau. Theo các phương án khác nhau, mỗi trong số hai hoặc ba axit nucleic này được

chứa trên vector biểu hiện khác. Như được mô tả trong Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2016/0215063 (được kết hợp ở đây để tham khảo đến toàn bộ nội dung của nó và cụ thể là đối với phần thảo luận về sự sản xuất kháng thể tái tổ hợp), các tỉ lệ vector khác nhau có thể được sử dụng để gây ra sự tạo thành đime khác loại. Bất ngờ là, trong trường hợp mà cấu trúc kháng thể có chứa monome thứ nhất:monome thứ hai:chuỗi nhẹ ở tỉ lệ 1:1:2, chúng không nhất thiết phải là tỉ lệ mà mang lại kết quả tốt nhất. Xem Hình 65 của Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2016/0215063, được kết hợp trong bản mô tả này để tham khảo. Theo các khía cạnh khác nhau, sáng chế đề xuất hợp phần axit nucleic có chứa: a) vector biểu hiện thứ nhất có chứa axit nucleic thứ nhất mã hóa cho monome thứ nhất; b) vector biểu hiện thứ hai có chứa axit nucleic thứ hai mã hóa cho monome thứ hai; và c) vector biểu hiện thứ ba có chứa axit nucleic thứ ba mã hóa cho chuỗi nhẹ chung. Theo các phương án thay thế, axit nucleic thứ ba mã hóa cho chuỗi nhẹ chung có mặt trên cùng vector biểu hiện như các axit nucleic thứ nhất hoặc thứ hai.

Kháng thể đime khác loại tùy ý được tạo ra bằng cách nuôi cấy tế bào chủ có chứa (các) vector biểu hiện. Ngay khi được sản xuất, các bước tinh chế kháng thể được thực hiện, thường bao gồm bước sắc ký trao đổi ion. Như thảo luận trong bản mô tả này, có các pI của hai monome khác nhau bằng ít nhất là 0,5 có thể cho phép tách bằng sắc ký trao đổi ion hoặc tập trung đẳng điện, hoặc các phương pháp khác nhạy với điểm đẳng điện. Tức là, sự bao gồm của sự thể pI mà làm thay đổi điểm đẳng điện (pI) của mỗi monome sao cho mỗi monome có pI khác nhau và đime khác loại cũng có pI riêng biệt, do đó tạo điều kiện cho sự tinh chế đẳng điện của đime khác loại (ví dụ, cột trao đổi anion, cột trao đổi cation). Sự thể này cũng hỗ trợ cho sự xác định và kiểm tra đime cùng loại mAb tạp nhiễm bất kỳ sau khi tinh chế (ví dụ, gel IEF, cIEF, và cột IEX phân tích).

Bộ kit

Theo một số phương án, protein liên kết kháng nguyên theo sáng chế được cung cấp trong bộ kit. Trong các khía cạnh ví dụ, bộ kit có chứa protein liên kết kháng nguyên dưới dạng liều đơn vị (tức là, lượng riêng biệt được phân tán trong chất mang thích hợp). Theo các khía cạnh làm ví dụ, kit này chứa một số liều đơn vị, ví dụ, cung cấp một tuần hoặc tháng các liều đơn vị, tùy ý, mỗi liều được bao gói riêng rẽ hoặc theo cách khác được tách biệt với các liều đơn vị khác. Theo một số phương án, các thành phần của kit/liều đơn vị được bao gói với hướng dẫn sử dụng để sử dụng cho bệnh nhân. Theo

một số phương án, bộ kit có chứa một hoặc nhiều dụng cụ để dùng cho bệnh nhân, ví dụ như, kim và dụng cụ phân phối (chẳng hạn như xy lanh), và dạng tương tự. Theo một số khía cạnh, protein liên kết kháng nguyên được đóng gói sẵn ở dạng sẵn sàng để sử dụng, ví dụ như, xy lanh, túi dùng trong tĩnh mạch, v.v., mặc dù cũng dự tính rằng protein liên kết kháng nguyên có thể được cung cấp ở dạng khô lạnh đòi hỏi phải hoàn nguyên. Theo một số khía cạnh, kit này còn chứa chất điều trị hoặc chẩn đoán hoặc chất mang được dụng khác (ví dụ, dung môi, chất đệm, chất pha loãng, v.v.), chứa chất bất kỳ trong số các chất được mô tả ở đây.

Tất cả các tài liệu tham khảo, bao gồm cả các công bố, các đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế, và các bằng độc quyền sáng chế, được trích dẫn ở đây theo cách kết hợp bằng cách viện dẫn đến mức độ như thể mỗi tài liệu tham khảo được nêu một cách riêng biệt và cụ thể là được đưa vào đây bằng cách viện dẫn và được nêu ra toàn bộ trong bản mô tả này.

Các ví dụ sau đây được đưa ra chỉ đơn thuần minh họa sáng chế và không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Ví dụ này mô tả sự phát hiện của STEAP1 tại bề mặt của tế bào ung thư tuyến tiền liệt bằng cách sử dụng kháng thể đơn đặc hiệu như được mô tả ở trên.

Tế bào ung thư tuyến tiền liệt (tế bào C4-2B luc (Hình 11A) hoặc tế bào C4-2B luc^{STEAP1 KO} (Hình 11B)) mà được thiết kế để bị mất sự biểu hiện STEAP1 bằng cách sử dụng cấu trúc CRISPR được định hướng chống lại STEAP1 được ủ với kháng thể đối chứng isotyp hoặc kháng thể đơn dòng chuột nhất kháng-STEAP1 (Ab-Am) ở nồng độ bằng 10 µg/ml trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ 4°C. Ab-Am liên kết tế bào được phát hiện bằng cách đếm tế bào theo dòng sau khi ủ với kháng thể thứ cấp kháng-IgG chuột nhất được liên hợp FITC (Hình 11A) hoặc được liên hợp APC (Hình 11B). Sự phát huỳnh quang FITC hoặc APC, xác định tín hiệu phụ thuộc STEAP1, được dựng đồ thị trong các đường tần suất (đường tần suất màu xám nét liền) và so với đối chứng isotyp (đường tần suất màu trắng). Kết quả được thể hiện trên Hình 11A và Hình 11B.

Ví dụ 2

Ví dụ này mô tả sự xác định đặc điểm của kháng thể kháng-STEAP1.

Bảng của 22 kháng thể đơn dòng chuột nhất kháng-STEAP1 người được tạo ra. Kháng thể A chứng tỏ các tính chất liên kết đếm tế bào theo dòng được cải thiện (sự liên kết mAb bố mẹ LnCAP(+)/DU145(-) độ dịch chuyển FACS (lần)) so với các chất khác được thử nghiệm: Ab-A (60,1), Ab-B (3,6), Ab-C (2,4), và Ab-D (4,3).

Để xác định vùng của STEAP1 được nhận diện bởi kháng thể theo sáng chế, cấu trúc khảm được tạo ra trong đó mỗi trong số ba vòng ngoại bào của STEAP1 được thay thế bằng vùng tương ứng của STEAP2 và được biểu hiện trong tế bào 293. Ab-A liên kết STEAP1 và không liên kết STEAP2. Việc thay thế các vòng ngoại bào 1 và 3 của STEAP1 bằng các vòng tương ứng từ STEAP2 phá hủy sự liên kết, mặc dù sự liên kết Ab-A với STEAP1 không bị phá hủy khi vòng ngoại bào 2 được thay thế bằng đối ứng STEAP2. Ab-A dường như liên kết với STEAP1 bên ngoài vòng ngoại bào 2.

Kháng thể đime khác loại có chứa nhánh liên kết STEAP-1 của Ab-A1, Ab-A2 (N67Q), và Ab-B1 và nhánh liên kết kháng-CD3 được điều chế trong định dạng "XmAb" như được mô tả trong, ví dụ như, Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2016/0215063. Các kháng thể đime khác loại này thể hiện hoạt tính TDCC (pM): Ab-A1x (273,8), Ab-A2x (387,9), và Ab-B1x (128,7).

Ví dụ 3

Ví dụ này so sánh sự liên kết (được xác định đặc điểm bằng EC50) của kháng thể đặc hiệu kép kháng-STEAP1/kháng-CD3 (XmAb) với giá đỡ khác với đime khác loại kháng-STEAP1/kháng-CD3 theo sáng chế (Xmab²⁺¹) vào tế bào C4-2B.

Ba kháng thể kháng-STEAP1 được làm cho giống người (Ab-A1, Ab-A2(N67Q) và Ab-B1) trong định dạng "XmAb" được tạo ra như được mô tả trong, ví dụ như, Công bố đơn sáng chế Mỹ số 2016/0215063 (được kết hợp để tham khảo trong bản mô tả này, cụ thể là đối với phần thảo luận về định dạng "cái mở nắp chai"). Định dạng XmAb kế thừa chuỗi nặng thứ nhất có chứa miền Fc gắn vào scFv kháng-CD3; chuỗi nặng thứ hai có chứa miền Fc và miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất; và chuỗi nhẹ có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ và miền không đổi chuỗi nhẹ. Miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ liên kết với STEAP1. Hai kháng thể kháng-STEAP1 được làm cho giống người được tạo ra trong định dạng XmAb²⁺¹ đime khác loại (Ab-A1 XmAb²⁺¹ và Ab-B1 XmAb²⁺¹). Các trình tự CDR của Ab-A1 XmAb²⁺¹ và Ab-B1 XmAb²⁺¹ được nêu

trong các SEQ ID NO: 11-16 (Ab-A1 XmAb²⁺¹) và các SEQ ID NO: 30-35 (Ab-B1 XmAb²⁺¹). Biến thể của Ab-A1 XmAb²⁺¹ có sự cải biến N67Q, được ký hiệu trong bản mô tả này dưới dạng Ab-A2(N67Q) XmAb²⁺¹ cũng được tạo ra. Các trình tự CDR của Ab-A2(N67Q) XmAb²⁺¹ được nêu trong các SEQ ID NO: 11-13, 14, 16 và 21. Các ký hiệu kháng thể Ab-A2 và Ab-A2(N67Q) XmAb²⁺¹ được sử dụng thay thế lẫn nhau trong bản mô tả này. Khả năng của kháng thể đặc hiệu kép dime khác loại để liên kết với STEAP1 được biểu hiện trên bề mặt của tế bào ung thư tuyến tiền liệt C4-2B được đánh giá, bên cạnh ba kháng thể kháng-STEAP1 chuột nhắt trong định dạng XmAb (Ab-Mx1, Ab-Mx2, và Ab-Mx3) mà không được làm cho giống người.

Tế bào C4-2B-Luc được ủ với nồng độ tăng dần của Ab-A1 XmAb²⁺¹, Ab-A1 Xmab, Ab-B1 Xmab, Ab-Mx1, Ab-Mx2 và Ab-Mx3 lên đến 5 μ M, trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ 4°C. Kháng thể liên kết tế bào được phát hiện bằng cách đếm tế bào theo dòng sau khi ủ với kháng thể thứ cấp kháng-IgG người được liên hợp APC và cường độ phát huỳnh quang trung bình (MFI) của kênh APC tại các nồng độ tăng dần của kháng thể được thử nghiệm tương ứng. Như thể hiện trong Bảng 3, Ab-A1 Xmab²⁺¹ chứng tỏ sự liên kết tế bào mà thấp hơn 65 lần so với EC50 liên kết của cùng chất gắn kết trong định dạng XmAb (tức là, Ab-A1 Xmab), chứng tỏ ái tính rất mạnh vượt quá ái tính của XmAb tương ứng. Định dạng XmAb²⁺¹ cải thiện đáng kể sự liên kết của chất gắn kết Ab-A với STEAP1 được biểu hiện trên tế bào ung thư tuyến tiền liệt.

Bảng 3. EC50 liên kết của XmAb kháng-STEAP và XmAb²⁺¹ kháng-STEAP với tế bào C4-2B

Phân tử kháng thể	EC50 (nM)
Ab-A1 Xmab	144,0
Ab-B1 Xmab	798,1
Ab-Mx1	1226
Ab-Mx2	1252
Ab-Mx3	5005
Ab-A1 XmAb ²⁺¹	2,203

Thí nghiệm này được lặp lại với Ab-A trong các định dạng khác nhau (Ab-A (truyền thống, kháng thể đơn đặc hiệu, không được làm cho giống người), định dạng Ab-A1 XmAb, định dạng Ab-A1 Xmab²⁺¹, và định dạng Ab-A2(N67Q) Xmab²⁺¹ (với sự cải biến N67Q)) và định dạng Ab-B XmAb. Tế bào C4-2B-Luc được ủ với các nồng độ tăng dần của các phân tử XmAb hoặc XmAb²⁺¹ kháng-STEAP1 lên đến 5 μ M, trong

thời gian một giờ ở nhiệt độ 4°C. XmAb liên kết tế bào được phát hiện bằng cách đếm tế bào theo dòng sau khi ủ với kháng thể thứ cấp kháng-IgG người được liên hợp APC và cường độ phát huỳnh quang trung bình (MFI) của kênh APC tại các nồng độ tăng dần của các phân tử XmAb kháng-STEAP1 tương ứng được thể hiện. Kết quả được thể hiện trong các Hình 12A-12C và Hình 13 và Bảng 4 dưới đây.

Bảng 4. EC₅₀ liên kết với tế bào C4-2B luc

Định dạng	Chất gắn kết STEAP1	Các loại chất gắn kết	EC ₅₀ (nM)
mAb	Ab-A	Chuột nhất	1,2
XmAb	Ab-A1 Xmab	Được làm cho giống người	144
XmAb ²⁺¹	Ab-A1 XmAb ²⁺¹	Được làm cho giống người	2,2
XmAb ²⁺¹	AbA2-(N67Q) XmAb ²⁺¹	Được làm cho giống người	1,2
XmAb	Ab-B1 XmAb	Được làm cho giống người	48,9

Các kháng thể đều liên kết STEAP1 bất kể định dạng đime khác loại nào. Định dạng XmAb²⁺¹ chứng tỏ được cải thiện sự liên kết với STEAP1 so với các định dạng kháng thể khác.

Hoạt tính TDCC cũng được đánh giá bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với các phương pháp được mô tả ở trên. Tất cả kháng thể được thử nghiệm thể hiện hoạt tính TDCC, với kháng thể trong XmAb²⁺¹ chứng tỏ hoạt tính tốt hơn so với kháng thể Xmab: Ab-A XmAb (EC₅₀=274 pM, EC₉₀=438 pM), Ab-A1 Xmab (EC₅₀=388 pM, EC₉₀=722 pM), Ab-B1 Xmab (EC₅₀=129 pM, EC₉₀=265 pM), Ab-A1 Xmab²⁺¹ (EC₅₀=6 pM, EC₉₀=11 pM), và Ab-B1 Xmab²⁺¹ (EC₅₀=19 pM, EC₉₀=43 pM).

Ví dụ 5

Ví dụ này xác định đặc điểm sự dung giải của dòng tế bào khối u người C4-2B luc bởi tế bào T người được điều tiết bởi XmAb và XmAb²⁺¹ kháng-STEAP1.

Tế bào ung thư tuyến tiền liệt C4-2B luc được đồng nuôi cấy với tế bào pan-T người ở tỉ lệ tế bào E:T từ 10 đến 1 và các nồng độ tăng dần của định dạng (Hình 14A)

Ab-A1 XmAb, (Hình 14B) Ab-A1 XmAb²⁺¹, hoặc (Hình 14C) Ab-A2(N67Q) XmAb²⁺¹ (với sự thể N67Q) trong thời gian 48 giờ. Sự dung giải tế bào đích được theo dõi bằng phép đo hoạt tính luciferaza và sự gây độc tế bào đặc hiệu được dựng đồ thị tại mỗi nồng độ so với điều kiện đối chứng không có XmAb. Như thể hiện trong các Hình 14A-14C, Ab-A1 Xmab, Ab-A1 XmAb²⁺¹, và Ab-A2(N67Q) XmAb²⁺¹ thành công trong việc điều tiết sự dung giải tế bào đích.

Ví dụ 6

Ví dụ này chứng minh khả năng của kháng thể dime khác loại theo sáng chế để phân biệt giữa tế bào biểu hiện STEAP1 và tế bào không biểu hiện STEAP.

Tế bào ung thư tuyến tiền liệt STEAP1-dương tính C4-2B luc (●) và tế bào STEAP1-âm tính C4-2B luc^{STEAP1 KO} (■) được đồng nuôi cấy với tế bào pan-T người ở tỉ lệ tế bào E:T từ 10 đến 1 và các nồng độ tăng dần của Ab-A1 XmAb²⁺¹ trong thời gian 48 giờ. Sự dung giải tế bào đích được theo dõi bằng phép đo hoạt tính luciferaza, và sự gây độc tế bào đặc hiệu được dựng đồ thị tại mỗi nồng độ so với điều kiện đối chứng (thiếu XmAb). Kết quả được thể hiện trên Hình 15 và Bảng 5 dưới đây. Ab-A1 XmAb²⁺¹ làm trung gian theo cách phụ thuộc liều lượng sự dung giải tế bào đích của dòng tế bào khối u người C4-2B luc, nhưng không có tế bào C4-2B luc được cải biến để bất hoạt sự biểu hiện STEAP1.

Bảng 5. EC₅₀ của sự gây độc tế bào phụ thuộc tế bào T (TDCC) chống lại C4-2B luc và C4-2B luc^{STEAP1KO} với các biến thể XmAb kháng-STEAP1 (Ab-A1 XmAb) và XmAb²⁺¹ (Ab-A1 và Ab-A2(N67Q))

Định dạng	Chất gắn kết STEAP1	Các loại chất gắn kết	Dòng tế bào đích	EC ₅₀ TDCC (pM)
XmAb	Ab-A1	Được làm cho giống người	C4-2B luc	324,9
XmAb ²⁺¹	Ab-A1	Được làm cho giống người		6,3
XmAb ²⁺¹	Ab-A2(N67Q)	Được làm cho giống người		5,4
XmAb ²⁺¹	Ab-A1	Được làm cho giống người	C4-2B luc ^{STEAP1KO}	> 10.000

Ngoài ra, tế bào 293T được chuyển nạp ổn định với STEAP1 người (Hình 16A) hoặc tế bào 293T bố mẹ (Hình 16B) được ủ với kháng thể đối chứng isotyp hoặc kháng thể đơn dòng chuột nhất kháng-STEAP1 Ab-A (Ab-Am; không có định dạng đặc hiệu kép) ở nồng độ bằng 10 µg/ml trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ 4°C. Ab-Am liên kết tế bào được phát hiện bằng cách đếm tế bào theo dòng sau khi ủ với kháng thể thứ cấp kháng-IgG chuột nhất được liên hợp FITC (Hình 16A). Sự phát huỳnh quang FITC, xác định tín hiệu phụ thuộc STEAP1, được dựng đồ thị trong các đường tần suất (các đường tần suất màu xám nét liền) và so với đối chứng isotyp (đường tần suất màu trắng). Như thể hiện trong các Hình 16A và Hình 16B, Ab-Am phát hiện STEAP-1 được biểu hiện ở cả hai quần thể tế bào được thử nghiệm.

Hình 16C minh họa kết quả của việc đồng nuôi cấy tế bào 293T giữ nguyên STEAP1 (●) và tế bào 293T bố mẹ STEAP1-âm tính (■) với tế bào pan-T người ở tỉ lệ tế bào E:T từ 10 đến 1 và các nồng độ tăng dần của Ab-A2(N67Q) XmAb²⁺¹ trong thời gian 48 giờ. Sự dung giải tế bào đích được theo dõi bằng phép đo hoạt tính luciferaza, và sự gây độc tế bào đặc hiệu được dựng đồ thị tại mỗi nồng độ so với điều kiện đối chứng không có XmAb. Kết quả được thể hiện trong các Hình 16A-16C và Bảng 6 dưới đây. Kháng thể dime khác loại kháng-STEAP1/kháng-CD3 làm trung gian chọn lọc sự dung giải tế bào của tế bào biểu hiện STEAP1.

Bảng 6. EC₅₀ của sự gây độc tế bào phụ thuộc tế bào T (TDCC) chống lại tế bào 293T được chuyển nạp ổn định với STEAP1 người và tế bào 293T bố mẹ với Ab-A2-N67Q XmAb²⁺¹

Định dạng phân tử	Chất gắn kết STEAP1	Các loại chất gắn kết	Dòng tế bào đích	EC ₅₀ TDCC (pM)
XmAb ²⁺¹	Ab-A2(N67Q)	Được làm cho giống người	293T / STEAP1	0,1
XmAb ²⁺¹	Ab-A2(N67Q)	Được làm cho giống người	293T / Bố mẹ	> 10.000

Tế bào ung thư tuyến tiền liệt STEAP1-dương tính C4-2B lúc cũng được đồng nuôi cấy với tế bào pan-T người ở tỉ lệ tế bào E:T từ 10 đến 1 và các nồng độ tăng dần của Ab-B1 Xmab (●) hoặc Ab-B1 XmAb²⁺¹ (■) trong thời gian 48 giờ. Như thể hiện

trên Hình 17A, Ab-B1 X_{mAb} và Ab-B1 X_{mAb}²⁺¹ làm trung gian sự dung giải tế bào đích của tế bào ung thư tuyến tiền liệt C4-2B luc.

Tế bào ung thư tuyến tiền liệt C4-2B luc được đồng nuôi cấy với tế bào pan-T người ở tỉ lệ tế bào E:T từ 10 đến 1 và các nồng độ tăng dần của X_{mAb}²⁺¹ Ab-B1-G37A (X_{mAb}²⁺¹ với sự thể G37A) (■), X_{mAb}²⁺¹ Ab-B1-S39A (định dạng X_{mAb}²⁺¹ với sự thể S39A) (▲), hoặc X_{mAb}²⁺¹ Ab-B1-G37A/S39A (định dạng X_{mAb}²⁺¹ với cả hai sự thể G37A và S39A) (▼) trong thời gian 48 giờ. Như thể hiện trên Hình 17B, các biến thể Ab-B1 (tức là, Ab-B1-G37A, Ab-B1-S39A, và Ab-B1-G37A/S39A) làm trung gian sự dung giải tế bào đích của tế bào ung thư tuyến tiền liệt C4-2B luc. Cũng xem Bảng 7 dưới đây. Tương tự, tế bào ung thư STEAP1-âm tính C4-2B luc^{STEAP1 KO} được đồng nuôi cấy với tế bào pan-T người ở tỉ lệ tế bào E:T từ 10 đến 1 và các nồng độ tăng dần của Ab-B1 X_{mAb}²⁺¹ (●), Ab-B1-G37A (■), Ab-B1-S39A (▲), hoặc Ab-B1-G37A/S39A (▼) trong thời gian 48 giờ. Sự dung giải tế bào đích được theo dõi bằng phép đo hoạt tính luciferaza và sự gây độc tế bào đặc hiệu được dựng đồ thị tại mỗi nồng độ so với điều kiện đối chứng không có X_{mAb}. Kết quả được thể hiện trên Hình 17C và Bảng 7 dưới đây. Kháng thể đime khác loại kháng-STEAP1/kháng-CD3 làm trung gian chọn lọc sự dung giải tế bào của tế bào biểu hiện STEAP1, và định dạng X_{mAb}²⁺¹ theo sáng chế tốt hơn các định dạng khác.

Bảng 7. EC₅₀ của sự gây độc tế bào phụ thuộc tế bào T (TDCC) chống lại C4-2B luc và C4-2B luc^{STEAP1 KO} với các biến thể Ab-B1

Định dạng phân tử	Chất gắn kết STEAP1	Dòng tế bào đích	EC ₅₀ TDCC (pM)
X _{mAb}	Ab-B1	C4-2B luc	326,2
X _{mAb} ²⁺¹	Ab-B1		111,9
X _{mAb} ²⁺¹	Ab-B1-G37A		42,5
X _{mAb} ²⁺¹	Ab-B1-S39A		34,9
X _{mAb} ²⁺¹	Ab-B1-G37A/S39A		184,8
X _{mAb} ²⁺¹	Ab-B1	C4-2B luc ^{STEAP1 KO}	>10.000
X _{mAb} ²⁺¹	Ab-B1-G37A		>10.000
X _{mAb} ²⁺¹	Ab-B1-S39A		>10.000
X _{mAb} ²⁺¹	Ab-B1-G37A/S39A		>10.000

Ví dụ 7

Ví dụ này xác định đặc điểm hằng số liên kết cân bằng (K_D) của kháng thể đime khác loại theo sáng chế, Ab-A2(N67Q) XmAb²⁺¹, đối với CD3ε người và khi cynomolgus.

Ái lực Ab-A2(N67Q) XmAb²⁺¹ đối với CD3ε người hoặc khi cynomolgus tái tổ hợp được đo bằng cách sử dụng cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR - Pioneer FE). CD3ε-Fc người và CD3ε-Fc khi cynomolgus tái tổ hợp được cố định trên bề mặt chip CM5 bằng cách sử dụng quy trình ghép nối amin tiêu chuẩn ở ~ 60 RU. Ab-A2(N67Q) XmAb²⁺¹ được phun các nồng độ 100, 33,3, 11,1 và 3,7 nM. Các tốc độ kết hợp và phân ly của sự tương tác Ab-A2(N67Q) XmAb²⁺¹ với phối tử được ghi lại lần lượt trong thời gian 120 giây và 300 giây, như nêu dưới đây trong Bảng 8. Giá trị hằng số phân ly cân bằng (K_D) được tạo ra dưới dạng tỉ lệ của hằng số tốc độ phân ly và hằng số tốc độ kết hợp (k_{off}/k_{on}).

Bảng 8. Các tốc độ kết hợp và phân ly của sự tương tác Ab-A2-N67Q XmAb²⁺ với CD3 người và khi cynomolgus. "a" chỉ ra dữ liệu được tạo ra bằng cách sử dụng BIAcore® và "b" chỉ ra dữ liệu được tạo ra bằng cách sử dụng Octet

Định dạng phân tử	Chất gắn kết STEAP1	Phương pháp đo	K_D đối với CD3ε người (nM)	K_D đối với CD3ε khi cynomolgus (nM)
XmAb ²⁺¹	Ab-A2(N67Q)	SPR	từ 16,3 ^a đến 27,6 ^b	từ 15,1 ^a đến 25,8 ^b

Ví dụ 8

Ví dụ này chứng minh rằng kháng thể đime khác loại theo sáng chế (Ab-A2(N67Q) XmAb²⁺¹) làm trung gian cho sự dung giải của tế bào đích thể hiện khoảng giá trị của mật độ bề mặt STEAP1.

Mật độ STEAP-1 tại bề mặt của các dòng tế bào đích khác nhau (SNU-5, C4-2B, Sk-N-MC, LOX-IMVI, VCaP, IM-95, TYKNU, 22RV-1, HBSCM, HUCCT1, PC3, HCT116 và NCIH1869) được đánh giá. Xem Bảng 9 dưới đây, mà xác định mật độ STEAP1 (số lượng của vị trí liên kết kháng thể STEAP I trong mỗi tế bào) trong cột 3 như đo được bằng cách sử dụng phương pháp Dako Qifikit.

Bảng 9. Mật độ bề mặt STEAP1 và EC50 và EC90 của sự gây độc tế bào phụ thuộc tế bào T (TDCC)

Dòng tế bào	Mô nguồn gốc	STEAP1 (Qifikit)	EC50 (pM)	EC90 (pM)
SNU5	Dạ dày	220.612	6,2	13,7
C4-2B	Tuyến tiền liệt	150.072	6,8	16,1
SK-N-MC	U nguyên bào thần kinh	19.057	10,4	33,9
LOX-IMVI	Da	9.765	36,6	112
VCaP	Tuyến tiền liệt	8.148	722	9.904
IM-95	Dạ dày	7.824	344,7	1.643
TYKNU	Buồng trứng	6.293	1.716	>10.000
22RV-1	Tuyến tiền liệt	5.671	257,3	1.604
HBSMC	Cơ trơn	~5.000	1.517,5	>10.000
HUCCT1	Đường dẫn mật	4.295	>10.000	>10.000
PC3	Tuyến tiền liệt	~4.000	>10.000	>10.000
HCT116	Ruột kết	3.785	336	1.796
NCIH1869	Phổi	1.915	>10.000	>10.000

Trong nghiên cứu riêng rẽ, mật độ STEAP-1 tại bề mặt của các dòng tế bào OE33, EBC1, và A673 được đánh giá. Xem Bảng 10 dưới đây, mà xác định mật độ STEAP1 (số lượng của vị trí liên kết kháng thể STEAP I trong mỗi tế bào) trong cột 3 như đo được bằng cách sử dụng phương pháp Dako Qifikit.

Dòng tế bào	Mô nguồn gốc	STEAP1 (Qifikit)	EC50 (pM)	EC90 (pM)
OE33	Thực quản	83.303	145	3.022
EBC1	Phổi	32.718	162	2.741
A673	Xương	25.241	122	1.587

Tế bào T từ người cho được ủ với các dòng tế bào đích, bên cạnh các nồng độ tăng dần của phân tử Ab-A2 (N67Q)XmAb²⁺¹ trong thời gian 48 giờ ở nhiệt độ 37°C. Sau 48 giờ, khả năng sống tế bào đích được đo bằng cách sử dụng glo ổn định (steady glo) (B) hoặc glo chuẩn độ tế bào (cell titer glo) để đo khả năng sống tế bào. Ab-A2(N67Q) XmAb²⁺¹ tiêu diệt tất cả các dòng tế bào với EC90 thay đổi.

Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹ có khả năng tiêu diệt các dòng tế bào ung thư với mật độ STEAP1 nằm trong khoảng từ ~200.000 thụ thể STEAP1 trong mỗi tế bào (dòng tế bào SNU5) xuống ~10.000 thụ thể STEAP1 trong mỗi tế bào (dòng tế bào LOX-IMV). Hiệu lực của Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹ giảm khi mật độ thụ thể STEAP1 hạ xuống dưới

10.000 trong mỗi tế bào. Đối với vấn đề này, Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹ ưu tiên làm trung gian cho sự tiêu diệt phụ thuộc tế bào T của tế bào có mật độ bề mặt của STEAP1 lớn hơn 10.000 (ví dụ như, EC90 nhỏ hơn ít nhất là 10 lần đối với tế bào có mật độ bề mặt của STEAP1 lớn hơn 10.000 so với tế bào có mật độ bề mặt của STEAP1 nhỏ hơn 10.000).

Sự tiêu diệt tế bào ung thư khác biệt được đánh giá với kháng thể khác trong định dạng XmAb²⁺¹ (Ab-B-G52A XmAb²⁺¹ và kháng thể chuột nhắt Ab-Cm XmAb²⁺¹) so với Ab-A2-N67G XmAb²⁺¹. Ab-A2-N67G XmAb²⁺¹ chứng tỏ sự tiêu diệt khác biệt giữa các tế bào biểu hiện STEAP1 cao và thấp, trong khi đó Ab-B-G52A XmAb²⁺¹ không phân biệt giữa các tế bào biểu hiện STEAP1 cao và thấp, thay vì tiêu diệt mọi tế bào biểu hiện STEAP1. Xem Bảng 11. Ab-A2-N67G XmAb²⁺¹ dự phòng tế bào bình thường mà biểu hiện STEAP1 ở mức thấp hơn (tức là, thấp hơn 10.000/tế bào), chẳng hạn như HSMBC (tế bào cuống phổi cơ trơn người sơ cấp).

Bảng 11. Ab-B1 XmAb²⁺¹ và Ab-Cm XmAb²⁺¹ tiêu diệt các tế bào biểu hiện STEAP1 cao và thấp.

Ab (XmAb ²⁺¹)	C4-2B-Luc ~ 150.000 R/C		C4-2B K-O ~ 0 R/C		LOX-IMVI ~10.000 R/C		IM95-Luc ~8.000 R/C	
	Ec50 (pM)	EC90 (pM)	Ec50 (pM)	EC90 (pM)	Ec50 (pM)	EC90 (pM)	Ec50 (pM)	EC90 (pM)
Ab-A2-N67G	5	19,4	>30.000	>30.000	47,1	445,2	344,7	1.643
Ab-B1-G52A	48,9	205	>30.000	>30.000	22	45,6	13,2	37,7
Ab-Cm	23,3	64,3	>30.000	>30.000	27,6	464,7	6,6	21,1

Ab (XmAb ²⁺¹)	HCT116-Luc ~ 4.000 R/C		HSMBC ~ 4.000 R/C		OVCARB Dưới mức phát hiện FACS		NB-4-Luc o R/C – Không có mARN	
	Ec50 (pM)	EC90 (pM)	Ec50 (pM)	EC90 (pM)	Ec50 (pM)	EC90 (pM)	Ec50 (pM)	EC90 (pM)
Ab-A2-N67G	336	1.796	2.008	>6000	3.623	12.946	>30.000	>30.000
Ab-B1-G52A	43,6	207,4	27,5	108	80,5	609	>30.000	>30.000
Ab-Cm	11,6	75,8	48,5	109,2	18,7	207,9	>30.000	>30.000

Ví dụ 9

Ví dụ này chứng minh rằng sự gây độc tế bào phụ thuộc tế bào T được tăng cường bằng cách sử dụng sự kết hợp của kháng thể đime khác loại kháng-CD3/kháng-STEAP1 được mô tả trong bản mô tả này với kháng thể kháng-PD-1.

Tạo ra các dòng tế bào biểu hiện quá mức PD-L1: Tế bào GP2-293 được nuôi cấy trong môi trường DMEM có bổ sung 10% huyết thanh thai bò, 1% Pen/Strep, 1% HEPES, và 1% GlutaMAX. Tế bào được lắng ra đĩa ở độ hợp lưu 75% trong đĩa 10 cm và được ủ ở nhiệt độ 37°C, CO₂ 5% qua đêm. Sáng hôm sau, các tế bào được chuyển nạp. 45 µl Lipofectamin 3000 và 500 µl môi trường OptiMEM được bổ sung vào ống A. 15 µg plasmit MSCV_GFP_PD-L1, 1,8 µg plasmit VSV-g, 30 µl chất phản ứng P3000, và 500 µl môi trường OptiMEM được bổ sung vào ống B. Các ống A và B được trộn và được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 10 phút. Hỗn hợp này được bổ sung từng giọt vào các đĩa của tế bào GP2-293 mà được ủ ở nhiệt độ 37°C, CO₂ 5% qua đêm. Sáng hôm sau, môi trường được loại bỏ và được thay thế bằng 10 ml môi trường nuôi cấy mới. Chiều hôm đó, tế bào đích được lắng ra đĩa ở độ hợp lưu 75% trong đĩa 6 giếng và được ủ ở nhiệt độ 37°C, CO₂ 5% qua đêm. Sáng hôm sau, dịch nổi bề mặt virus được thu gom từ tế bào GP2-293 và được ly tâm (5 phút, 1200 vòng/phút). Dịch nổi bề mặt được thu gom trong ống mới, và polybren được bổ sung ở 1:1000. Môi trường được loại bỏ khỏi đĩa chứa tế bào đích và 2 ml dịch nổi bề mặt virus được bổ sung. Đối với tế bào huyền phù, 1E6 tế bào được ly tâm ở tốc độ 1500 vòng/phút trong thời gian 5 phút, được tái tạo huyền phù trong 500 µl RPMI có bổ sung 10% huyết thanh thai bò và 1% pen/strep, và được lắng ra đĩa 6 giếng mà được bổ sung 2 ml dịch nổi bề mặt virus vào đó. Các đĩa chứa tế bào đích và dịch nổi bề mặt virus được ly tâm trong thời gian 1,5 giờ ở nhiệt độ 1200 x g ở nhiệt độ 32°C sau đó được ủ ở nhiệt độ 37°C, CO₂ 5%. Môi trường nuôi cấy được bổ sung sau 5 giờ. Bốn ngày sau, các tế bào được phân tích về sự biểu hiện GFP và PD-L1 bằng cách đếm tế bào theo dòng bằng FACSymphony. PD-L1 được phát hiện bằng cách sử dụng kháng thể được liên hợp PE, dòng 29E.2A3. Tế bào < 70% dương tính đối với sự biểu hiện PD-L1 được phân loại trên máy phân loại BD Melody để chọn lọc đối với tế bào biểu hiện mức cao của PD-L1.

Thử nghiệm gây độc tế bào phụ thuộc tế bào T (TDCC): Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹ được pha loãng trong môi trường nuôi cấy tế bào (RPMI, 10% huyết thanh thai bò đã bất hoạt bằng nhiệt, 1X GlutaMAX, 1X Pen/Strep), được pha loãng theo dãy

(1:3, tổng số 22) và được chuyển vào đĩa 384 giếng đáy trong, màu đen bằng cách sử dụng robot xử lý dịch lỏng Bravo. Tế bào pan T người ($n = 4$), đã được hoạt hóa trước bằng CD3/CD28 Dynabeads (1:1, 48 giờ) được tách khỏi các hạt bằng cách sử dụng nam châm và được pha loãng trong môi trường nuôi cấy tế bào. (Phần phân ước của tế bào T đã hoạt hóa từ mỗi thể cho được đánh giá về sự biểu hiện PD-1 bằng cách đếm tế bào theo dòng. Tế bào được nhuộm màu như được mô tả ở trên và dữ liệu được thu gom trên máy đếm tế bào theo dòng FACSymphony và được phân tích bằng cách sử dụng FlowJo v10.1.) Tế bào T đã hoạt hóa (2500 tế bào/20 μ l; 4 hàng/thể cho) sau đó là tế bào đích biểu hiện quá mức PD-L1 được lắng ra đĩa thử nghiệm 384 giếng (2500 tế bào/20 μ l; đĩa đầy đủ) sao cho tỉ lệ chất tác động với tế bào đích (E:T) cuối cùng bằng 1:1. Kháng thể kháng-PD-1 theo sáng chế có chứa các trình tự CDR nêu trong các SEQ ID NO: 189-194 (10 μ g/ml cuối cùng trong 5 μ l) được bổ sung vào hai hàng của mỗi thể cho tế bào T. Các đĩa được đậy bằng nắp MicroClimer và được ủ ở nhiệt độ 37°C, 5% CO₂ trong thời gian 24 giờ. Đối với các thử nghiệm với tế bào đích biểu hiện luciferaza, 30 μ l chất phản ứng Steady-Glo, Bright-Glo, hoặc One-Glo (Promega) được bổ sung. Các đĩa với tế bào đích đích không biểu hiện luciferaza được rửa bằng PBS để loại bỏ tế bào T bằng cách sử dụng máy rửa đĩa EL406 và 25 μ l chất phản ứng glo chuẩn độ tế bào (Cell Titer Glo) được bổ sung. Các đĩa được ủ với chất phản ứng trong thời gian 10 phút trong tối ở nhiệt độ trong phòng. Sự phát quang được phát hiện bằng cách sử dụng máy đọc đĩa BioTek Neo. Sự gây độc tế bào đặc hiệu được tính tương quan với tế bào đích được ủ với tế bào T mà không có Ab-A2 XmAb²⁺¹. Phần mềm Graphpad Prism được dùng để dựng đồ thị các đường cong liều lượng và tính giá trị EC50 với sự làm khớp đường cong hệ số góc biến bốn tham số.

Kết quả của thử nghiệm TDCC được minh họa trong các Hình 20A và Hình 20B. Sự kết hợp của Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹ và kháng thể kháng-PD-1 chứng tỏ sự gây độc tế bào được tăng cường và EC50 giảm đi so với một mình Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹.

Ví dụ 10

Ví dụ này chứng minh khả năng của kháng thể dime khác loại theo sáng chế (ví dụ như, Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹) để làm giảm thể tích khối u ung thư mô liên kết Ewing *in vivo*.

Các con chuột nhất suy giảm miễn dịch NOD/SCID cái được chiếu xạ dưới liều gây chết được cấy với 5×10^6 tế bào khối u SK-N-MC biểu hiện STEAP1 vào ngày 1. Vào ngày 8, 2×10^7 tế bào T người CD3+ được tiêm trong màng bụng. Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹ hoặc đối chứng tá được lỏng được dùng bằng cách tiêm liều bolus trong tĩnh mạch (IV) ở 0,01, 0,1 hoặc 1 mg/kg vào các ngày 12, 19 và 26. Dữ liệu thể tích khối u theo thời gian được thể hiện bằng biểu đồ (Hình 22).

Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹ gây ra sự thoái triển khối u ban đầu với thể tích khối u tương đối (RTV) < 1 ở tất cả các nhóm liều lượng giữa ngày 15 và 22, mặc dù RTV của các con vật được điều trị bằng tá được lỏng tăng lên liên tục đến khi kết thúc nghiên cứu. Khối u từ các con vật tiếp nhận liều thấp nhất của Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹ (0,01 mg/kg) bắt đầu phát triển trở lại sau ngày 22, mặc dù RTV trung bình đối với các con chuột nhất được điều trị bằng các liều lượng Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹ cao hơn (0,1 và 1 mg/kg) < 1 cho đến ngày lần lượt là 28 và 25 (Bảng 12).

Bảng 12. Thể tích khối u tương đối khi so với ngày 11

Nhóm liều lượng	Thông số	Ngày 11	Ngày 13	Ngày 15	Ngày 18	Ngày 20	Ngày 22	Ngày 25	Ngày 28
2. Tá được lỏng	Trung bình	1,00	1,19	1,36	1,88	2,40	2,93	3,89	5,29
	SEM	0,00	0,05	0,05	0,13	0,20	0,30	0,39	0,45
1. Tá được lỏng không có tế bào T	Trung bình	1,00	1,07	1,46	1,88	2,87	3,48	4,17	5,02
	SEM	0,00	0,02	0,14	0,17	0,44	0,32	0,39	0,52
3. Ab-A2 XmAb ²⁺¹ (1,0 mg/kg)	Trung bình	1,00	1,09	0,91	0,51	0,47	0,37	0,41	0,61
	SEM	0,00	0,05	0,07	0,13	0,17	0,19	0,27	0,46
4. Ab-A2 XmAb ²⁺¹ (0,1 mg/kg)	Trung bình	1,00	1,03	0,79	0,49	0,42	0,27	0,51	1,13
	SEM	0,00	0,07	0,06	0,05	0,06	0,07	0,22	0,39
5. Ab-A2 XmAb ²⁺¹ (0,01 mg/kg)	Trung bình	1,00	1,18	0,86	0,75	0,63	0,93	2,46	4,24
	SEM	0,00	0,09	0,08	0,08	0,08	0,15	0,35	0,54

Giữa ngày 15 và ngày 22, giá trị $p < 0,001$ đạt được ở tất cả các mức liều lượng Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹, và sau ngày 22, giá trị $p < 0,001$ đạt được tại các liều lượng Ab-A2 (N67Q) XmAb²⁺¹ 0,1 và 1 mg/kg, khi so với nhóm đối chứng được điều trị bằng tá được lỏng 2 (Hình 23). Vào ngày 28, các khối u của chuột nhất được điều trị bằng tá

được lỏng (nhóm 2) có thể tích lớn hơn trung bình 5,29 lần tương quan với thể tích bắt đầu của chúng trước khi bắt đầu điều trị, mặc dù RTV trung bình nhóm trong các nhóm được điều trị bằng Ab-A2 (N67Q) $XmAb^{2+1}$ là 0,61 (nhóm 3), 1,13 (nhóm 4) và 4,24 (nhóm 5) (Bảng 1). Khi kết thúc pha nghiên cứu trên động vật sống vào ngày 28, 9/10 con vật trong nhóm liều lượng Ab-A2 (N67Q) $XmAb^{2+1}$ cao nhất (nhóm 3) được coi là không có khối u với sự ức chế phát triển khối u (TGI) bằng 97% (Bảng 13).

Bảng 13. Sự ức chế phát triển khối u (thể tích khối u)

Nhóm liều lượng	Thông số	Ngày 11	Ngày 13	Ngày 15	Ngày 18	Ngày 20	Ngày 22	Ngày 25	Ngày 28
2. Tá dược lỏng	Trung vị	196,61	225,01	253,27	348,93	468,93	590,08	837,07	955,14
	T/C (%)	100	100	100	100	100	100	100	100
1. Tá dược lỏng không có tế bào T	Trung vị	203,63	229,86	286,81	323,09	563,09	598,48	673,42	885,10
	T/C (%)	104	102	113	93	120	101	80	93
	TGI (%)	-4	-2	-13	7	-20	-1	20	7
3. Ab-A2 $XmAb^{2+1}$ (1,0 mg/kg)	Trung vị	197,87	206,94	166,09	78,41	59,90	33,53	27,07	29,77
	T/C (%)	101	92	66	22	13	6	3	3
	TGI (%)	-1	8	34	78	87	94	97	97
4. Ab-A2 $XmAb^{2+1}$ (0,1 mg/kg)	Trung vị	197,59	198,67	144,59	88,07	76,73	41,56	55,86	106,87
	T/C (%)	100	88	57	25	16	7	7	11
	TGI (%)	0	12	43	75	84	93	93	89
5. Ab-A2 $XmAb^{2+1}$ (0,01 mg/kg)	Trung vị	200,97	217,31	150,74	121,75	115,60	202,07	431,89	867,08
	T/C (%)	102	97	60	35	25	34	52	91
	TGI (%)	-2	3	40	65	75	66	48	9

Do đó, trong mô hình mảnh ghép khác loại có liên quan về mặt lâm sàng, Ab-A2 (N67Q) $XmAb^{2+1}$ thể hiện hoạt tính kháng khối u thuyết phục.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Protein liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép mà liên kết STEAP1 có trình tự SEQ ID NO: 2 và chứa:

(a) CDR chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được nêu trong vhCDR1 SEQ ID NO: 14, vhCDR2 SEQ ID NO: 15 hoặc vhCDR2 SEQ ID NO: 21, và vhCDR3 SEQ ID NO: 16 và

(b) CDR chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được nêu trong vlCDR1 SEQ ID NO: 11, vlCDR2 SEQ ID NO: 12, và vlCDR3 SEQ ID NO: 13.

2. Protein liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép theo điểm 1, trong đó protein này liên kết STEAP1 và CD3.

3. Protein liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép theo điểm 2, trong đó protein này chứa miền liên kết CD3 chứa trình tự CDR của SEQ ID NO: 170-172 và 174-176.

4. Protein liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép theo điểm 1, trong đó protein này là kháng thể dime khác loại có chứa:

a) monome thứ nhất có chứa chuỗi nặng thứ nhất có chứa:

1) miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất;

2) miền chuỗi nặng không đổi thứ nhất có chứa miền CH1 thứ nhất và miền Fc thứ nhất;

3) scFv mà liên kết CD3 người và có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ scFv chứa trình tự axit amin CDR được nêu trong vlCDR1 SEQ ID NO: 174, vlCDR2 SEQ ID NO: 175, và vlCDR3 SEQ ID NO: 176, cầu nối scFv và miền biến đổi chuỗi nặng scFv chứa trình tự axit amin CDR được nêu trong vhCDR1 SEQ ID NO: 170, vhCDR2 SEQ ID NO: 171, và vhCDR3 SEQ ID NO: 172; trong đó scFv này được gắn cộng hóa trị giữa đầu tận cùng C của miền CH1 và đầu tận cùng N của miền Fc thứ nhất bằng cách sử dụng (các) cầu nối miền;

b) monome thứ hai chứa chuỗi nặng thứ hai chứa miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai và chuỗi nặng không đổi thứ hai chứa miền Fc thứ hai; và

c) chuỗi nhẹ chung có chứa miền biến đổi chuỗi nhẹ và miền không đổi chuỗi nhẹ;

trong đó miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nhẹ liên kết STEAP1 người, miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai và miền biến đổi chuỗi nhẹ liên kết STEAP1 người, và trong đó

miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa CDR chuỗi nặng chứa trình tự axit amin (a) vhCDR1 SEQ ID NO: 14, (b) vhCDR2 SEQ ID NO: 15 hoặc SEQ ID NO: 21, và (3) vhCDR3 SEQ ID NO: 16, và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa CDR chuỗi nhẹ có chứa trình tự axit amin vlCDR1 SEQ ID NO: 11, vlCDR2 SEQ ID NO: 12, và vlCDR3 SEQ ID NO: 13.

5. Kháng thể đime khác loại theo điểm 4, trong đó monome thứ nhất có chứa các đột biến thế axit amin E233P, L235V, G236A, S267K, R292C, N297G, V302C, E357Q, và S364K; monome thứ hai có chứa các đột biến thế axit amin N208D, E233P, L235V, G236A, S267K, R292C, Q295E, N297G, V302C, L368D, K370S, N384D, Q418E, và N421D; và cả hai monome bao gồm sự làm khuyết tại vị trí 234.

6. Kháng thể đime khác loại theo điểm 4, trong đó scFv có chứa miền biến đổi chuỗi nặng có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% với SEQ ID NO:169 và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% với SEQ ID NO: 173.

7. Kháng thể đime khác loại theo điểm 6, trong đó scFv có chứa vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự SEQ ID NO:169 và SEQ ID NO:173.

8. Kháng thể đime khác loại theo điểm 4, trong đó scFv có cầu nối scFv tích điện.

9. Kháng thể đime khác loại theo điểm 8, trong đó cầu nối scFv tích điện có điện tích dương từ 3 đến 8 và được chọn từ nhóm gồm có SEQ ID NO: từ 143 đến 153.

10. Kháng thể đime khác loại theo điểm 8, trong đó cầu nối scFv có chứa SEQ ID NO: 152.

11. Kháng thể đime khác loại theo điểm 4, trong đó scFv có chứa trình tự SEQ ID NO: 44.

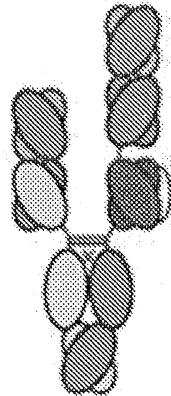
12. Kháng thể đime khác loại theo điểm 4, trong đó miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa các trình tự CDR vhCDR1 chứa SEQ ID NO: 14, vhCDR2 chứa SEQ ID NO: 15, vhCDR3 chứa SEQ ID NO: 16.

13. Kháng thể đime khác loại theo điểm 12, trong đó miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% với SEQ ID NO: 182, và trong đó miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa trình tự axit amin tương đồng ít nhất là 90% với SEQ ID NO: 183.
14. Kháng thể đime khác loại theo điểm 13, trong đó miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa SEQ ID NO: 182 và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa SEQ ID NO: 183.
15. Kháng thể đime khác loại theo điểm 4, trong đó miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa SEQ ID NO: 184 và miền biến đổi chuỗi nhẹ có chứa SEQ ID NO: 183.
16. Kháng thể đime khác loại có chứa monome thứ nhất có chứa trình tự SEQ ID NO: 202, monome thứ hai có chứa trình tự SEQ ID NO: 201, và chuỗi nhẹ chung có chứa trình tự SEQ ID NO:200.
17. Kháng thể đime khác loại có chứa monome thứ nhất có chứa trình tự SEQ ID NO: 19, monome thứ hai có chứa trình tự SEQ ID NO:18, và chuỗi nhẹ chung có chứa trình tự SEQ ID NO:17.
18. Kháng thể đime khác loại có chứa monome thứ nhất có chứa trình tự SEQ ID NO: 207, monome thứ hai có chứa trình tự SEQ ID NO: 203, và chuỗi nhẹ chung có chứa trình tự SEQ ID NO:200.
19. Kháng thể đime khác loại theo điểm 4, trong đó miền biến đổi chuỗi nặng thứ nhất và miền biến đổi chuỗi nặng thứ hai có chứa các trình tự CDR vhCDR1 chứa SEQ ID NO: 14, vhCDR2 chứa SEQ ID NO: 21, vhCDR3 chứa SEQ ID NO: 16.
20. Dược phẩm chứa kháng thể đime khác loại theo điểm 4.

1/48

HÌNH 1

Kháng STEAP1



HÌNH 2

MQSGTHWRVLGLCLLSVGWVGQDGNEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDE
DDKNIGSDEDEHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDITGG
LLLLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPVPNPDYEPKRGQRDLYSGLNQRRRI (SEQ ID
NO: 1)

HÌNH 3

MESRKDITNQEELWKMKPRRNLEEDDYLHKDTGETSMLKRPVLLHLHQTAAHADEFDCPSE
LQHTQELFPQWHLPIKIAAIIASLTFLYTLLREVIHPLATSHQQYFYKIPILVINKVLPM
VSITLLALVYLPGVIAAIVQLHNGTKYKKFPHWLDKWMLTRKQFGLLSFFFVAVLHAIYSL
SYPMRRSYRYKLLNWAYQQVQQNKEDAWIEHDVWRMEIYVSLGIVGLAILALLAVTSIPS
VSDSLTWREFHYIQSKLGIVSLLGTIHALIFAWNKWIDIKQFVWYTPPTFMIAVFLPIV
VLIFKSILFLPCLRKILKIRHGWEDVTKINKTEICSQL (SEQ ID NO: 2)

2/48

HÌNH 4A

Monome 1	Monome 2
F405A	T394F
S364D	Y349K
S364E	L368K
S364E	Y349K
S364F	K370G
S364H	Y349K
S364H	Y349T
S364Y	K370G
T411K	K370E
V397S/F405A	T394F
K370R/T411K	K370E/T411E
L351E/S364D	Y349K/L351K
L351E/S364E	Y349K/L351K
L351E/T366D	L351K/T366K
P395T/V397S/F405A	T394F
S364D/K370G	S364Y/K370R
S364D/T394F	Y349K/F405A
S364E/F405A	Y349K/T394F
S364E/F405S	Y349K/T394Y
S364E/T411E	Y349K/D401K
S364H/D401K	Y349T/T411E
S364H/F405A	Y349T/T394F
S364H/T394F	Y349T/F405A
Y349C/S364E	Y349K/S354C
L351E/S364D/F405A	Y349K/L351K/T394F
L351K/S364H/D401K	Y349T/L351E/T411E
S364E/T411E/F405A	Y349K/T394F/D401K
S364H/D401K/F405A	Y349T/T394F/T411E
S364H/F405A/T411E	Y349T/T394F/D401K

3/48

HÌNH 4B

Monome 1	Monome 2
K370E/T411D	T411K
L368E/K409E	L368K
Y349T/T394F/S354C	S364H/F405A/Y349C
T411E	D401K
T411E	D401R/T411R
Q347E/K360E	Q347R
L368E	S364K
L368E/K370S	S364K
L368E/K370T	S364K
L368E/D401R	S364K
L368E/D401N	S364K
L368E	E357S/S364K
L368E	S364K/K409E
L368E	S364K/K409V
L368D	S364K
L368D/K370S	S364K
L368D/K370S	S364K/E357L
L368D/K370S	S364K/E357Q
T411E/K360E/Q362E	D401K
K370S	S364K
L368E/K370S	S364K/E357Q
K370S	S364K/E357Q
T411E/K360D	D401K
T411E/K360E	D401K
T411E/Q362E	D401K
T411E/N390D	D401K
T411E	D401K/Q347K
T411E	D401K/Q347R
T411E/K360D/Q362E	D401K

4/48

HÌNH 4C

Monome 1	Monome 2
T411E/K360E/N390D	D401K
T411E/Q362E/N390D	D401K
T411E/Q347R	D401K/K360D
T411E/Q347R	D401K/K360E
T411E/K360	D401K/Q347K
T411E/K360D	D401K/Q347R
T411E/K360E	D401K/Q347K
T411E/K360E	D401K/Q347R
T411E/S364K	D401K/K370S
T411E/K370S	D401K/S364K
Q347E	E357Q
Q347E	E357Q/Q362K
K360D/Q362E	Q347R
K360D/Q362E	D401K
K360D/Q362E	Q347R/D401K
K360E/Q362E	Q347R
K360E/Q362E	D401K
K360E/Q362E	Q347R/D401K
Q362E/N390D	D401K
Q347E/K360D	D401N
K360D	Q347R/N390K
K360D	N390K/D401N
K360E	Y349H
K370S/Q347E	S364K
K370S/E357L	S364K
K370S/E357Q	S364K
K370S/Q347E/E357L	S364K
K370S/Q347E/E357Q	S364K

5/48

HÌNH 4D

Monome 1	Monome 2
L368D/K370S/Q347E	S364K
L368D/K370S/E357L	S364K
L368D/K370S/E357Q	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E	S364K
L368E/K370S/E357L	S364K
L368E/K370S/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E	S364K
L368D/K370T/E357L	S364K
L368D/K370T/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E	S364K
L368E/K370T/E357L	S364K
L368E/K370T/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357Q	S364K
T411E/Q362E	D401K/T411K
T411E/N390D	D401K/T411K
T411E/Q362E	D401R/T411R
T411E/N390D	D401R/T411R
Y407T	T366Y
F405A	T394W
T366Y/F405A	T394W/Y407T
Y407A	T366W
T366S/L368A/Y407V	T366W
T366S/L368A/Y407V/Y349C	T366W/S354C

6/48

HÌNH 4E

Monome 1	Monome 2
K392D/K409D	E356K/D399K
K370D/K392D/K409D	E356K/E357K/D399K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
N384S/K392N/V397M/Q419E	N276K
D221E/P228E/L368E	D221R/P228R/K409R
C220E/P228E/L368E	C220R/E224R/P228R/K409R
F405L	K409R
T366I/K392M/T394W	F405A/Y407V
T366V/K409F	L351Y/Y407A
T366A/K392E/K409F/T411E	D399R/S400R/Y407A
L351K	L351E
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
I199T N203D K274Q R355Q N384S K392N V397M Q419E DEL447	
N208D Q295E N384D Q418E N421D	
N208D Q295E Q418E N421D	
Q196K I199T P217R P228R N276K	
Q196K I199T N276K	
E269Q E272Q E283Q E357Q	
E269Q E272Q E283Q	
E269Q E272Q	
E269Q E283Q	
E272Q E283Q	
E269Q	

7/48

HÌNH 5

Các biến thể pl

<u>Vùng không đổi biến thể</u>	<u>Sự thể</u>
pl_ISO(-)	I199T N203D K274Q R355Q N384S K392N V397M Q419E DEL447
pl_(-)_đồng vị trí_A	N208D Q295E N384D Q418E N421D
pl_(-)_đồng vị trí_B	N208D Q295E Q418E N421D
pl_ISO(+RR)	Q196K I199T P217R P228R N276K
pl_ISO(+)	Q196K I199T N276K
pl_(+)_đồng vị trí_A	E269Q E272Q E283Q E357Q
pl_(+)_đồng vị trí_B	E269Q E272Q E283Q
pl_(+)_đồng vị trí_E269Q/E272Q	E269Q E272Q
pl_(+)_đồng vị trí_E269Q/E283Q	E269Q E283Q
pl_(+)_đồng vị trí_E272Q/E283Q	E272Q E283Q
pl_(+)_đồng vị trí_E269Q	E269Q

8/48

HÌNH 6

Các biến thể cắt bỏ

Biến thể	(Các) biến thể, tiếp
G236R	P329K
S239G	A330L
S239K	A330S/P331S
S239Q	I332K
S239R	I332R
V266D	V266D/A327Q
S267K	V266D/P329K
S267R	S267R/A327Q
H268K	S267R/P329K
E269R	G236R/L328R
299R	E233P/L234V/L235A/G236del/S239K
299K	E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
K322A	E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G
A327G	E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G
A327L	E233P/L234V/L235A/G236del
A327N	S239K/S267K
A327Q	267K/P329K
L328E	
L328R	
P329A	
P329H	

9/48

HÌNH 7

Monome scFv (+)

Các biến thể đối xứng lệch
đime hóa khác loại S364K/E357Q

Cầu nối tích điện scFv tùy ý bao gồm
nhưng không giới hạn ở (GKPGS)₄

FcKO

E233P/L234V/L235A/G236del/S267K

± 428L/434S đối với FcRn

scFv của kháng CD3

Monome Fab (-)

Các biến thể đối xứng lệch đime hóa khác loại
L368D/K370S

Các sự thể pl đồng vị trí

N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D

FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K

± 428L/434S đối với FcRn

Các trình tự Fv đối với kháng STEAP1

Monome scFv

Các biến thể đối xứng lệch
đime hóa khác loại S364K/E357Q

Cầu nối tích điện scFv tùy ý bao gồm,
nhưng không giới hạn ở (GKPGS)₄

FcKO

E233P/L234V/L235A/G236del/S267K

± 428L/434S đối với FcRn (tùy ý)

scFv của kháng CD3

Monome Fab

Các biến thể đối xứng lệch đime hóa khác loại
L368D/K370S

Các sự thể pl I199T N203D K274Q R355Q Q419E K447del

FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K

± 428L/434S đối với FcRn (tùy ý)

scFv của kháng STEAP1

10/48

HÌNH 8A**Cầu nối scFv tích điện dương**

Tên	Trình tự	Độ dài	Điện tích	SEQ ID NO:
Gly-Ser 15	GGGGS GGGGS GGGGS	15	0	143
Cầu nối Whitlow	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	18	+1	144
6paxA_1 (+A)	IRPRAIGGSKPRVA	14	+4	145
+B	GKGGSGKGGSGKGGS	15	+3	146
+C	GGKSGGKSGGKGGS	15	+3	147
+D	GGGKS GGGKS GGGKS	15	+3	148
+E	GKGKSGKGKSGKGKS	15	+6	149
+F	GGGKS GGGKS GKGGS	15	+3	150
+G	GKPGSGKPGSGKPGS	15	+3	151
+H	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	20	+4	152
+I	GKGKSGKGKSGKGKSGKGKS	20	+8	153

Cầu nối scFv tích điện âm

Tên	Trình tự	Độ dài	Điện tích	SEQ ID NO:
Gly-Ser 15	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS	20	0	154
3hsc_2 (-A)	STAGDTHLGGEDFD	14	-4	155
-B	GEGSGEGSGEGGS	15	-3	156
-C	GGEGSGEGSGEGGS	15	-3	157
-D	GGGESGGGESGGGES	15	-3	158
-E	GEGESGEGESGEGES	15	-6	159
-F	GGGESGGEGSGEGGS	15	-3	160
-G	GEGESGEGESGEGESGEGES	20	-8	161

HÌNH 8B

Các cầu nối scFv

GGGSGGGSGGGGS	(SEQ ID NO: 162)
GGGSGGGSGGGSGGGGS	(SEQ ID NO: 163)
GSTSGSGKPGSGEGSTKG	(SEQ ID NO: 164)
PRGASKSGSASQTGSAPGS	(SEQ ID NO: 165)
GTAAAGAGAAGGAAAGAAG	(SEQ ID NO: 166)
GTSGSSGSGSGSGSGGGG	(SEQ ID NO: 167)
GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	(SEQ IS NO: 168)

Các cầu nối miền hữu dụng

KTHTCPPCP ("bản lề dạng nửa")	SEQ ID NO:210
EPKSSDKHTCPPCP ("biến thể C220S bản lề dạng đầy đủ")	SEQ ID NO:211
GGGSGGGSGKHTCPPCP ("bản lề dạng nửa uốn cong")	SEQ ID NO:212
GKPGSGKPGSKHTCPPCP ("bản lề dạng nửa tích điện 1")	SEQ ID NO:213
GKPGSKHTCPPCP ("bản lề dạng nửa tích điện 2")	SEQ ID NO:214

12/48

HÌNH 9

XENP	Biến thể đối xứng lệch đime khác loại, Chuỗi 1	Biến thể đối xứng lệch đime khác loại, Chuỗi 2	Sản lượng đime khác loại (%) CH3 Tm (°C)	
12757	không có	không có	52,7	83,1
12758	L368D/K370S	S364K	94,4	76,6
12759	L368D/K370S	S364K/E357L	90,2	77,2
12760	L368D/K370S	S364K/E357Q	95,2	77,5
12761	T411E/K360E/Q362E	D401K	85,6	80,6
12496	L368E/K370S	S364K	91,5	không xác định
12511	K370S	S364K	59,9	không xác định
12840	L368E/K370S	S364K/E357Q	59,5	không xác định
12841	K370S	S364K/E357Q	90,4	không xác định
12894	L368E/K370S	S364K	41,0	không xác định
12895	K370S	S364K	49,3	không xác định
12896	L368E/K370S	S364K/E357Q	73,9	không xác định
12901	K370S	S364K/E357Q	87,9	không xác định

13/48

HÌNH 10A

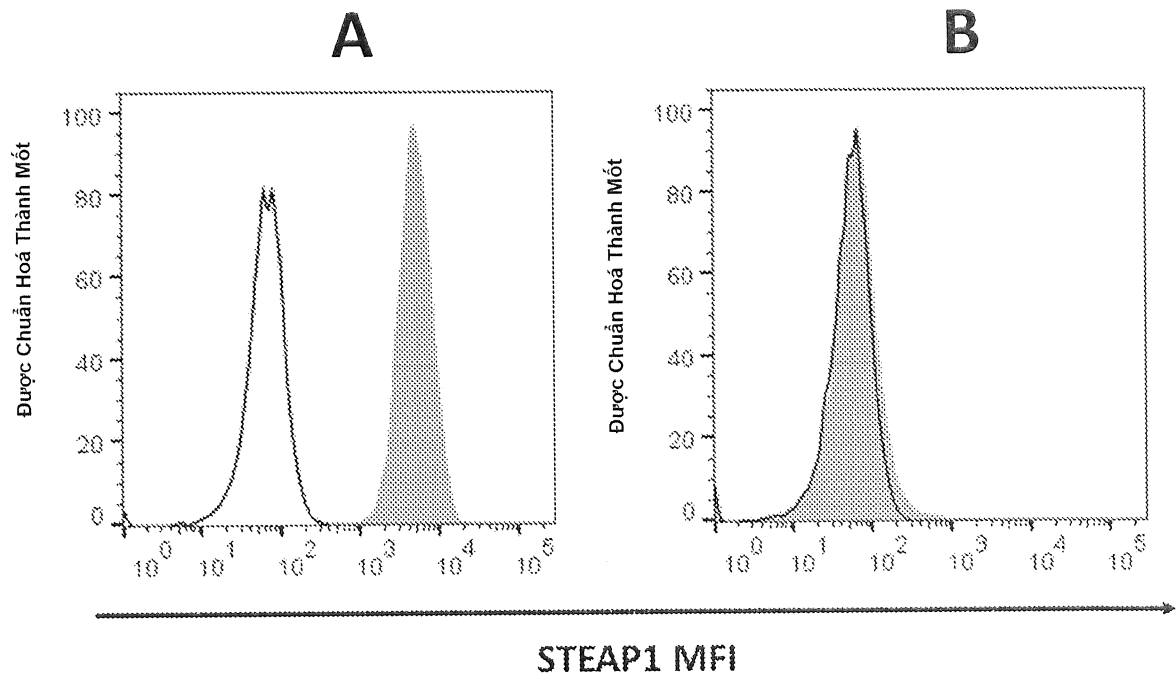
VH ID	VL ID	Sự thể VH	Sự thể VL
H1	L1.4		
H1.30	L1.47	N30S/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.33	L1.47	N30S/N100D/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.31	L1.47	N30S/N35S/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.32	L1.47	N30S/Y52CA/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.88	L1.47	N30S/N100P	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.89	L1.47	N30S/N100D/S100AE	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.90	L1.47	N30S/N100D/S100AP	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.91	L1.47	N30S/Y52CA/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.92	L1.47	N30S/Y58A/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.93	L1.47	N30S/N100E	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.94	L1.47	N30S/N100Q	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.96	L1.47	N30S/N100D/S100AN	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.97	L1.47	N30S/N100D/S100AQ	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.98	L1.47	N30S/Y52CA/N100D/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.99	L1.47	N30S/Y58A/N100D/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.100	L1.47	N30S/N100A/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.101	L1.47	N30S/N100Q/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.102	L1.47	N30S/N100D/S100AE/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.103	L1.47	N30S/N100D/S100AN/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.104	L1.47	N30S/N100D/S100AP/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.105	L1.47	N30S/N100D/S100AQ/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H

HÌNH 10B

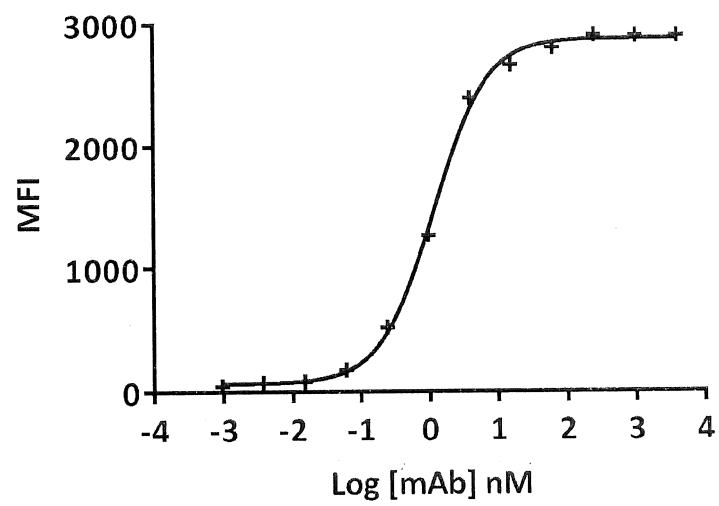
VH ID	VL ID	Sự thể VH	Sự thể VL
H1.106	L1.47	N30S/Y52CA/Y58A/N100D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.107	L1.47	N30S/Y52CA/Y58A/N100A	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.108	L1.47	N30S/Y52CA/Y58A/N100Q	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H
H1.109	L1.47	N30S/Y52CA/Y58A/N100D/A101D	Q42K/A43S/L75I/E85D/L95H

15/48

HÌNH 11

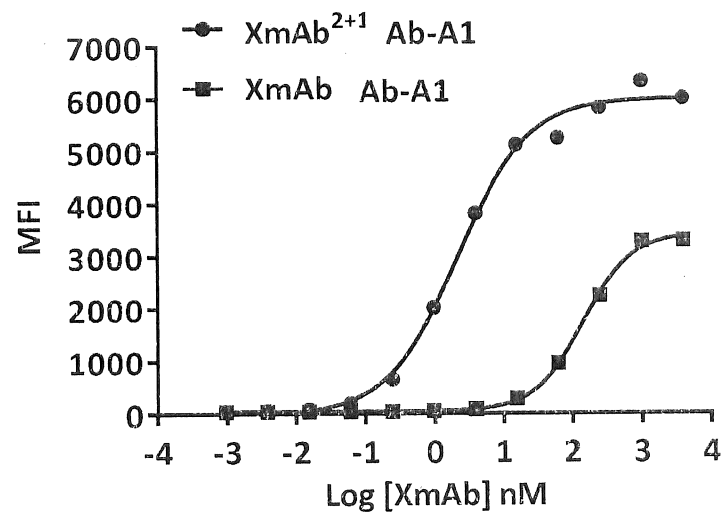


HÌNH 12A

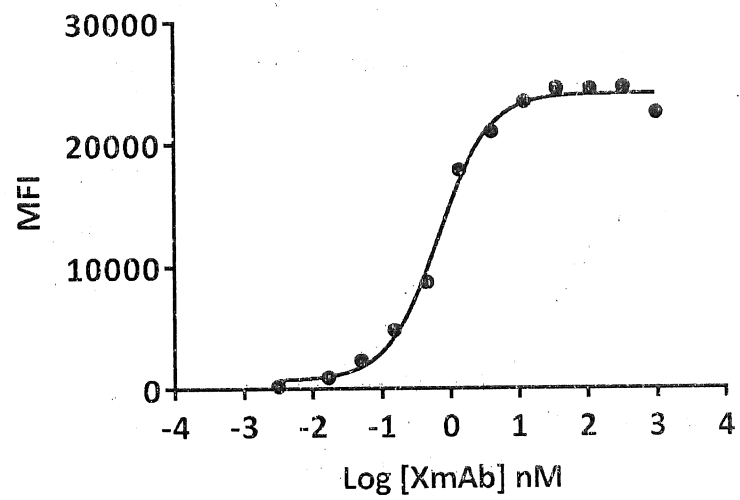


16/48

HÌNH 12B

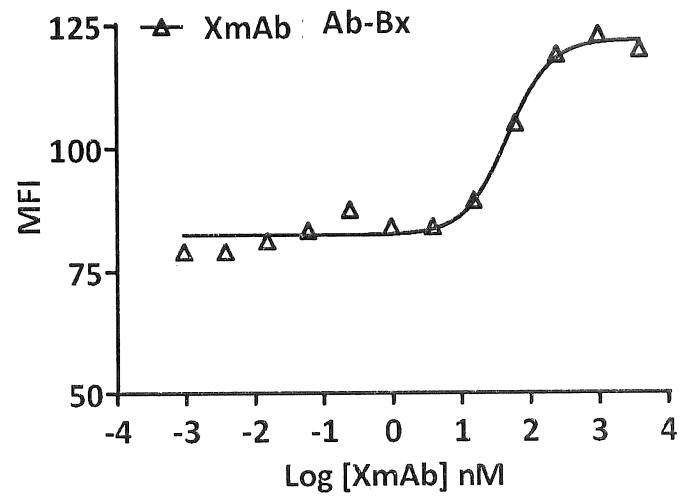


HÌNH 12C



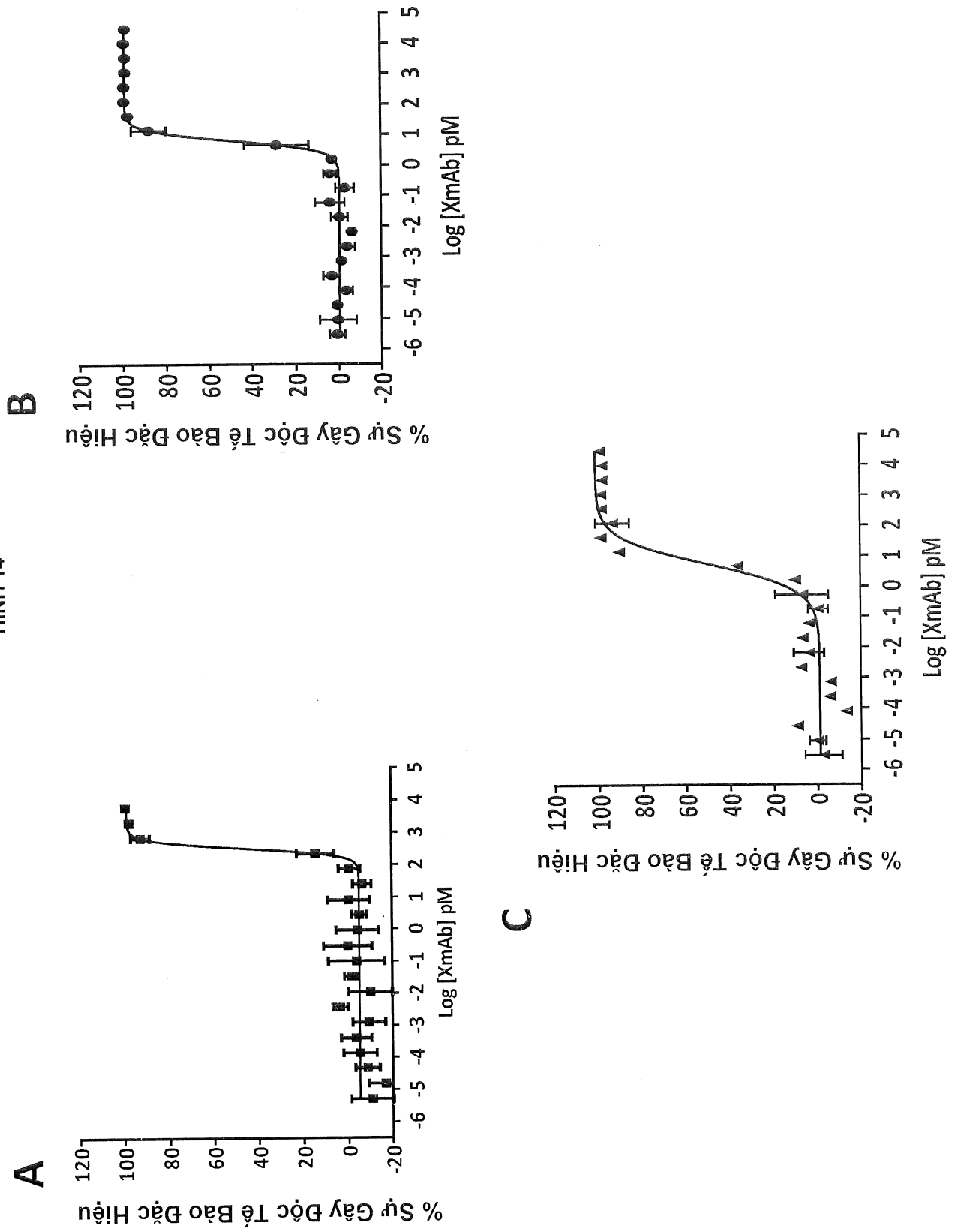
17/48

HÌNH 13



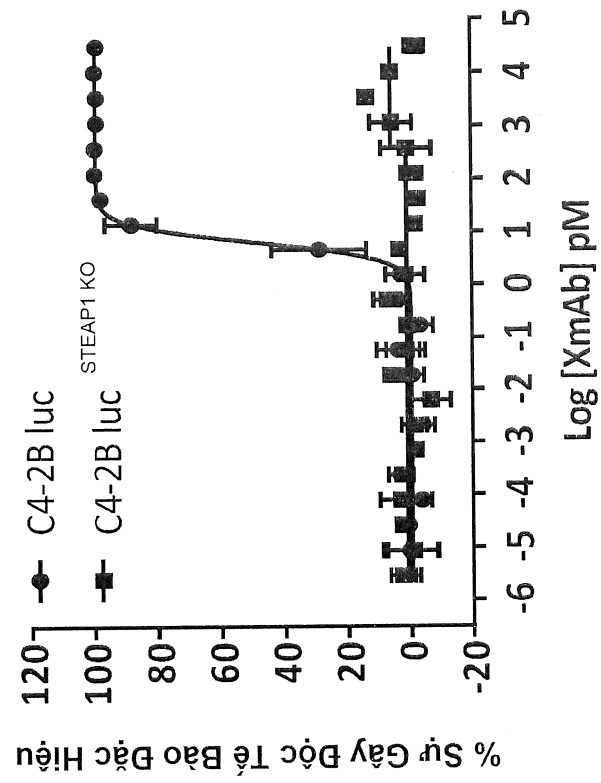
18/48

HÌNH 14



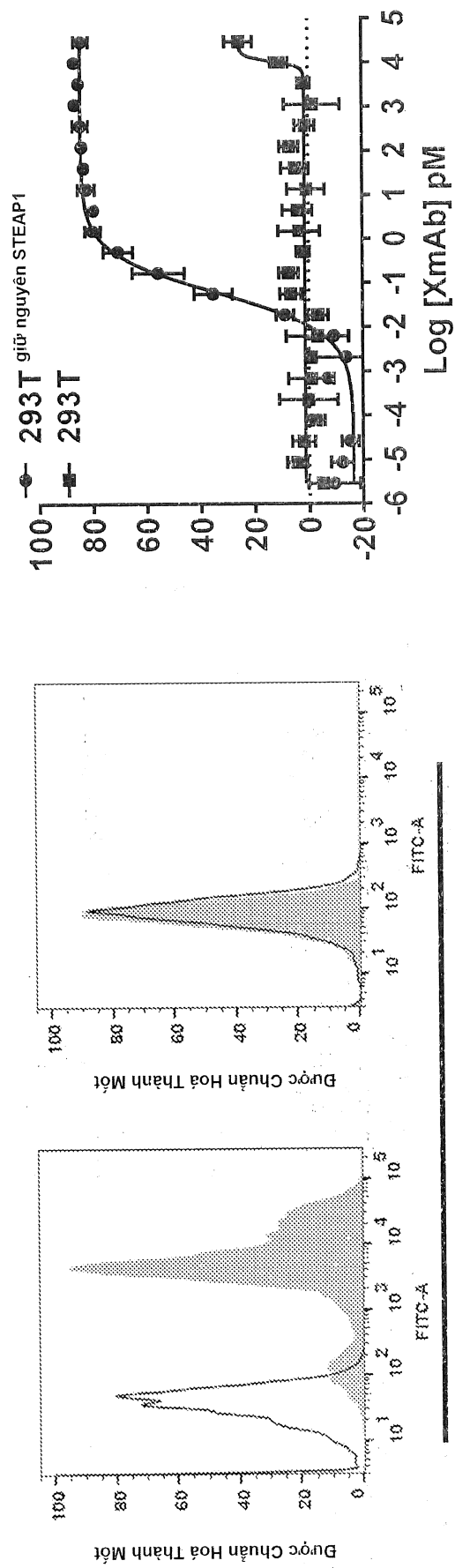
19/48

HÌNH 15

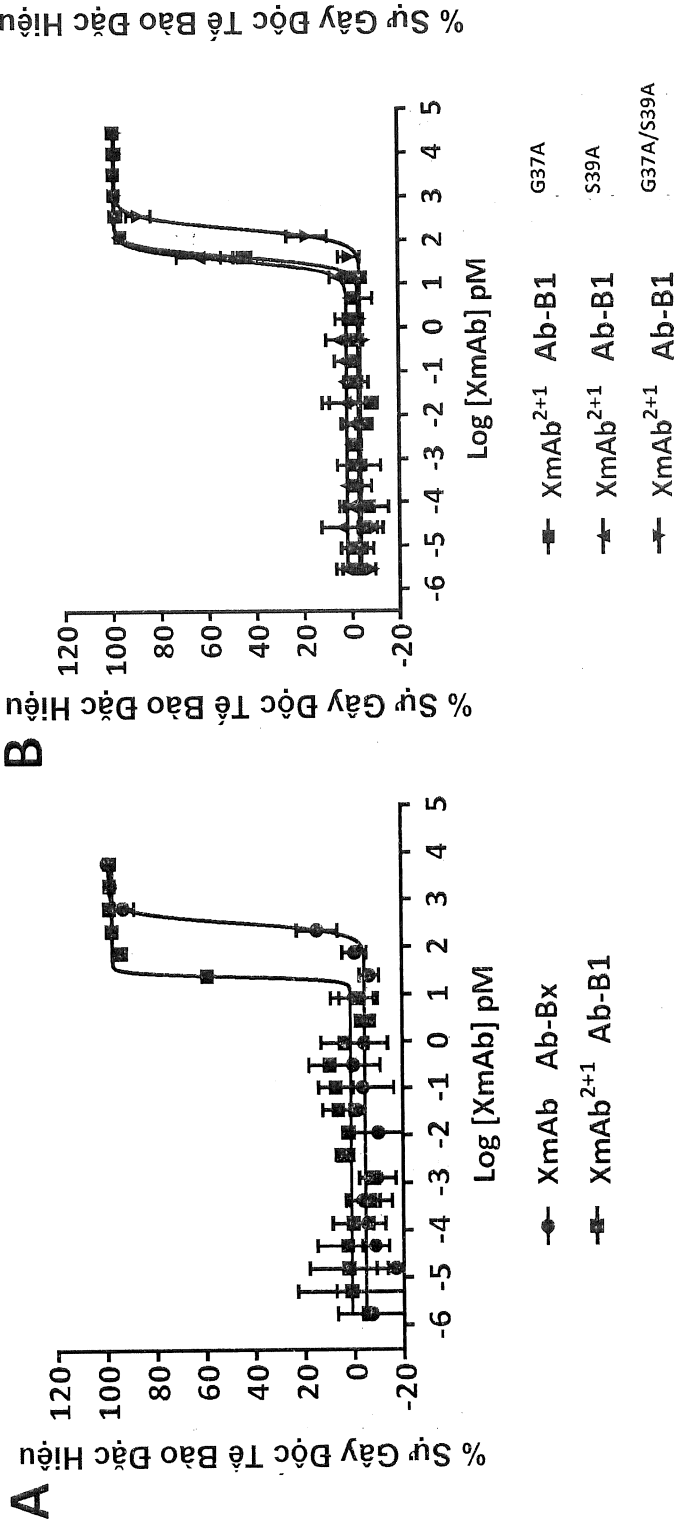


HÌNH 16

A B C

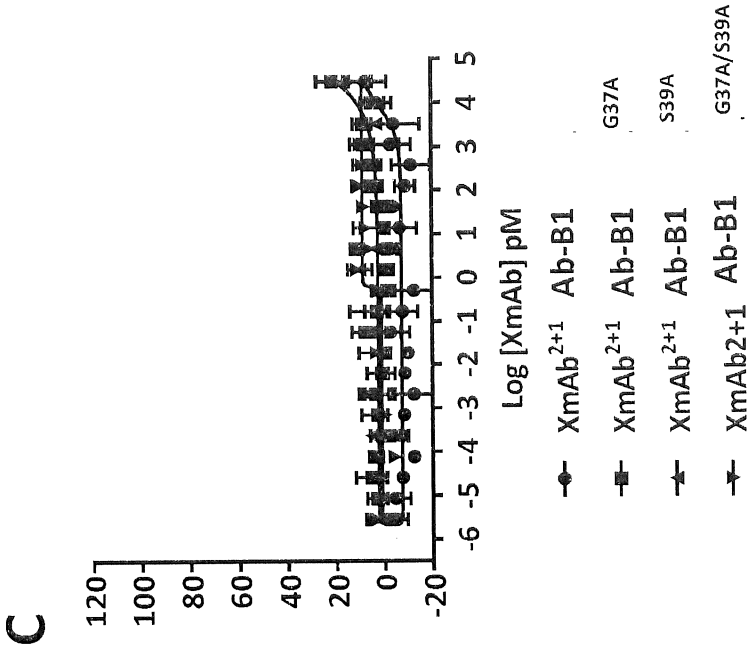


HÌNH 17

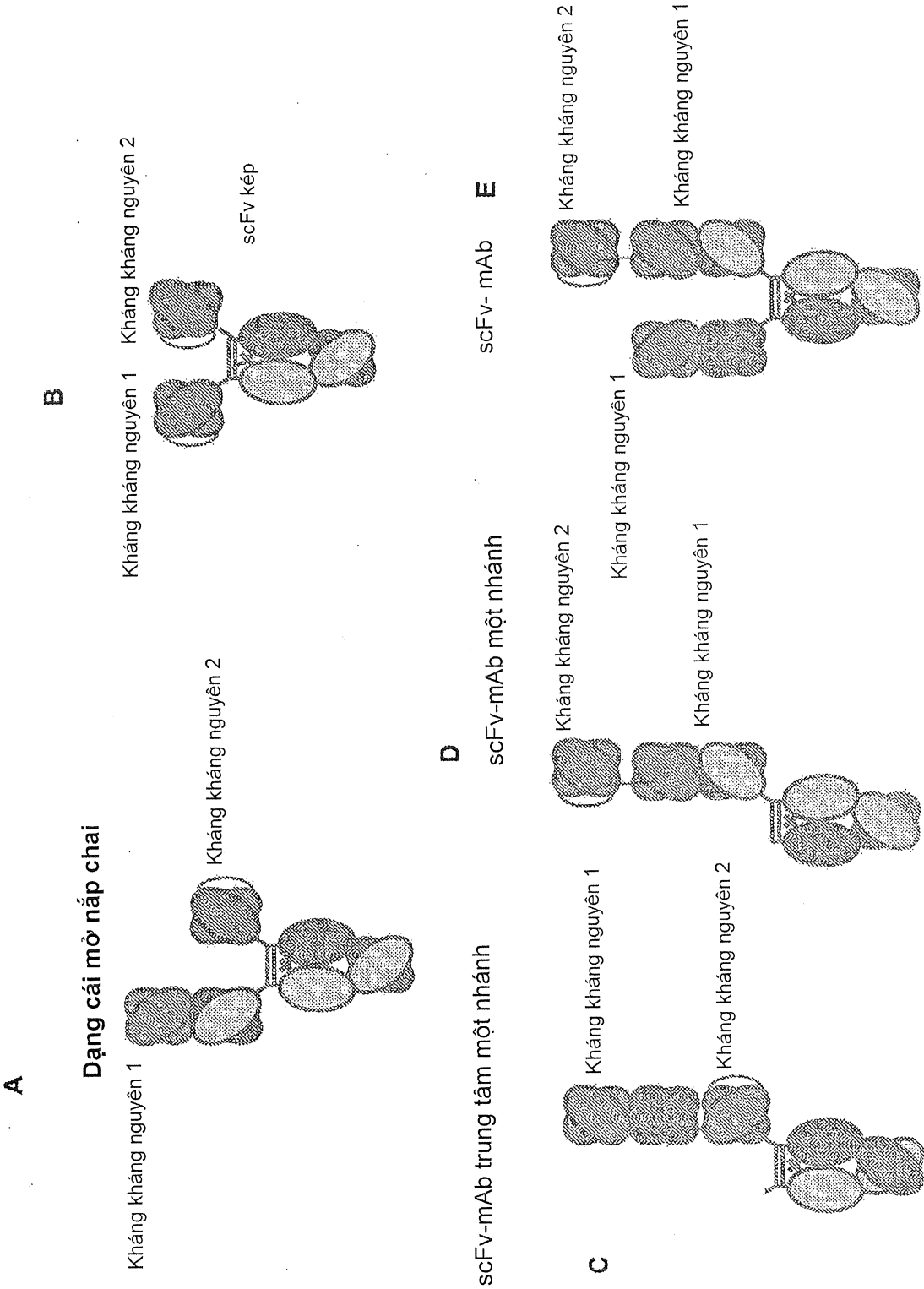


22/48

HÌNH 17C

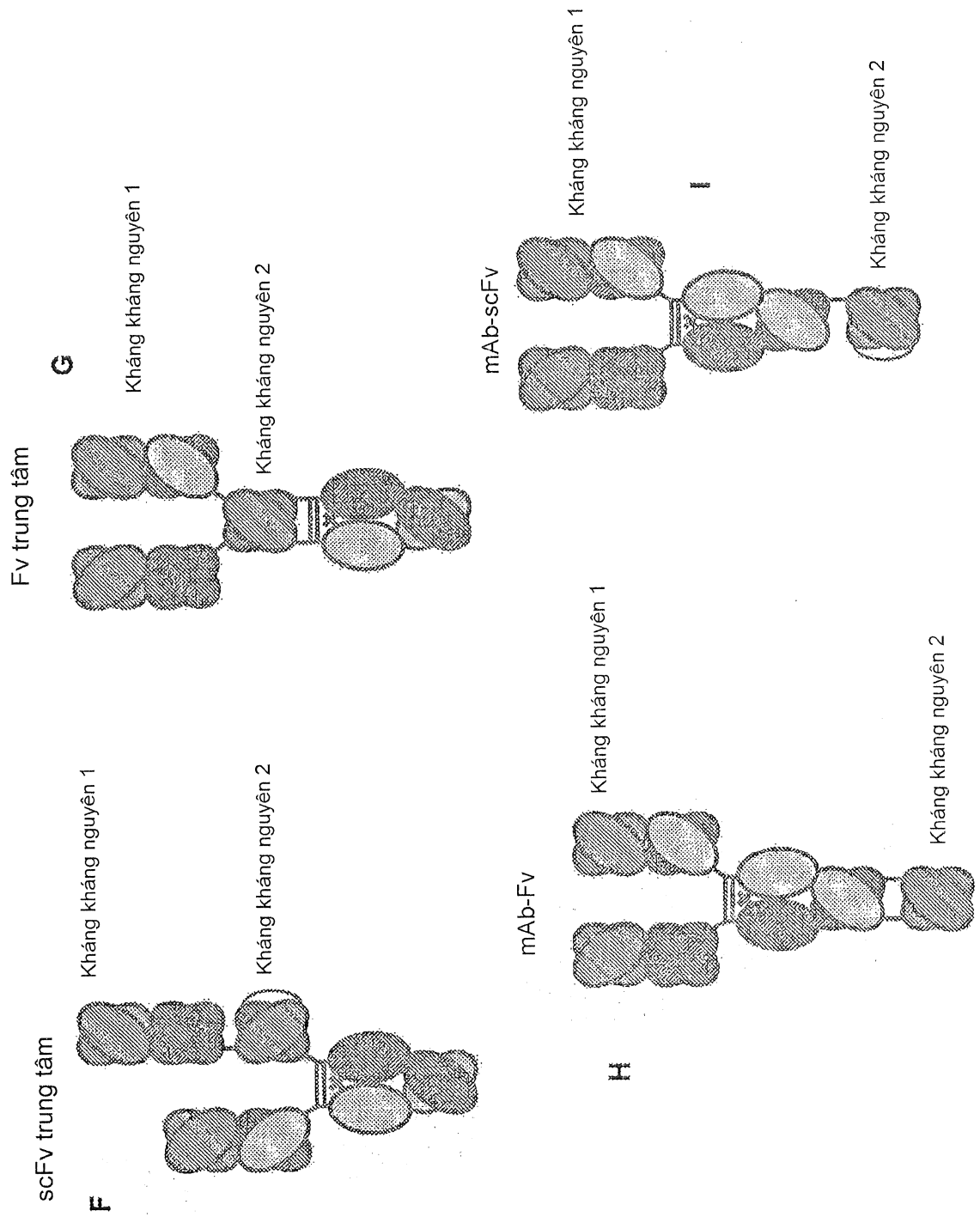


HÌNH 18A-E



24/48

HÌNH 18F-I



HÌNH 19

SEQ ID NO:	Mô tả	Trình tự
1.	chuỗi epsilon CD3 - người	MQSGTHWRVLGCLLSVGWGDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNI GSEDEHLSLKEFESELEQSGYVVCYPRGSKPEDANFYLLRARVCENCMEMDVMVSATIVIDICITGGLLLLVYYWSK NRKAKAPVTRGAGAGGRGQNKERPPVPNPDPYPIRKGQRDLYSGLNQRRRI
2.	STEAP-1 - người	MESRKDITNQEELWKMKPRNLEDDYLHKDTGETSMKRPVLLHLHQTAAHDEFDCPSE LQHTQELFPQWHLPIKIAAIIASLTFLYTLRREVHPLATSHQQYFYKIPILVINKVLPM VSITLLALVLPGVIAIVQLHNGTKYKFFPHWLDKWWMLTRKQFGLLSFFFAVLHAIYSL SYPMRRSYRYKLLNWAYQQVQQNKEDAWIEHDVWRMEIYVSLGIVGLAILALLAVTSIPS VSDSLTWREFHYIQSKLGIVSLLLGTIHALIFAWNKNWIDIKQFVWYTPPTFMIAVFLPIV VLIFKSILFLPCLRRKILKIRHGWEDVTKINKTEIGCSQL
3.	Ab-A biến đổi HC	QVQLQQSGAEMMKPGASVKISCKATGYTFSTYIEWVWQRPQGHLEWIGEILPGSGNTDFNEKFKGKATFTADTS SDTAYMHLSLTSEDSAVYCYCTRWGYGTRGYFNWVGAGSTVTVSS
4.	Ab-A HCDR1	TYWIE
5.	Ab-A HCDR2	EILPGSGNTDFNEKFKG
6.	Ab-A HCDR3	WGYGTRGYFNV
7.	Ab-A biến đổi LC	QIVLTQSPAIMASAPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKLIWYSTSNLASGVPARFSGSGTSYSLTISRME AEDAATYCCQRRSFPTYFEGGGTKLEIK
8.	Ab-A LCDR1	SASSSVSYMH
9.	Ab-A LCDR2	STSNLAS
10.	Ab-A LCDR3	QQRRSFPYT
11.	Ab-A1/A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ LCDR1	RASSSVSYMH

HÌNH 19 Tiếp

12.	Ab-A1/A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ LCDR2	STSNLAS
13.	Ab-A1/A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ LCDR3	QQRRSFPYT
14.	Ab-A1/A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ HCDR1	TYWIE
15.	Ab-A1 Xmab ²⁺¹ HCDR2	EILPGSGNTDFNEKFQG
16.	Ab-A1/A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ HCDR3	WGYGTRGYFNV
17.	Ab-A1/A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ chuỗi nhẹ	MGWSCILFLVATATGVHSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVSMHWFQQKPGQAPRLIYSTSNLASGIPAR FSGSGGTDTLTISILEPEDFAVYYCQQRSPFTFGQGTLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
18.	Ab-A1 Xmab ²⁺¹ chuỗi nặng	MGWSCILFLVATATGVHSEQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTYIEWVRQAPGQRLEWMGEILPGSG NTDFNEKFQGRVFTADTSSDTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWGYGTRGYFNVWGGTLTVTSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPS DTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEENSTYRVSVLTVLTQDVLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVWYTLPPSREEMTKN QVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEEQGVFSCSVMEALHNHYT QKSLSPGK
19.	Ab-A1 Xmab ²⁺¹ XVHMx	MGWSCILFLVATATGVHSEQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTYIEWVRQAPGQRLEWMGEILPGSG NTDFNEKFQGRVFTADTSSDTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWGYGTRGYFNVWGGTLTVTSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNVRQAPGKGLWVGRI RSKYNNTATYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNGFSDSYSWFAYWGGTLTVTSSG KPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTTLTSGSSTGAVTTSYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKR APGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYNSHNWVFGGGTKLTVLGGGGGGGGSKTHTCPCPAPP VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVWSVLTVLH QDVLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVWYTLPPSREEMTKNQVCLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSPGK

HÌNH 19 Tiếp

20.	Ab-A2 (N67Q) X _{mab} ²⁺¹ XVHMx	MIDMRVPAQLLGLLLWLRGARCQVLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSTYWIIEWVRQAPGQRLEWMGEIL PGSGQTDENEKFGGRVTFADTSSDTAYMELSSLRSEDTAVYCTRWGYGTRGYFNWVGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSWTVTPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSTYAMNWNWVRQAPGKGLEW VGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWVGQGLTVTV SSGKPGSGKPGSGKPGSGQAQVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTN KRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGLTVLGGGGSGGGGSKTHTCPPCPA PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
21.	Ab-A2 (N67Q) X _{mab} ²⁺¹ HCDR2 (tất cả các CDR khác giống như Ab-A1 X _{mab} ²⁺¹)	EILPGSGQTDENEKFGQ
22.	Ab-B1 biến đổi chuỗi nặng	QIQLVQSGPELKPGETVKISKASGYFTNYGMNWKQAPGKGLQWMGMWMTYTGEPTYADDFKGRFAFSLET SARTVSLDINDLKNEDTATYFCTRAGGQLRPGAMDYWGQGTSVTVSS
23.	Ab-B1 HCDR1	NYGMN
24.	Ab-B1 HCDR2	WMNTYTGEPTYADDFKG
25.	Ab-B1 HCDR3	AGGQLRPGAMDY
26.	Ab-B1 biến đổi chuỗi nhẹ	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSDYDGDGDSFMNWNWYQQKPGQPKLLIYVASNILESIPDRFSGSGSGTDFLTN IHPVEEEDAATYCCQQSNEEPPTFGGGTKLEIK
27.	Ab-B1 LCDR1	KASQSDYDGDGDSFMN
28.	Ab-B1 LCDR2	VASNLES
29.	Ab-B1 LCDR3	QQSNEEPPT
30.	Ab-B1 X _{mab} ²⁺¹	KASQSDYDGDGDSFMN

HÌNH 19 Tiếp

	LCDR1	
31.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ LCDR2	VASNLES
32.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ LCDR3	QQSNEEPPT
33.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ HCDR1	NYGMN
34.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ HCDR2	WMNTYTGEPTYADKFQ
35.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ HCDR3	AGGQLRPGAMIDY
36.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ Chuỗi nhẹ	MGWSCILFLVATATGVHSDIVLTQTPLSLVTPGQPASISCKASQSDYDGDGFMNWWYLQKPGQPPQQLIYVASNL ESGVDPDRFSGSGGTDFTLKISRVEADVGYYCQQSNEEPPTFGQGTLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVW CLLNFPYFREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGE
37.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ Chuỗi nặng	MGWSCILFLVATATGVHSEIQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGYTFTNYGMNWWVQQAPGQGLEWMGMWMTNTY TGEPTYADKFQGRVFTFLDTSARTVYMELSSLRSEDTAVYFCARAGGQLRPGAMDYWGQGTMTVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKHTHTCPCPAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVSVLTVLDHQLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP PSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQQDVFSCSV HEALHNHYTQKSLSLSPGK
38.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ XMVHx	MGWSCILFLVATATGVHSEIQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGYTFTNYGMNWWVQQAPGQGLEWMGMWMTNTY TGEPTYADKFQGRVFTFLDTSARTVYMELSSLRSEDTAVYFCARAGGQLRPGAMDYWGQGTMTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASGFTFTSTYAMNWWVRQAPGKGLEWV GRIRSKYNNYATYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMINSIRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGGGTLTVTS SGKPGSGKPGSGKPGSGQAQVVTQEPSTVSPGGTTLTCGSSGTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTN KRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYNSNHWVFGGGTKLTVLGGGGGGGGGSKTHTCPPCPA PPVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVL HQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
39.	Kháng CD3 H1_L1.4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASGFTFTSTYAMNWWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMINSIRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGGGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGQAQV

HÌNH 19 Tiếp

		TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTGNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
40.	Kháng CD3 H1_L1.4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNNVVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVWFAYWQQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTGNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
41.	Kháng CD3 H1_L1.4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNNVVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVWFAYWQQGLTVTVSS
42.	Kháng CD3 H1_L1.4	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTGNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALT SGAQPEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
43.	Kháng CD3 H1.30_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNNVVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVWFAYWQQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTGNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
44.	Kháng CD3 H1.30_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNNVVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVWFAYWQQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTGNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
45.	Kháng CD3 H1.30_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNNVVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVWFAYWQQGLTVTVSS
46.	Kháng CD3 H1.30_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTGNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALT SGAQPEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
47.	Kháng CD3 H1.33_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNNVVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVWFAYWQQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTGNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
48.	Kháng CD3 H1.33_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNNVVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVWFAYWQQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTGNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
49.	Kháng CD3 H1.33_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNNVVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVWFAYWQQGLTVTVSS
50.	Kháng CD3 H1.33_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTGNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALT SGAQPEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

HÌNH 19 Tiếp

51.	Kháng CD3 H1.31_L147	EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDD SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSFWAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV QEPLSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQP EDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
52.	Kháng CD3 H1.31_L147	EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDD SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSFWAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV QEPLSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQP EDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
53.	Kháng CD3 H1.31_L147	EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDD SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSFWAYWGQGLTVTVSS
54.	Kháng CD3 H1.31_L147	QAVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALT SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
55.	Kháng CD3 H1.32_L147	EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSFWAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
56.	Kháng CD3 H1.32_L147	EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSFWAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
57.	Kháng CD3 H1.32_L147	EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSFWAYWGQGLTVTVSS
58.	Kháng CD3 H1.32_L147	QAVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALT SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
59.	Kháng CD3 H1.88_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGPSYVSFWAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
60.	Kháng CD3 H1.88_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGPSYVSFWAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
61.	Kháng CD3 H1.88_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGPSYVSFWAYWGQGLTVTVSS

HÌNH 19 Tiếp

62.	Kháng CD3 H1.88_L1.47	QAVTQEPSLTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
63.	Kháng CD3 H1.89_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
64.	Kháng CD3 H1.89_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
65.	Kháng CD3 H1.89_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDEYVSWFAYWGQGLTVTVSS
66.	Kháng CD3 H1.89_L1.47	QAVTQEPSLTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
67.	Kháng CD3 H1.90_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDPYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
68.	Kháng CD3 H1.90_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDPYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
69.	Kháng CD3 H1.90_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDPYVSWFAYWGQGLTVTVSS
70.	Kháng CD3 H1.90_L1.47	QAVTQEPSLTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
71.	Kháng CD3 H1.91_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
72.	Kháng CD3 H1.91_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWVRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

HÌNH 19 Tiếp

73.	Kháng CD3 H1.91_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLIEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS
74.	Kháng CD3 H1.91_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
75.	Kháng CD3 H1.92_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLIEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
76.	Kháng CD3 H1.92_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLIEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
77.	Kháng CD3 H1.92_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLIEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS
78.	Kháng CD3 H1.92_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
79.	Kháng CD3 H1.93_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLIEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGESYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
80.	Kháng CD3 H1.93_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLIEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGESYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
81.	Kháng CD3 H1.93_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLIEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGESYVSWFAYWGQGLTVTVSS
82.	Kháng CD3 H1.93_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
83.	Kháng CD3 H1.94_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLIEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
84.	Kháng CD3 H1.94_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMINWVRQAPGKGLIEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRD DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV

HÌNH 19 Tiếp

		TQEPSLTVSPGGTTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
85.	Kháng CD3 H1.94_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSVSWFAYWGQGLTVTVSS
86.	Kháng CD3 H1.94_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALT SGAQPEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
87.	Kháng CD3 H1.96_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDNVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
88.	Kháng CD3 H1.96_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDNVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
89.	Kháng CD3 H1.96_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDNVSWFAYWGQGLTVTVSS
90.	Kháng CD3 H1.96_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALT SGAQPEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
91.	Kháng CD3 H1.97_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDQYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
92.	Kháng CD3 H1.97_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDQYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
93.	Kháng CD3 H1.97_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDQYVSWFAYWGQGLTVTVSS
94.	Kháng CD3 H1.97_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALT SGAQPEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
95.	Kháng CD3 H1.98_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNNWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

HÌNH 19 Tiếp

96.	Kháng CD3 H1.98_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIIRSKANNYATYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVWFYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYNSHNWVFGGGTKLTVL
97.	Kháng CD3 H1.98_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIIRSKANNYATYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVWFYWGQGLTVTVSS
98.	Kháng CD3 H1.98_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALT SGAQPEDEADYYCALWYNSHNWVFGGGTKLTVL
99.	Kháng CD3 H1.99_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIIRSKANNYATYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVWFYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYNSHNWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
100.	Kháng CD3 H1.99_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIIRSKANNYATYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVWFYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYNSHNWVFGGGTKLTVL
101.	Kháng CD3 H1.99_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIIRSKANNYATYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVWFYWGQGLTVTVSS
102.	Kháng CD3 H1.99_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALT SGAQPEDEADYYCALWYNSHNWVFGGGTKLTVL
103.	Kháng CD3 H1.100_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIIRSKANNYATYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGASVSWFDFYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYNSHNWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
104.	Kháng CD3 H1.100_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIIRSKANNYATYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGASVSWFDFYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYNSHNWVFGGGTKLTVL
105.	Kháng CD3 H1.100_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIIRSKANNYATYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGASVSWFDFYWGQGLTVTVSS
106.	Kháng CD3 H1.100_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALT SGAQPEDEADYYCALWYNSHNWVFGGGTKLTVL
107.	Kháng CD3 H1.101_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIIRSKANNYATYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGQSVSWFDFYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV

HÌNH 19 Tiếp

		TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
108.	Kháng CD3 H1.101_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGSYVSFEDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
109.	Kháng CD3 H1.101_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGSYVSFEDYWGQGLTVTVSS
110.	Kháng CD3 H1.101_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAALT SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
111.	Kháng CD3 H1.102_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDEYVSFEDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
112.	Kháng CD3 H1.102_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDEYVSFEDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
113.	Kháng CD3 H1.102_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDEYVSFEDYWGQGLTVTVSS
114.	Kháng CD3 H1.102_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAALT SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
115.	Kháng CD3 H1.103_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDNVYVSFEDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
116.	Kháng CD3 H1.103_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDNVYVSFEDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
117.	Kháng CD3 H1.103_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDNVYVSFEDYWGQGLTVTVSS
118.	Kháng CD3 H1.103_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAALT SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

HÌNH 19 Tiếp

119.	Kháng CD3 H1.104_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNNVVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDPYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAAALTS GAQPEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
120.	Kháng CD3 H1.104_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNNVVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDPYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAAALTS GAQPEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
121.	Kháng CD3 H1.104_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNNVVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDPYVSWFDYWGQGLTVTVSS
122.	Kháng CD3 H1.104_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAAAL TISGAQPEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
123.	Kháng CD3 H1.105_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNNVVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDPYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV VTQEPSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAAALTS GAQPEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
124.	Kháng CD3 H1.105_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNNVVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDPYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV VTQEPSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAAALTS GAQPEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
125.	Kháng CD3 H1.105_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNNVVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDPYVSWFDYWGQGLTVTVSS
126.	Kháng CD3 H1.105_L1.47	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAAAL TISGAQPEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
127.	Kháng CD3 H1.106_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNNVVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDPYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAAALTS GAQPEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH
128.	Kháng CD3 H1.106_L1.47 (ScFv)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNNVVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDPYVSWFDYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGINKRAPGVPARFSGSLGGKAAALTS GAQPEDEADYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
129.	Kháng CD3 H1.106_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNNVVRQAPGKLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDPYVSWFDYWGQGLTVTVSS

HÌNH 19 Tiếp

130.	Kháng CD3 H1.106_L1.47	QAVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SGAQPEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
131.	Kháng CD3 H1.107_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGASYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
132.	Kháng CD3 H1.107_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGASYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
133.	Kháng CD3 H1.107_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGASYVSWFAYWGQGLTVTVSS
134.	Kháng CD3 H1.107_L1.47	QAVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SGAQPEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
135.	Kháng CD3 H1.108_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGASYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
136.	Kháng CD3 H1.108_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGQSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
137.	Kháng CD3 H1.108_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGQSYVSWFAYWGQGLTVTVSS
138.	Kháng CD3 H1.108_L1.47	QAVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTI SGAQPEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
139.	Kháng CD3 H1.109_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHH
140.	Kháng CD3 H1.109_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTTSNYANWVQQPKGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQ PEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

HÌNH 19 Tiếp

141.	Kháng CD3 H1.109_L1.47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSTYAMNVRQAPGKGLVWVGRIRSKANNYATAYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGLTVTVSS
142.	Kháng CD3 H1.109_L1.47	QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGKAALTI SGAQPEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
143.	Cầu nối	GGGGGGGGGGGG
144.	Cầu nối Whitlow	GSTSGKPGSGEGSTKG
145.	Cầu nối	IRPRAIGGSKPRVA
146.	Cầu nối	GKGGSGKGGSGKGG
147.	Cầu nối	GGKSGGKGGSGGKGS
148.	Cầu nối	GGKSGGKGGSGGKGS
149.	Cầu nối	GKKGSGKGGSGKGS
150.	Cầu nối	GGKSGGKGGSGKGS
151.	Cầu nối	GKPGSGKPGSGKPGS
152.	Cầu nối	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS
153.	Cầu nối	GKKGSGKGGSGKGGSGKGS
154.	Cầu nối	GGGGGGGGGGGGGGGGGG
155.	Cầu nối	STAGDTHLGGEDFD
156.	Cầu nối	GGGGGGGGGGGG
157.	Cầu nối	GGGGGGGGGGGG
158.	Cầu nối	GGGGGGGGGGGG
159.	Cầu nối	GGGGGGGGGGGG
160.	Cầu nối	GGGGGGGGGGGG
161.	Cầu nối	GGGGGGGGGGGG
162.	Cầu nối	GGGGGGGGGGGG
163.	Cầu nối	GGGGGGGGGGGG
164.	Cầu nối	GGGGGGGGGGGG
165.	Cầu nối	GGGGGGGGGGGG
166.	Cầu nối	GGGGGGGGGGGG
167.	Cầu nối	GGGGGGGGGGGG
168.	Cầu nối	GGGGGGGGGGGG
169.	Ab-A1 XmAb ²⁺¹ , Ab-A2 (N67Q) XmAb ²⁺¹ , Ab-B1 XmAb ²⁺¹	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSTYAMNVRQAPGKGLVWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

HÌNH 19 Tiếp

	Kháng CD3, biến đổi chuỗi nặng	
170.	Ab-A1 XmAb ²⁺¹ , Ab-A2 (N67Q) XmAb ²⁺¹ , Ab-B1 XmAb ²⁺¹ Kháng CD3, HCDR1	TYAMN
171.	Ab-A1 XmAb ²⁺¹ , Ab-A2 (N67Q) XmAb ²⁺¹ , Ab-B1 XmAb ²⁺¹ Kháng CD3, HCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG
172.	Ab-A1 XmAb ²⁺¹ , Ab-A2 (N67Q) XmAb ²⁺¹ , Ab-B1 XmAb ²⁺¹ Kháng CD3, HCDR3	HGNFGDSYVSWFAY
173.	Ab-A1 XmAb ²⁺ , Ab-A2 (N67Q) XmAb ²⁺¹ , Ab-B1 XmAb ²⁺¹ Kháng CD3, biến đổi chuỗi nhẹ	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTI SGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL
174.	Ab-A1 XmAb ²⁺¹ , Ab-A2 (N67Q) XmAb ²⁺¹ , Ab-B1 XmAb ²⁺¹ Kháng CD3, LCDR1	GSSTGAVTTSNYAN
175.	Ab-A1 XmAb ²⁺¹ , Ab-A2 (N67Q) XmAb ²⁺¹ , Ab-B1 XmAb ²⁺¹ Kháng CD3, LCDR2	GTNKRAP
176.	Ab-A1 XmAb ²⁺¹ , Ab-A2 (N67Q) XmAb ²⁺¹ , Ab-B1 XmAb ²⁺¹ Kháng CD3, LCDR3	ALWYSNHHWV
177.	STEAP2 - người	MESISMMGSPKSLSETFLPNGINGIKDARKVTVGVIGSGDFAKSLTIRLCGYHVVIGS RNPKFASEFFPHVVDVTHHEDALTKNIIFVAIHREHYTSLWDLRHLVGGKILIDVSNM RINQYPSNAEYLASLFPDSLIVKGFNVVSAWALQLGPKDASRQVYICSNNIQARQQVIE

HÌNH 19 Tiếp

		LARQLNFIPIDLGSLSSAREIENLRLFTLWRGPVWVAISLATFFFLYSFVRDVIHPYA RNQSDFYKPIEIVNKTLPVAVITLLSVYLAGLAAAYQLYGTKYRRFPFWLETWLQ CRKQLGLSFFAMVHVAYSCLIPMRRSERYFLNMAYQQVHANIEVSWNEEEVWRIEMY ISFGIMSLGLLSLAVTSIPSVSNALNWREFSFIQSTLGYVALLISTFHVLIYGWKRAFE EEYRYFTPPNFVLALVLPISVILGKIILFLPCISRKLRKRIKKGWKESQFLEEGMGGTIP HVSPERVTVM
178.	Cầu nối	GSGS
179.	Cầu nối	GGGS
180.	Cầu nối	GGGS
181.	Cầu nối	GFLG
182.	Ab-A1 Xmab ²⁺¹ biến đổi chuỗi nặng	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSTYWIEWVVRQAPGQRLEWMGEILPGSGNTDFNEKFQGRVFTTADTS SDTAYMELSSLRSEDATVYCTRWGYGTRGVFNWVGQGLTVTVSS
183.	Ab-A1/A2(N67Q) Xmab ²⁺¹ biến đổi chuỗi nhẹ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSVSYMHWFQKPGQAPRLIYSTNSLASGIPARFSGSGSDTYTLTISSLEPE DFAVYQCQRRSFYTFGQGTKLEIK
184.	Ab-A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ biến đổi chuỗi nặng	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSTYWIEWVVRQAPGQRLEWMGEILPGSGQTDNEKFQGRVFTTADTS SDTAYMELSSLRSEDATVYCTRWGYGTRGVFNWVGQGLTVTVSS
185.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ biến đổi chuỗi nặng	EIQLVQSGAEVKKPGATVKISCKASGYTFITNYGMNWWQAPGQGLEWMGMWMTNTYGEPTYADKFQGRVFTTLD TSARTVYMELSSLRSEDATVYFCARAGGQLRPGAMDYWGQGTMTVTVSS
186.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ biến đổi chuỗi nhẹ	DIVLTQTPLSLVTPGQPASISCKASQSDYDGDGDFMNNWYLQKPGQPPQLLIYVASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLK ISRVEAEDVGVYCCQSNEEPTFGQGTKLEIK
187.	PD-1 người	PGWFLDSPDRPWNPPTFSALLVVTEDGNATFTCSFNTSEFVLNWWYRMSPSNQTDKLAAPEDRSQPGQDCRF RVTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSTGLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTTERRAEVPTAHPSPRPAGQFQTLVVG VVGGLGSLVLLVWVLAVICSRARAGTIGARTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGEIDFQWREKTPPEPPVPCVPEQTEYA TIVFPSGMGTSSPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL
188.	PD-1 khỉ cynomologous	MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLESPDRPWNPAPTSPALLVVTEDGNATFTCSFNTSEFVLNWWYRMSPS NQTDKLAAPEDRSQPGQDCRFVTRLPNGRDFHMSVVRARRNDSTGLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTTERRAE VPTAHPSPRPAGQFQALVGVVGGLLGSLVLLVWVLAVICSRARAGTIGARTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGEID FQWREKTPPEPPAPCVPEQTEYATIVFPSGLGTSSPARRGSADGPRSRPLRPEDGHCSWPL
189.	HC kháng thể kháng PD-1	SYDMS

HÌNH 19 Tiếp

	CDR1	
190.	HC kháng thể kháng PD-1 CDR2	LISGGGQTYAESVK
191.	HC kháng thể kháng PD-1 CDR3	PSGHYFYAMDV
192.	LC kháng thể kháng PD-1 CDR1	RASQGISNWLA
193.	LC kháng thể kháng PD-1 CDR2	AASSLQS
194.	LC kháng thể kháng PD-1 CDR3	QQAESFPHT
195.	HC kháng thể kháng PD-1 BIẾN ĐỔI	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYDMSWVRQAPGKGLWVSLISGGGQTYAESVKGRFTISRDN NTLYLQMNSLRAEDTAVYFCASPSGHYFYAMDVWGQGTTVTVSS
196.	LC kháng thể kháng PD-1 BIẾN ĐỔI	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIFAAASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQAESFPHTFGGGTKVEIK
197.	HC kháng thể kháng PD-1 CHIỀU DÀI ĐẦY ĐỦ	MDMRVPAQLLGLLLWLRGARCEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYDMSWVRQAPGKGLWVSLISG GGSQTYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCASPSGHYFYAMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHNK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVAVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYVTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHN HYTQKSLSPGK
198.	LC kháng thể kháng PD-1	MDMRVPAQLLGLLLWLRGARCDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIFAASSL QSGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQAESFPHTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV

HÌNH 19 Tiếp

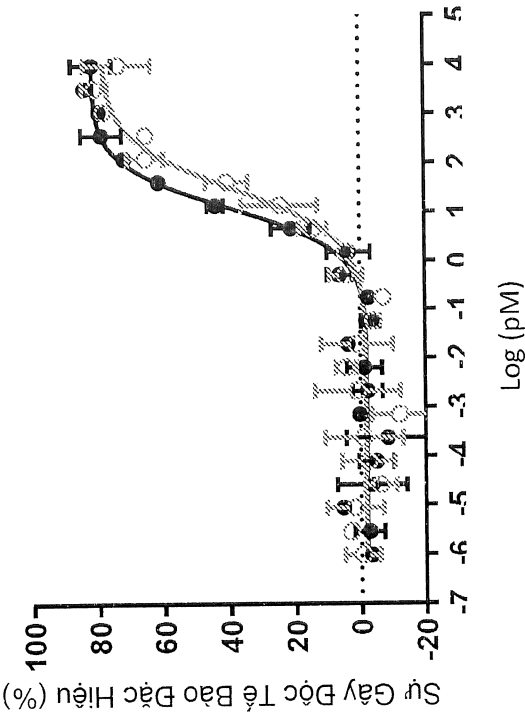
	CHIỀU DÀI ĐÂY ĐỦ	CLLNFPYBREAKVQWVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKKHYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC
199.	Ab-A2 (N67Q) Xmab 2+1 chuỗi nặng	MDMRVPAQLLLGLLLWLRGARCQQLVQSGAEVKVQSGASVKVCKASGYTFSTYWIWVRQAPQQRLEWMGEIL PGSGQTDfNEKFQGRVFTADTSSDAYMELSSLRSEDtAVYCTRWGYGTRGFNVWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWVYVDG VEVHNAKTKPCEEEYGSTYRCVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKISAKGQPREPQVYVTLPPSREEMT KNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
200.	Ab-A1/A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ trình tự tín hiệu âm chuỗi nhẹ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSVSMHWFQQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPARFSGSGSDTYLTISLSLEPE DFAVYCCQRRSFYTFGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKKHYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
201.	Ab-A1 Xmab ²⁺¹ trình tự tín hiệu âm chuỗi nặng	QVQLVQSGAEVKVQSGASVKVCKASGYTFSTYWIWVRQAPQQRLEWMGEILPFGSGNTDFNEKFQGRVFTADTS SDTAYMELSSLRSEDtAVYCTRWGYGTRGFNVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKD YFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSDKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWVYDGEVHNNAKTKPREEEYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKISAKGQPREPQVYVTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW ESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHVTQKSLSLSPGK
202.	Ab-A1 Xmab ²⁺¹ XVHMx trình tự tín hiệu âm	QVQLVQSGAEVKVQSGASVKVCKASGYTFSTYWIWVRQAPQQRLEWMGEILPFGSGNTDFNEKFQGRVFTADTS SDTAYMELSSLRSEDtAVYCTRWGYGTRGFNVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKD YFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSDKVDKKVEPKSCGGGGS GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRSCAASGFTFTYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDSKNTLYLQMNSLRAEDtAVYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGKPG SQAWVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAL TISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLPPKPKDTLMIS

HÌNH 19 Tiếp

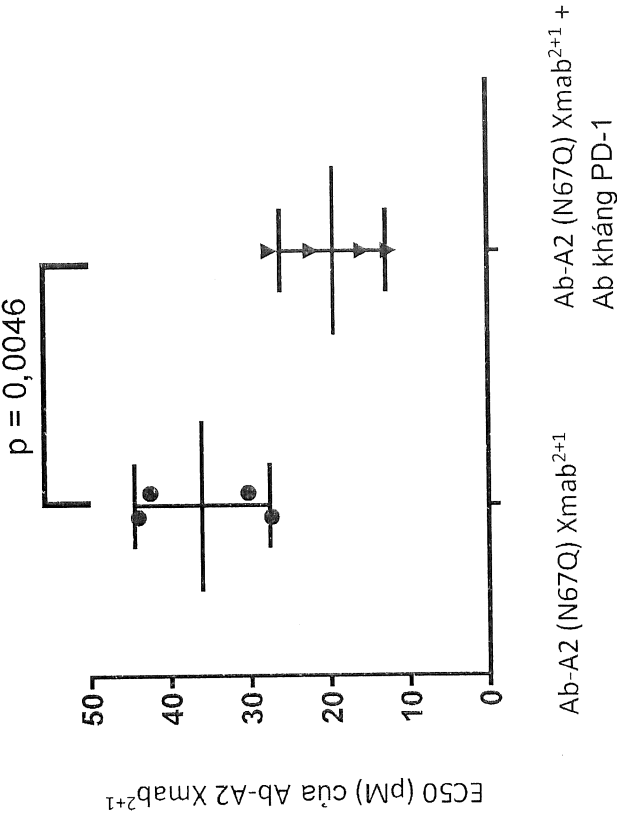
		RTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWVVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLY SKLTVDSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
203.	Ab-A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ trình tự tín hiệu âm chuỗi nặng	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSTYIEWVRQAPGQRLEWMGEILPGSGQTDFNEKFQGRVTFITADTS SDTAYMELSLRSED TAVYCYTRWGGYGRYFNVWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDGLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWVVDGVEVHNAKTPCEEYGSTYRCVS VLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEW ESDGPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDSRWEEQGVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
204.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ trình tự tín hiệu âm chuỗi nhẹ	DIVLTQTPLSLVTPGGQPASISCKASQSDYDGDGSMFNWYLQKGPQPPQLIYVASNILESQVDPDRFSGSGSGTDFTLK ISRVEAEDVGVYCCQQSNEEPPTFGQGTGLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
205.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ trình tự tín hiệu âm chuỗi nặng	QLVQSGAEVKKPGATVKISKASGYTFSTYGMNWWQQAPGQGLEWMGMWNTYTGEPTYADKFQGRVTFITLDT SARTVYMELSLRSED TAVYFCARAGGQLRPGAMDYWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDGLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWVVDGVEVHNAKTPREEYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVE WESDGPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDSRWEEQGVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
206.	Ab-B1 Xmab ²⁺¹ XMHx trình tự tín hiệu âm	QLVQSGAEVKKPGATVKISKASGYTFSTYGMNWWQQAPGQGLEWMGMWNTYTGEPTYADKFQGRVTFITLDT SARTVYMELSLRSED TAVYFCARAGGQLRPGAMDYWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGG GSGGGGSEVQLVFGGGLVQPGGSLRSCAASGFTSTYAMNWRQAPGKGLWVGRIRSKYNNYATYYADSVK GRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCYVRHNGFSDYSVWFAYWQQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGK PGSQAAWTQEPSTLTVSPGGTTLTCGSTGAVTTSNYANWVQKPGKPRGLIGTNKRAPGVPARFSGSLGGKA ALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGGGGGGGSKTHCTPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDGL MISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWVVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
207.	Ab-A2 (N67Q) Xmab ²⁺¹ XVHMx	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSTYIEWVRQAPGQRLEWMGEILPGSGQTDFNEKFQGRVTFITADTS SDTAYMELSLRSED TAVYCYTRWGGYGRYFNVWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD

HÌNH 19 Tiếp

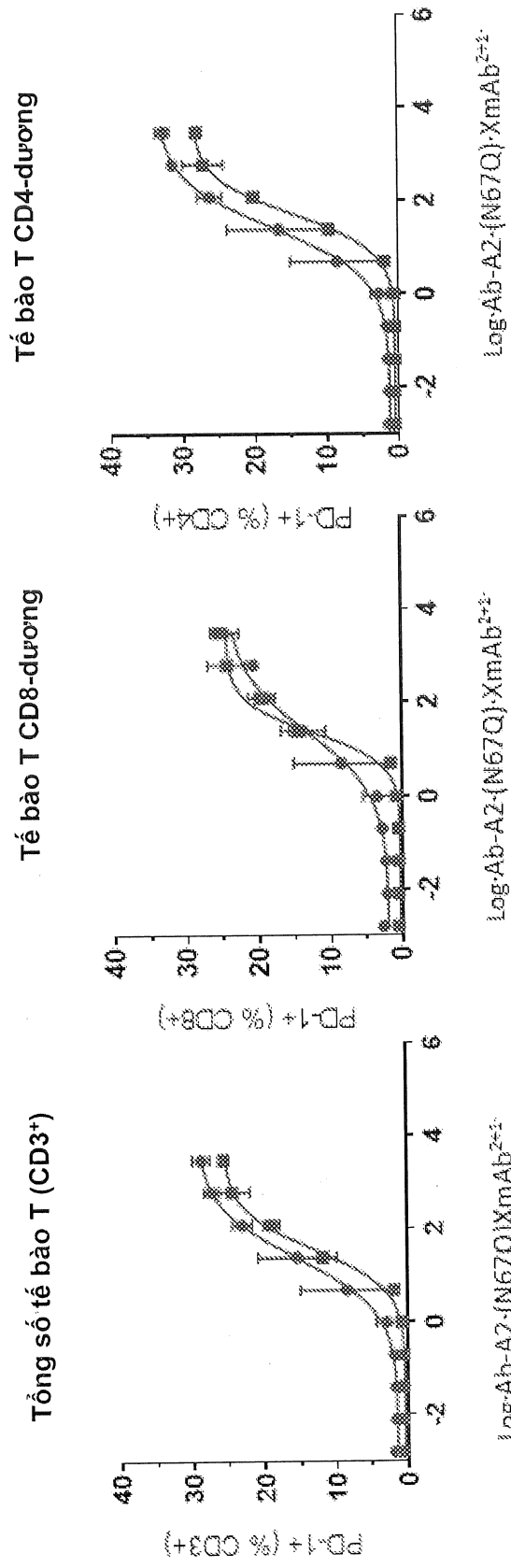
	trình tự tín hiệu âm	YFEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIKSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCVRHGNFGDSVSWFAYWGGQTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYICALWYSNHWVFGGGTKLTVLGGGGGGGGGSKTHTCPPCAPPVAGPSVFLFPKPKDTLMISRTEVTCVVDVKKHEDPEVKFNWVVDGVEVHNATKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVTKLTVLKGFYPSDIAVEWESNGQPENNNYKTTTPVLDSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
208.	HC kháng thể kháng PD-1 trình tự tín hiệu âm CHIỀU DÀI ĐẦY ĐỦ.	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSVDMSWVRQAPGKGLEWVSIISGGGSQTYIAESVKGRFTISRDNSTNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCASPSGHYFYAMDVWGQGTITVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTEPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWVVDGVEVHNATKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNNYKTTTPVLDSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
209.	LC kháng thể kháng PD-1 trình tự tín hiệu âm CHIỀU DÀI ĐẦY ĐỦ.	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPKGAPKLLIFAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQAESFPHTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC



HÌNH 20A



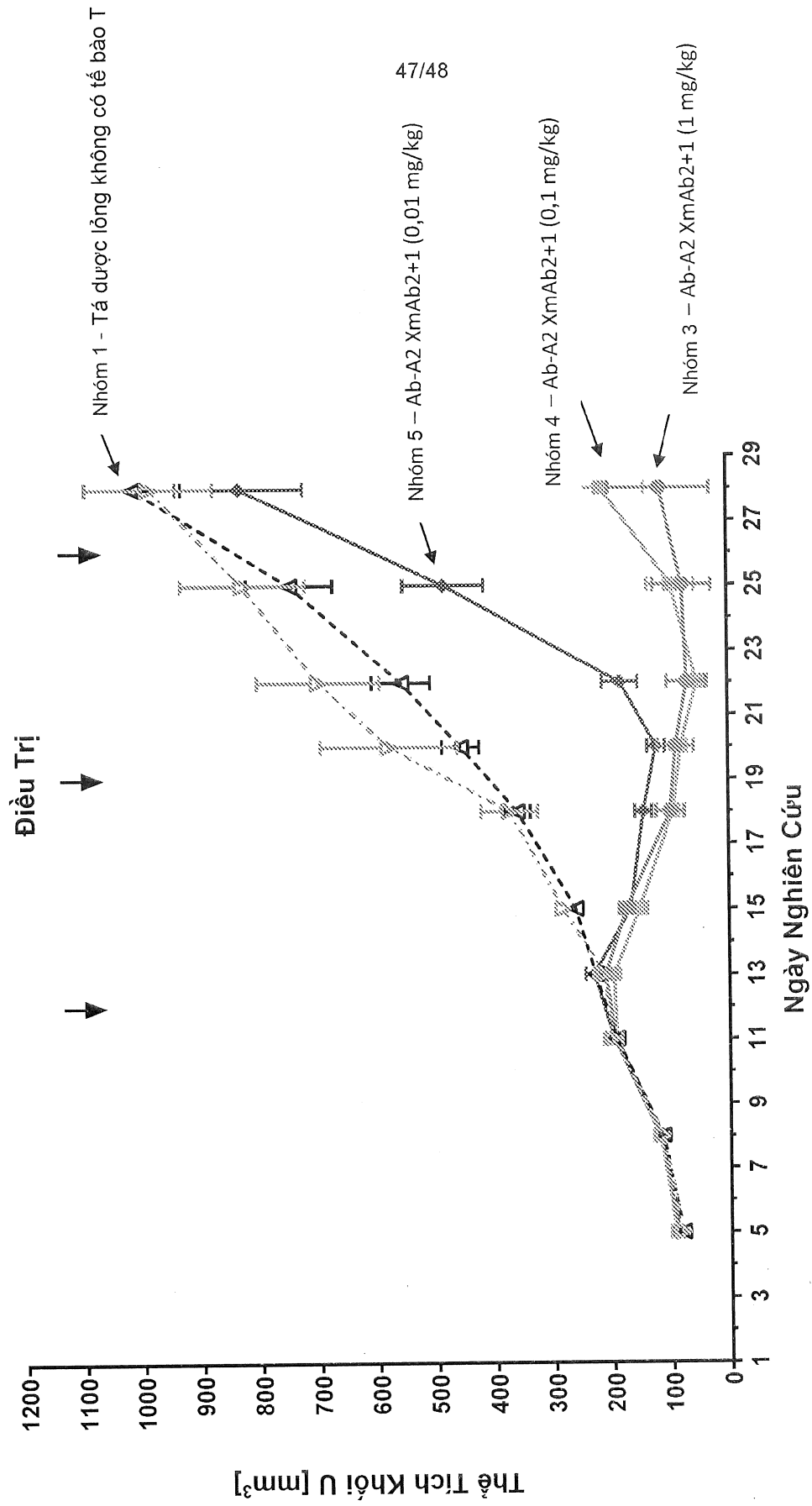
HÌNH 20B



HÌNH 21A

HÌNH 21B

HÌNH 21C



HÌNH 22

HÌNH 23. Thể Tích Khối U Nguyên Bảo Thân Kinh Người SK-N-MC Trung Bình Và Trung Vị Ở Chuột Nhắt NOD/SCID Cái

Nhóm Dùng Liệu	Thông Số	Thể Tích Khối U [mm ³]											
		Ngày 5	Ngày 8	Ngày 11	Ngày 13	Ngày 15	Ngày 18	Ngày 20	Ngày 22	Ngày 25	Ngày 28		
1 Tá được lồng không có tế bào T	Trung bình	81,42	115,24	198,79	212,62	282,70	373,05	578,73	698,38	827,31	985,94		
	Trung vị	90,28	122,85	203,63	229,86	286,81	323,09	563,09	598,48	673,42	885,10		
	SEM	9,84	10,43	15,69	18,48	12,75	48,70	117,46	104,52	106,45	108,87		
	Con [N]	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5		
Mức ý nghĩa		n.p.	n.p.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.		
2 Tá được lồng	Trung bình	81,70	115,59	192,91	227,63	260,98	360,22	456,04	557,15	746,68	1013,67		
	Trung vị	80,44	118,24	196,61	225,01	253,27	348,93	468,93	590,08	837,07	955,14		
	SEM	3,26	5,84	5,65	8,43	8,27	22,88	31,99	49,93	73,79	82,53		
	Con [N]	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10		
Mức ý nghĩa		n.p.	n.p.	n.s.	n.s.	***	***	***	***	***	***		
3 Ab-A2 XmAb2+1 (1,0 mg/kg)	Trung bình	90,20	116,48	194,16	210,85	174,59	98,67	89,06	69,26	76,53	114,65		
	Trung vị	87,90	115,14	197,87	206,94	166,09	78,41	59,90	33,53	27,07	29,77		
	SEM	6,06	6,83	5,86	10,05	12,61	24,54	30,99	34,20	49,48	85,58		
	Con [N]	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10		
Mức ý nghĩa		n.p.	n.p.	n.s.	n.s.	***	***	***	***	***	***		
4 Ab-A2 XmAb2+1 (0,1 mg/kg)	Trung bình	92,85	120,80	192,45	196,10	152,32	94,10	80,21	52,33	96,21	214,04		
	Trung vị	92,42	117,60	197,59	198,67	144,59	88,07	76,73	41,56	55,86	106,87		
	SEM	4,26	7,36	5,14	12,56	14,21	9,02	10,31	12,89	40,62	73,43		
	Con [N]	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10		
Mức ý nghĩa		n.p.	n.p.	n.s.	n.s.	***	***	***	***	***	***		
5 Ab-A2 XmAb2+1 (0,01 mg/kg)	Trung bình	88,12	120,82	196,68	230,31	168,00	145,00	122,92	183,51	484,07	832,45		
	Trung vị	90,29	119,04	200,97	217,31	150,74	121,75	115,60	202,07	431,89	867,08		
	SEM	5,07	7,38	5,23	15,01	13,55	14,25	14,81	29,98	69,24	109,11		
	Con [N]	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10		
Mức ý nghĩa		n.p.	n.p.	n.s.	n.s.	***	***	***	***	*	n.s.		

ANOVA một chiều và sự đánh giá kết quả thí nghiệm về sự tăng trưởng khối u bởi thử nghiệm sau Dunnett khi so sánh với nhóm 2; mức ý nghĩa: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$. Phân tích thống kê từ ngày 11 (một ngày trước khi bắt đầu điều trị) đến ngày 28.

N = số con; n.p. = không có ý nghĩa thống kê; SEM = sai số chuẩn của giá trị trung bình; w/o = không có

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> AMGEN INC.

<120> Protein liên kết kháng nguyên đặc hiệu kép mà liên kết STEAP1 và được phẩm chứa protein này

<130> 32512/52601/US

<150> PCT/US2019/040296

<151> 2019-07-02

<150> US 62/693216

<151> 2018-07-02

<150> US 62/800,259

<151> 2019-02-01

<160> 214

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1

<211> 207

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Gln Ser Gly Thr His Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys Leu Leu Ser
1 5 10 15

Val Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr
20 25 30

Gln Thr Pro Tyr Lys Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr
35 40 45

Cys Pro Gln Tyr Pro Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys
50 55 60

Asn Ile Gly Gly Asp Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp
65 70 75 80

His Leu Ser Leu Lys Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr
85 90 95

Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu

100 105 110
 Tyr Leu Arg Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Val Met
 115 120 125
 Ser Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp Ile Cys Ile Thr Gly Gly Leu
 130 135 140
 Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys
 145 150 155 160
 Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn
 165 170 175
 Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg
 180 185 190
 Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile
 195 200 205
 <210> 2
 <211> 339
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 2
 Met Glu Ser Arg Lys Asp Ile Thr Asn Gln Glu Glu Leu Trp Lys Met
 1 5 10 15
 Lys Pro Arg Arg Asn Leu Glu Glu Asp Asp Tyr Leu His Lys Asp Thr
 20 25 30
 Gly Glu Thr Ser Met Leu Lys Arg Pro Val Leu Leu His Leu His Gln
 35 40 45
 Thr Ala His Ala Asp Glu Phe Asp Cys Pro Ser Glu Leu Gln His Thr
 50 55 60
 Gln Glu Leu Phe Pro Gln Trp His Leu Pro Ile Lys Ile Ala Ala Ile
 65 70 75 80

Ile Ala Ser Leu Thr Phe Leu Tyr Thr Leu Leu Arg Glu Val Ile His
85 90 95

Pro Leu Ala Thr Ser His Gln Gln Tyr Phe Tyr Lys Ile Pro Ile Leu
100 105 110

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

Val Tyr Leu Pro Gly Val Ile Ala Ala Ile Val Gln Leu His Asn Gly
130 135 140

Thr Lys Tyr Lys Lys Phe Pro His Trp Leu Asp Lys Trp Met Leu Thr
145 150 155 160

Arg Lys Gln Phe Gly Leu Leu Ser Phe Phe Phe Ala Val Leu His Ala
165 170 175

Ile Tyr Ser Leu Ser Tyr Pro Met Arg Arg Ser Tyr Arg Tyr Lys Leu
180 185 190

Leu Asn Trp Ala Tyr Gln Gln Val Gln Gln Asn Lys Glu Asp Ala Trp
195 200 205

Ile Glu His Asp Val Trp Arg Met Glu Ile Tyr Val Ser Leu Gly Ile
210 215 220

Val Gly Leu Ala Ile Leu Ala Leu Leu Ala Val Thr Ser Ile Pro Ser
225 230 235 240

Val Ser Asp Ser Leu Thr Trp Arg Glu Phe His Tyr Ile Gln Ser Lys
245 250 255

Leu Gly Ile Val Ser Leu Leu Leu Gly Thr Ile His Ala Leu Ile Phe
260 265 270

Ala Trp Asn Lys Trp Ile Asp Ile Lys Gln Phe Val Trp Tyr Thr Pro
275 280 285

Pro Thr Phe Met Ile Ala Val Phe Leu Pro Ile Val Val Leu Ile Phe
290 295 300

Lys Ser Ile Leu Phe Leu Pro Cys Leu Arg Lys Lys Ile Leu Lys Ile
 305 310 315 320

Arg His Gly Trp Glu Asp Val Thr Lys Ile Asn Lys Thr Glu Ile Cys
 325 330 335

Ser Gln Leu

<210> 3
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Chuột nhắt nhà

<400> 3

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

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

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

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

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

Met His Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val Trp Gly
 100 105 110

Ala Gly Ser Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 4

<211> 5
 <212> PRT
 <213> Chuột nhắt nhà

<400> 4

Thr Tyr Trp Ile Glu
 1 5

<210> 5
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Chuột nhắt nhà

<400> 5

Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 6
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Chuột nhắt nhà

<400> 6

Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val
 1 5 10

<210> 7
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Chuột nhắt nhà

<400> 7

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

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
 35 40 45

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala Glu
 65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Arg Ser Phe Pro Tyr Thr
 85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 8
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Chuột nhắt nhà

<400> 8

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
 1 5 10

<210> 9
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Chuột nhắt nhà

<400> 9

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
 1 5

<210> 10
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Chuột nhắt nhà

<400> 10

Gln Gln Arg Arg Ser Phe Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 11
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 11

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
1 5 10

<210> 12

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Gln Gln Arg Arg Ser Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 14

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Thr Tyr Trp Ile Glu
1 5

<210> 15

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 16
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 16

Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val
 1 5 10

<210> 17
 <211> 232
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 17

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

Val His Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu
 20 25 30

Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val
 35 40 45

Ser Tyr Met His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu
 50 55 60

Leu Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe
 65 70 75 80

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
 85 90 95

Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Arg Ser Phe
 100 105 110

Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val
 115 120 125

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
 130 135 140

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
145 150 155 160

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
165 170 175

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
195 200 205

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
210 215 220

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 18
<211> 469
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18

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

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

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

Glu Trp Met Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asp Phe Asn
65 70 75 80

Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn
 115 120 125

Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
 195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
 210 215 220

Val Asn His Lys Pro Ser Asp Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
 225 230 235 240

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro
 245 250 255

Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 260 265 270

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 275 280 285

Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 290 295 300

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Glu Tyr Asn Ser
 305 310 315 320

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 325 330 335

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 340 345 350

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 355 360 365

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 370 375 380

Val Ser Leu Thr Cys Asp Val Ser Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 385 390 395 400

Val Glu Trp Glu Ser Asp Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 405 410 415

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 420 425 430

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Glu Gln Gly Asp Val Phe Ser Cys Ser
 435 440 445

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 450 455 460

Leu Ser Pro Gly Lys
 465

<210> 19
 <211> 742
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 19

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

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

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

Glu Trp Met Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asp Phe Asn
65 70 75 80

Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn
115 120 125

Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
145 150 155 160

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
210 215 220

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro

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

Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 450 455 460

Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Pro
 465 470 475 480

Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp
 485 490 495

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser
 500 505 510

Gly Gly Gly Gly Ser Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 515 520 525

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 530 535 540

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 545 550 555 560

Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 565 570 575

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 580 585 590

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 595 600 605

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 610 615 620

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 625 630 635 640

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Gln Met Thr Lys Asn
 645 650 655

Gln Val Lys Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

660 665 670
 Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 675 680 685
 Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 690 695 700
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 705 710 715 720
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 725 730 735
 Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 740
 <210> 20
 <211> 745
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 20
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
 20 25 30
 Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
 35 40 45
 Tyr Thr Phe Ser Thr Tyr Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 50 55 60
 Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Gln Thr
 65 70 75 80
 Asp Phe Asn Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr
 85 90 95

Ser Ser Asp Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
 100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly
 115 120 125

Tyr Phe Asn Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
 130 135 140

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 165 170 175

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 180 185 190

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 195 200 205

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 210 215 220

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
 225 230 235 240

Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 245 250 255

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 260 265 270

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 275 280 285

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 290 295 300

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 305 310 315 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 325 330 335

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 340 345 350

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 355 360 365

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 370 375 380

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 385 390 395 400

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 405 410 415

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 420 425 430

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 435 440 445

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 450 455 460

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 465 470 475 480

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 485 490 495

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
 500 505 510

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 515 520 525

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 530 535 540

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 545 550 555 560

Val Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 565 570 575

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
 580 585 590

Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 595 600 605

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 610 615 620

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 625 630 635 640

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Gln Met
 645 650 655

Thr Lys Asn Gln Val Lys Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 660 665 670

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 675 680 685

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 690 695 700

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 705 710 715 720

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 725 730 735

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 740 745

<210> 21
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 21

Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Gln Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 22
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Chuột nhắt nhà

<400> 22

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

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

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

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

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

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

Thr Arg Ala Gly Gly Gln Leu Arg Pro Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 23
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Chuột nhắt nhà

<400> 23

Asn Tyr Gly Met Asn
 1 5

<210> 24
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Chuột nhắt nhà

<400> 24

Trp Met Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 25
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Chuột nhắt nhà

<400> 25

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

<210> 26
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Chuột nhắt nhà

<400> 26

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
 20 25 30

Gly Asp Ser Phe Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45

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

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

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

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

<210> 27
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Chuột nhắt nhà

<400> 27

Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Phe Met Asn
 1 5 10 15

<210> 28
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Chuột nhắt nhà

<400> 28

Val Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 1 5

<210> 29
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Chuột nhắt nhà

<400> 29

Gln Gln Ser Asn Glu Glu Pro Pro Thr
 1 5

<210> 30

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 30

Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Phe Met Asn
 1 5 10 15

<210> 31
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 31

Val Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 1 5

<210> 32
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 32

Gln Gln Ser Asn Glu Glu Pro Pro Thr
 1 5

<210> 33
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 33

Asn Tyr Gly Met Asn
 1 5

<210> 34
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 34

Trp Met Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 35
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 35

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

<210> 36
 <211> 237
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 36

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

Val His Ser Asp Ile Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val
 20 25 30

Thr Pro Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val
 35 40 45

Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Phe Met Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly
 50 55 60

Gln Pro Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Val Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly
 65 70 75 80

Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
 85 90 95

Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln
 100 105 110

Gln Ser Asn Glu Glu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu
 115 120 125

Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
 130 135 140

Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn
 145 150 155 160

Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
 165 170 175

Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
 180 185 190

Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
 195 200 205

Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
 210 215 220

Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

<210> 37
 <211> 469
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 37

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

Val His Ser Glu Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30

Pro Gly Ala Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45

Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Met Gly Trp Met Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala
 65 70 75 80

Asp Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Ala Arg
85 90 95

Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg Ala Gly Gly Gln Leu Arg Pro Gly Ala Met Asp
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
145 150 155 160

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
195 200 205

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
210 215 220

Val Asn His Lys Pro Ser Asp Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
225 230 235 240

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro
245 250 255

Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
260 265 270

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
275 280 285

Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val

290		295		300
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Glu Tyr Asn Ser				
305		310		315 320
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu				
	325		330	335
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala				
	340		345	350
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro				
	355		360	365
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln				
	370		375	380
Val Ser Leu Thr Cys Asp Val Ser Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala				
385		390		395 400
Val Glu Trp Glu Ser Asp Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr				
	405		410	415
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu				
	420		425	430
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Glu Gln Gly Asp Val Phe Ser Cys Ser				
	435		440	445
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser				
	450		455	460
Leu Ser Pro Gly Lys				
465				
<210>	38			
<211>	742			
<212>	PRT			
<213>	Homo sapiens			
<400>	38			

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

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
225 230 235 240

Lys Ser Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
245 250 255

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
260 265 270

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn
275 280 285

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile
290 295 300

Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
305 310 315 320

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
325 330 335

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val
340 345 350

Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp
355 360 365

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly
370 375 380

Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gln Ala
385 390 395 400

Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val
405 410 415

Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr
420 425 430

Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly Leu Ile
 435 440 445

Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 450 455 460

Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Pro
 465 470 475 480

Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp
 485 490 495

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser
 500 505 510

Gly Gly Gly Gly Ser Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 515 520 525

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 530 535 540

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 545 550 555 560

Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 565 570 575

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 580 585 590

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 595 600 605

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 610 615 620

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 625 630 635 640

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Gln Met Thr Lys Asn
 645 650 655

Gln Val Lys Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
660 665 670

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
675 680 685

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
690 695 700

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
705 710 715 720

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
725 730 735

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
740

<210> 39
<211> 262
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 39

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 Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr

				85					90					95			
Tyr	Cys	Val	Arg	His	Gly	Asn	Phe	Gly	Asp	Ser	Tyr	Val	Ser	Trp	Phe		
			100					105					110				
Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Lys	Pro		
		115					120						125				
Gly	Ser	Gly	Lys	Pro	Gly	Ser	Gly	Lys	Pro	Gly	Ser	Gly	Lys	Pro	Gly		
	130					135					140						
Ser	Gln	Ala	Val	Val	Thr	Gln	Glu	Pro	Ser	Leu	Thr	Val	Ser	Pro	Gly		
145					150					155					160		
Gly	Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Gly	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Thr		
				165					170					175			
Ser	Asn	Tyr	Ala	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Pro	Arg		
			180					185					190				
Gly	Leu	Ile	Gly	Gly	Thr	Asn	Lys	Arg	Ala	Pro	Gly	Val	Pro	Ala	Arg		
	195						200					205					
Phe	Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly		
	210					215					220						
Ala	Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Leu	Trp	Tyr	Ser		
225					230					235					240		
Asn	His	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Ser		
				245					250					255			
His	His	His	His	His	His												
			260														
<210>	40																
<211>	254																
<212>	PRT																
<213>	Homo sapiens																
<400>	40																

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 41
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 41

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 42
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 42

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 43

<211> 262

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

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

<210> 44
 <211> 254
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 45
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 45

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 46

<211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 46

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 47
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 47

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

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

<210> 48
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 48

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 49
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 49

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

125

<210> 50
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 50

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 51
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 51

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 Tyr
 20 25 30

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

35	40	45
Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp		
50	55	60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr		
65	70	75
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr		
	85	90
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe		
	100	105
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro		
	115	120
Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly		
	130	135
Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly		
145	150	155
Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr		
	165	170
Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg		
	180	185
Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg		
	195	200
Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly		
	210	215
Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser		
225	230	235
Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser		
	245	250
		255

His His His His His His
260

<210> 52
<211> 254
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 52

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 Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 53
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 53

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe

100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

 <210> 54
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 54

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

 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

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

 His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

 <210> 55
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 55

 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 Tyr

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

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255

His His His His His His
 260

<210> 56
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 56

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 57
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 57

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85

90

95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 58
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 58

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 59
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 59

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

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
245 250 255

His His His His His His
260

<210> 60
<211> 254
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 60

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 Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Pro Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245 250

<210> 61
<211> 125
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 61

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 Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65

70

75

80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Pro Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 62
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 62

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 63
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 63

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Glu Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255

His His His His His His
 260

<210> 64
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 64

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Glu Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 65
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 65

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50

55

60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Glu Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 66

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 67
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 67

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Pro Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255

His His His His His His
 260

<210> 68
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 68

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Pro Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 69
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 69

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 Tyr
 20 25 30

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

35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Pro Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125
 <210> 70
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 70
 Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
 85 90 95

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 71
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 71

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255

His His His His His His
 260

<210> 72
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 72

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 73
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 73

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 Tyr


```

                20                25                30
-----
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35                40                45

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
      50                55                60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
      85                90                95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
      100                105                110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
      115                120                125

<210> 74
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 74

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
      20                25                30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
      35                40                45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
      50                55                60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
      65                70                75                80

```

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 75
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 75

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255

His His His His His His
 260

<210> 76
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 76

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 77

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 77

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 79
<211> 262
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 79

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 Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Glu Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
245 250 255

His His His His His His
260

<210> 80
<211> 254
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 80

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 Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Glu Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245 250

<210> 81
<211> 125
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 81

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Glu Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 82

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 82

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 83
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 83

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Gln Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255

His His His His His His
 260

<210> 84
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 84

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Gln Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 85
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 85

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Gln Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 86
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 86

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 87
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 87

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Asn Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255

His His His His His His
 260

<210> 88
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 88

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Asn Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 89
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 89

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Asn Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 90
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 90

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 91
<211> 262
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 91

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Gln Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255

His His His His His His
 260

<210> 92
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 92

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Gln Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 93
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 93

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Gln Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 94
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 94

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 95
<211> 262
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 95

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 Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255

His His His His His His
 260

<210> 96
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 96

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 97
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 97

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 98
 <211> 109
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 98

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 99

<211> 262

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 99

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 Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
245 250 255

His His His His His His
260

<210> 100

<211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 100

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 101
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 101

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 102
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 102

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 103
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 103

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Ala Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255

His His His His His His

260

<210> 104
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 104

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Ala Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 105
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 105

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Ala Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 106
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 106

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 107
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 107

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 Tyr
 20 25 30

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

101

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 109
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 109

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Gln Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 110
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 110

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 111
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 111

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

225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255

 His His His His His His
 260

 <210> 112
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 112

 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 Tyr
 20 25 30

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

 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

 Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Glu Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245 250

<210> 113
<211> 125
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 113

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 Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Glu Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 114
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 114

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 115
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 115

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

```

210                215                220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
225                230                235                240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
245                250                255

His His His His His His
260

<210> 116
<211> 254
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 116

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 Tyr
20                25                30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50                55                60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85                90                95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Asn Tyr Val Ser Trp Phe
100                105                110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
115                120                125

```

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 117
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 117

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Asn Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 118

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 118

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 119

<211> 262

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 119

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Pro Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg

```

195                                200                                205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
210                                215                                220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
225                                230                                235                                240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
245                                250                                255

His His His His His His
260

<210> 120
<211> 254
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 120

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 Tyr
20                                25                                30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50                                55                                60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85                                90                                95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Pro Tyr Val Ser Trp Phe
100                                105                                110

```


Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 121
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 121

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Pro Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 122
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 122

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 123
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 123

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Gln Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg

180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His His
 260
 <210> 124
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 124
 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 Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Gln Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 125

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 125

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Gln Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 126

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 126

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 127
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 127

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr

165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His His
 260
 <210> 128
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 128
 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 Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245 250

<210> 129

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 129

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 Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 130

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 130

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 131
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 131

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Ala Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly

145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His His
 260
 <210> 132
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 132
 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 Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Ala Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245 250

<210> 133

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Ala Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 134
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 134

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 135
<211> 262
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 135

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 Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Gln Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly

130 135 140
 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220
 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240
 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255
 His His His His His His
 260
 <210> 136
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 136
 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 Tyr
 20 25 30
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Gln Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 137

<211> 125

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 137

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Gln Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 138
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 138

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 139
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 139

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro

115 120 125
 Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

 Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

 Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

 Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
 245 250 255

 His His His His His His
 260

 <210> 140
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 140

 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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro
 115 120 125

Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 130 135 140

Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 145 150 155 160

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr
 165 170 175

Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg
 180 185 190

Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg
 195 200 205

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly
 210 215 220

Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser
 225 230 235 240

Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245 250

<210> 141
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 141

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 142
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 142

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 143
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 143

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 144
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 144

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr
 1 5 10 15

Lys Gly

<210> 145
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 145

Ile Arg Pro Arg Ala Ile Gly Gly Ser Lys Pro Arg Val Ala
 1 5 10

<210> 146
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 146

Gly Lys Gly Gly Ser Gly Lys Gly Gly Ser Gly Lys Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 147
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 147

Gly Gly Lys Gly Ser Gly Gly Lys Gly Ser Gly Gly Lys Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 148
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 148

Gly Gly Gly Lys Ser Gly Gly Gly Lys Ser Gly Gly Gly Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 149
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 149

Gly Lys Gly Lys Ser Gly Lys Gly Lys Ser Gly Lys Gly Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 150
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 150

Gly Gly Gly Lys Ser Gly Gly Lys Gly Ser Gly Lys Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 151
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 151

Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 152
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 152

Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly
 1 5 10 15

Lys Pro Gly Ser
 20

<210> 153
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 153

Gly Lys Gly Lys Ser Gly Lys Gly Lys Ser Gly Lys Gly Lys Ser Gly
 1 5 10 15

Lys Gly Lys Ser
 20

<210> 154
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 154

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
 20

<210> 155
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 155

Ser Thr Ala Gly Asp Thr His Leu Gly Gly Glu Asp Phe Asp
 1 5 10

<210> 156
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 156

Gly Glu Gly Gly Ser Gly Glu Gly Gly Ser Gly Glu Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 157
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 157

Gly Gly Glu Gly Ser Gly Gly Glu Gly Ser Gly Gly Glu Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 158
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 158

Gly Gly Gly Glu Ser Gly Gly Gly Glu Ser Gly Gly Gly Glu Ser
 1 5 10 15

<210> 159
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 159

Gly	Glu	Gly	Glu	Ser	Gly	Glu	Gly	Glu	Ser	Gly	Glu	Gly	Glu	Ser
1				5					10					15

<210> 160

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp

<400> 160

Gly	Gly	Gly	Glu	Ser	Gly	Gly	Glu	Gly	Ser	Gly	Glu	Gly	Gly	Ser
1				5					10					15

<210> 161

<211> 20

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp

<400> 161

Gly	Glu	Gly	Glu	Ser	Gly	Glu	Gly	Glu	Ser	Gly	Glu	Gly	Glu	Ser	Gly
1				5					10					15	

Glu	Gly	Glu	Ser
			20

<210> 162

<211> 15

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Peptit tổng hợp

<400> 162

Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
1				5					10					15

<210> 163

<211> 20

<212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 163

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
 20

<210> 164
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 164

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr
 1 5 10 15

Lys Gly

<210> 165
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 165

Pro Arg Gly Ala Ser Lys Ser Gly Ser Ala Ser Gln Thr Gly Ser Ala
 1 5 10 15

Pro Gly Ser

<210> 166
 <211> 19

<212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 166

Gly Thr Ala Ala Ala Gly Ala Gly Ala Ala Gly Gly Ala Ala Ala Gly
 1 5 10 15

Ala Ala Gly

<210> 167
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 167

Gly Thr Ser Gly Ser Ser Gly Ser Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly

<210> 168
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Peptit tổng hợp

<400> 168

Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly
 1 5 10 15

Lys Pro Gly Ser
 20

<210> 169
 <211> 125

<212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 169

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 Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
 100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 170
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 170

Thr Tyr Ala Met Asn
 1 5

<210> 171
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 171

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
 1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 172
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 172

His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
 1 5 10

<210> 173
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 173

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
 20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
 35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
 65 70 75 80

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

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 174
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 174

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

<210> 175
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 175

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
 1 5

<210> 176
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 176

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp Val
 1 5

<210> 177
 <211> 490
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 177

Met Glu Ser Ile Ser Met Met Gly Ser Pro Lys Ser Leu Ser Glu Thr
 1 5 10 15

Phe Leu Pro Asn Gly Ile Asn Gly Ile Lys Asp Ala Arg Lys Val Thr
 20 25 30

Val Gly Val Ile Gly Ser Gly Asp Phe Ala Lys Ser Leu Thr Ile Arg
 35 40 45

Leu Ile Arg Cys Gly Tyr His Val Val Ile Gly Ser Arg Asn Pro Lys
 50 55 60

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

Ala Gly Leu Leu Ala Ala Ala Tyr Gln Leu Tyr Tyr Gly Thr Lys Tyr
275 280 285

Arg Arg Phe Pro Pro Trp Leu Glu Thr Trp Leu Gln Cys Arg Lys Gln
290 295 300

Leu Gly Leu Leu Ser Phe Phe Phe Ala Met Val His Val Ala Tyr Ser
305 310 315 320

Leu Cys Leu Pro Met Arg Arg Ser Glu Arg Tyr Leu Phe Leu Asn Met
325 330 335

Ala Tyr Gln Gln Val His Ala Asn Ile Glu Asn Ser Trp Asn Glu Glu
340 345 350

Glu Val Trp Arg Ile Glu Met Tyr Ile Ser Phe Gly Ile Met Ser Leu
355 360 365

Gly Leu Leu Ser Leu Leu Ala Val Thr Ser Ile Pro Ser Val Ser Asn
370 375 380

Ala Leu Asn Trp Arg Glu Phe Ser Phe Ile Gln Ser Thr Leu Gly Tyr
385 390 395 400

Val Ala Leu Leu Ile Ser Thr Phe His Val Leu Ile Tyr Gly Trp Lys
405 410 415

Arg Ala Phe Glu Glu Glu Tyr Tyr Arg Phe Tyr Thr Pro Pro Asn Phe
420 425 430

Val Leu Ala Leu Val Leu Pro Ser Ile Val Ile Leu Gly Lys Ile Ile
435 440 445

Leu Phe Leu Pro Cys Ile Ser Arg Lys Leu Lys Arg Ile Lys Lys Gly
450 455 460

Trp Glu Lys Ser Gln Phe Leu Glu Glu Gly Met Gly Gly Thr Ile Pro
465 470 475 480

His Val Ser Pro Glu Arg Val Thr Val Met
485 490

<210> 178
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Cầu nối Tổng hợp

<400> 178

Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 179
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Cầu nối Tổng hợp

<400> 179

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 180
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Cầu nối Tổng hợp

<400> 180

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 181
<211> 4
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Cầu nối Tổng hợp

<400> 181

Gly Phe Leu Gly
1

<210> 182
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 182

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 Ser Thr Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 183
<211> 106
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 183

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
 65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Arg Ser Phe Pro Tyr Thr
 85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 184

<211> 121

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 184

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 Ser Thr Tyr
 20 25 30

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

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Gln Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 185

<211> 121

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 185

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

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

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

Gly Trp Met Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Ala Arg Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ala Gly Gly Gln Leu Arg Pro Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 186
<211> 111
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 186

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30

Gly Asp Ser Phe Met Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Gln Leu Leu Ile Tyr Val Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

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

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

Glu Glu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 187
<211> 268
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 187

Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr
1 5 10 15

Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe
 20 25 30

Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr
 35 40 45

Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu
 50 55 60

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

Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn
 85 90 95

Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala
 100 105 110

Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg
 115 120 125

Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly
 130 135 140

Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly Leu Leu Gly Ser
 145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys Ser Arg Ala Ala
 165 170 175

Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro Leu Lys Glu Asp
 180 185 190

Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly Glu Leu Asp Phe
 195 200 205

Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro Cys Val Pro Glu
 210 215 220

Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly Met Gly Thr Ser

155

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro
145 150 155 160

Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Ala Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly
165 170 175

Leu Leu Gly Ser Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys
180 185 190

Ser Arg Ala Ala Gln Gly Thr Ile Glu Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro
195 200 205

Leu Lys Glu Asp Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly
210 215 220

Glu Leu Asp Phe Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Ala Pro
225 230 235 240

Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly
245 250 255

Leu Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg
260 265 270

Ser Pro Arg Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
275 280 285

<210> 189

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 189

Ser Tyr Asp Met Ser
1 5

<210> 190

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 190

Leu	Ile	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Glu	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

<210> 191

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 191

Pro	Ser	Gly	His	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Met	Asp	Val
1				5					10	

<210> 192

<211> 11

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 192

Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ser	Asn	Trp	Leu	Ala
1				5					10	

<210> 193

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 193

Ala	Ala	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser
1				5		

<210> 194

<211> 9

<212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 194

Gln Gln Ala Glu Ser Phe Pro His Thr
 1 5

<210> 195
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 195

Glu Val Gln Leu Leu 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 Ser Tyr
 20 25 30

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

Ser Leu Ile Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Ser Pro Ser Gly His Tyr Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 196
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 196

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp
 20 25 30

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

Phe Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Glu Ser Phe Pro His
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 197
 <211> 472
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 197

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly
 20 25 30

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

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 245 250 255

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 260 265 270

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 275 280 285

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 290 295 300

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln
 305 310 315 320

Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 325 330 335

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 340 345 350

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 355 360 365

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 370 375 380

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 385 390 395 400

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 405 410 415

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 420 425 430

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 435 440 445

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 450 455 460

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 198
<211> 236
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 198

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
20 25 30

Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
35 40 45

Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
50 55 60

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Phe Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val
65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
85 90 95

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
100 105 110

Ala Glu Ser Phe Pro His Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
115 120 125

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

<210> 199
 <211> 472
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 199

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
 20 25 30

Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
 35 40 45

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

Gln Arg Leu Glu Trp Met Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Gln Thr
 65 70 75 80

Asp Phe Asn Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr
 85 90 95

Ser Ser Asp Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
 100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly
 115 120 125

Tyr Phe Asn Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
 130 135 140

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
 165 170 175

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
 180 185 190

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
 195 200 205

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
 210 215 220

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asp Thr Lys Val Asp Lys Lys
 225 230 235 240

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255

Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 260 265 270

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 275 280 285

Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 290 295 300

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Glu
305 310 315 320

Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
325 330 335

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
340 345 350

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
355 360 365

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
370 375 380

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Asp Val Ser Gly Phe Tyr Pro Ser
385 390 395 400

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asp Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
405 410 415

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
420 425 430

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Glu Gln Gly Asp Val Phe
435 440 445

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
450 455 460

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 200

<211> 213

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 200

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
 35 40 45

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu
 65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Arg Ser Phe Pro Tyr Thr
 85 90 95

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

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 201
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 201

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 Ser Thr Tyr
 20 25 30

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

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asp Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His Glu
 260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Glu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Thr Cys Asp Val Ser Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asp Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Glu Gln Gly Asp Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 202
<211> 723
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 202

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 Ser Thr Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Asn Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
 225 230 235 240
 Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
 245 250 255
 Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg
 260 265 270
 Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys
 275 280 285
 Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
 290 295 300
 Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
 305 310 315 320

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly
325 330 335

Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
340 345 350

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
355 360 365

Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gln Ala Val Val Thr
370 375 380

Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
385 390 395 400

Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp
405 410 415

Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr
420 425 430

Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
435 440 445

Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu
450 455 460

Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp Val Phe Gly
465 470 475 480

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
485 490 495

Gly Ser Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala
500 505 510

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
515 520 525

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His
 530 535 540

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 545 550 555 560

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 565 570 575

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 580 585 590

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 595 600 605

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 610 615 620

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Gln Met Thr Lys Asn Gln Val Lys
 625 630 635 640

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 645 650 655

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 660 665 670

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 675 680 685

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 690 695 700

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 705 710 715 720

Pro Gly Lys

<210> 203

<211> 450

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 203

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 Ser Thr Tyr
 20 25 30

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

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Gln Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asp Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Glu Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Asp Val Ser Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asp Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Glu Gln Gly Asp Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly Lys
 450

<210> 204
 <211> 218
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 204

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
 20 25 30

Gly Asp Ser Phe Met Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45

Gln Leu Leu Ile Tyr Val Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 50 55 60

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

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

Glu Glu Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 205

<211> 448

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 205

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

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

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

Met Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Lys Phe Gln Gly
50 55 60

Arg Val Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Ala Arg Thr Val Tyr Met Glu
 65 70 75 80

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 85 90 95

Ala Gly Gly Gln Leu Arg Pro Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205

Ser Asp Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
 225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His Glu Asp Pro
 260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Glu Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365

Asp Val Ser Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380

Asp Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415

Arg Trp Glu Gln Gly Asp Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 206

<211> 721

<212> PRT

<213> Trình tự Nhân tạo

<220>

<223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 206

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

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

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
225 230 235 240

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
245 250 255

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala
260 265 270

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn
275 280 285

Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
290 295 300

Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
305 310 315 320

Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe
325 330 335

Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
340 345 350

Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly
355 360 365

Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu
370 375 380

Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly
385 390 395 400

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln
405 410 415

Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys
420 425 430

Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
435 440 445

Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp
 450 455 460

Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp Val Phe Gly Gly Gly
 465 470 475 480

Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 485 490 495

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro
 500 505 510

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 515 520 525

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His Glu Asp
 530 535 540

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 545 550 555 560

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 565 570 575

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 580 585 590

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 595 600 605

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 610 615 620

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Gln Met Thr Lys Asn Gln Val Lys Leu Thr
 625 630 635 640

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 645 650 655

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
660 665 670

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
675 680 685

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
690 695 700

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
705 710 715 720

Lys

<210> 207
<211> 723
<212> PRT
<213> Trình tự Nhân tạo

<220>
<223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 207

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 Ser Thr Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Gln Thr Asp Phe Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Trp Gly Tyr Tyr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Asn Val Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
 225 230 235 240
 Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
 245 250 255
 Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg
 260 265 270
 Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys
 275 280 285
 Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
 290 295 300
 Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
 305 310 315 320

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly
 325 330 335

Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 340 345 350

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly
 355 360 365

Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gln Ala Val Val Thr
 370 375 380

Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
 385 390 395 400

Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp
 405 410 415

Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr
 420 425 430

Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
 435 440 445

Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu
 450 455 460

Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn His Trp Val Phe Gly
 465 470 475 480

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 485 490 495

Gly Ser Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala
 500 505 510

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 515 520 525

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Lys His
 530 535 540

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 545 550 555 560

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr
 565 570 575

Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 580 585 590

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 595 600 605

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 610 615 620

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Gln Met Thr Lys Asn Gln Val Lys
 625 630 635 640

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 645 650 655

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 660 665 670

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 675 680 685

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 690 695 700

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 705 710 715 720

Pro Gly Lys

<210> 208
 <211> 450

<212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 208

Glu Val Gln Leu Leu 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 Ser Tyr
 20 25 30

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

Ser Leu Ile Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Ser Pro Ser Gly His Tyr Phe Tyr Ala Met Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

Gly Lys
 450

<210> 209
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 209

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp
 20 25 30

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

Phe Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Glu Ser Phe Pro His
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 210
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 210

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5

<210> 211
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 211

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10 15

<210> 212
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 212

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Lys Thr His Thr Cys Pro
 1 5 10 15

Pro Cys Pro

<210> 213
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 213

Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Lys Thr His Thr Cys Pro
 1 5 10 15

Pro Cys Pro

<210> 214
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Trình tự Nhân tạo

<220>
 <223> Polypeptit Tổng hợp

<400> 214

Gly Lys Pro Gly Ser Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10