



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

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

(11)



1-0048885

(51)^{2020.01} A61P 25/28; C07K 16/18; A61K 39/00 (13) B

(21) 1-2021-06424

(22) 25/03/2020

(86) PCT/EP2020/058395 25/03/2020

(87) WO2020/193644 01/10/2020

(30) 62/823,785 26/03/2019 US

(45) 25/07/2025 448

(43) 27/12/2021 405A

(73) JANSSEN PHARMACEUTICA NV (BE)

Turnhoutseweg 30, 2340 Beerse, Belgium

(72) VAN BROECK, Bianca (BE); MERCKEN, Marc (BE); EDWARDS, Wilson (US);
SINGH, Sanjaya (US); LUO, Jinquan (US); LA PORTE, Sherry (US); GANESAN,
Rajkumar (US); HUANG, Chichi (US).

(74) Công ty Cổ phần Sở hữu công nghiệp INVESTIP (INVESTIP)

(54) KHÁNG THỂ ĐƠN DÒNG VÀ PHƯƠNG PHÁP ĐỂ SẢN XUẤT KHÁNG THỂ
NÀY

(21) 1-2021-06424

(57) Sáng chế đề cập đến kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng liên kết với 3pE A β . Kháng thể và các mảnh gắn kháng nguyên của chúng là hữu ích cho việc chẩn đoán, tiên lượng và điều trị bệnh Alzheimer hoặc các bệnh khác liên quan đến β -amyloid. Sáng chế còn đề cập đến axit nucleic, vector, các dược phẩm, các phương pháp sản xuất kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó và các phương pháp sản xuất dược phẩm.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế này liên quan đến lĩnh vực kháng thể đề cập đến peptit amyloid-beta ($A\beta$) và các phương pháp điều trị bằng kháng thể. Đặc biệt, kháng thể có thể được sử dụng để xác định và điều trị các rối loạn liên quan đến amyloid.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh Alzheimer (AD) là rối loạn não thoái hóa có đặc trưng lâm sàng là mất trí nhớ, nhận thức, tư duy, đánh giá và sự ổn định về mặt cảm xúc tiến triển, dần dần dẫn đến suy giảm thần kinh rõ rệt và cuối cùng là tử vong. Bệnh Alzheimer là nguyên nhân phổ biến của chứng suy nhược thần kinh tiến triển (chứng mất trí) ở người cao tuổi. Bệnh Alzheimer đã được theo dõi trên toàn thế giới và là vấn đề sức khỏe lớn trong cộng đồng. Theo ước tính, căn bệnh này hiện ảnh hưởng đến hơn năm triệu người, chỉ tính riêng ở Hoa Kỳ. Hiện tại, bệnh Alzheimer không thể chữa khỏi và không có phương pháp điều trị hữu hiệu nào có thể ngăn ngừa hoặc đẩy lùi triệu chứng hoặc diễn tiến của bệnh.

Bộ não của những người mắc bệnh AD biểu hiện các thương tổn đặc trưng gọi là mảng dạng tinh bột (amyloid plaque), bệnh mạch máu tinh bột (kết tủa dạng bột trong mạch máu) và đám rối sợi thần kinh. Phần lớn các thương tổn này - cụ thể là các mảng dạng tinh bột và đám rối sợi thần kinh - thường được tìm thấy ở một số vùng của não, có vai trò quan trọng cho trí nhớ và chức năng nhận thức. Các mảng dạng tinh bột và bệnh mạch máu tinh bột cũng đặc trưng cho não của những người mắc bệnh Trisomy 21 (Hội chứng Down), bệnh thể Lewy lan tỏa và xuất huyết não di truyền với chứng thoái hóa dạng tinh bột kiểu Hà Lan (HCHWA-D).

Thành phần chính của mảng dạng tinh bột là nhiều peptit amyloid-beta ($A\beta$) được tạo ra bằng cách phân cắt protein tiền chất β -amyloid (APP). Sự tích tụ peptit $A\beta$ trong não được cho là bước sớm và cần thiết trong quá trình hình thành bệnh AD. Việc xác định đột biến trong protein tiền chất amyloid và gen presenillin làm thay đổi sự sản xuất $A\beta$ và gây bệnh AD khởi phát sớm theo gia đình, cung cấp bằng chứng rõ ràng cho thấy sự thay đổi chuyển hóa amyloid là sự kiện chính trong quá trình gây bệnh tiềm ẩn của bệnh này.

Các peptit amyloid- β có pyroglutamat tại đơn phân thứ ba (3pE A β) là loại chính tích tụ trong não của bệnh nhân mắc chứng AD. 3pE A β hiện diện trong hầu hết các mảng khuếch tán và trưởng thành ở bệnh AD, ổn định về mặt trao đổi chất và có thể đóng vai trò trong cả việc tạo mầm và ổn định mảng bám (Cynis và cộng sự, Thoái hóa thần kinh thuộc phân tử, 2016; 11:48). Lượng 3pE A β có thể phát hiện chưa được báo cáo trong dịch não tủy hoặc huyết tương, do đó gợi ý rằng peptit đích là đặc hiệu cho bệnh lý (DeMattos và cộng sự, Noron tế bào thần kinh, 2012; 76:1-13). Kháng thể liên kết có chọn lọc với 3pE A β có thể hữu ích đối với liệu pháp miễn dịch.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Như được trình bày và mô tả đầy đủ, sáng chế đề cập đến các kháng thể và mảnh liên kết kháng nguyên của chúng liên kết với amyloid- β có pyroglutamat tại đơn phân thứ ba (3pE A β), các phương pháp tạo kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của chúng liên kết với 3pE A β , phương pháp xét nghiệm sử dụng những kháng thể này hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, cũng như sử dụng kháng thể hoặc các mảnh liên kết kháng nguyên của chúng theo sáng chế để sản xuất dược phẩm để điều trị, làm chậm sự khởi phát hoặc đẩy lùi ít nhất một bệnh lý hoặc triệu chứng của bệnh Alzheimer và các bệnh khác liên quan đến β -amyloid. Kháng thể theo sáng chế ưu tiên liên kết peptit A β chứa 3pE hơn peptit A β không chứa 3pE.

Đặc biệt, kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó được mô tả trong tài liệu này bao gồm vùng xác định bổ sung chuỗi nặng 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3, vùng xác định bổ sung chuỗi nhẹ 1 (LCDR1), LCDR2 và LCDR3 có các trình tự polypeptit có:

- a. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 2, 3, 4, 5 và 6;
- b. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 7, 3, 4, 5 và 6;
- c. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 7, 3, 8, 5 và 6;
- d. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 2, 3, 8, 5 và 6;
- e. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 57, 3, 8, 5 và 6;
- f. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 57, 3, 4, 5 và 6;
- g. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 58, 3, 4, 5 và 6;
- h. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 7, 3, 8, 5 và 6;
- i. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 57, 3, 8, 5 và 6;
- j. các SEQ ID NO lần lượt là 56, 7, 3, 4, 5 và 6;

- k. các SEQ ID NO lần lượt là 1, 57, 3, 4, 5 và 6;
- l. các SEQ ID NO lần lượt là 1, 58, 3, 4, 5 và 6; hoặc
- m. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 2, 3, 4, 5 và 6;

trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với 3pE A β , tốt nhất là 3pE A β của người.

Theo một số phương án, kháng thể đơn dòng phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 95 % với SEQ ID No:9, 11, 13, 15, 16, 17, 19, 20 hoặc 21, hay vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 95 % với SEQ ID No:10, 12, 14, 18, 22, 53 hoặc 55.

Theo một số phương án, kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc đoạn gắn kháng nguyên của nó bao gồm:

- a. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:21 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:22;
- b. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:9 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:10;
- c. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:11 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:12;
- d. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:13 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14;
- e. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:15 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14;
- f. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:16 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14;
- g. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:20 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14;
- h. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:17 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:18;
- i. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:19 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:18;
- j. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:21 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:53; hoặc

k. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:21 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:55.

Theo một số phương án, kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó là dạng khảm. Theo một số phương án, kháng thể đơn dòng phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó là của người hoặc được nhân tính hóa.

Theo một số phương án, kháng thể đơn dòng phân lập bao gồm:

- a. trình tự axit amin chuỗi nặng gồm có SEQ ID No:37 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID No:38;
- b. trình tự axit amin chuỗi nặng gồm có SEQ ID No:39 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID No:38
- c. trình tự axit amin chuỗi nặng gồm có SEQ ID No:37 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID No:52; hoặc
- d. trình tự axit amin chuỗi nặng gồm có SEQ ID No:39 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID No:54.

Theo một số phương án, mảnh liên kết kháng nguyên được chọn từ nhóm các mảnh bao gồm Fv, F(ab'), F(ab')₂ và scFv. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết có chọn lọc với peptit 3pE A β (ví dụ: A β 3pE-40 và A β 3pE-42), có ít hoặc không có phản ứng chéo với peptit A β hoặc protein tiền chất β -amyloid khác (APP).

Sáng chế cũng đề xuất axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể đơn dòng hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng theo sáng chế được công bố trong tài liệu này.

Sáng chế cũng đề xuất vector bao gồm axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể đơn dòng hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng theo sáng chế. Sáng chế cũng đề xuất tế bào chủ bao gồm vector có axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể đơn dòng hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng theo sáng chế. Sáng chế cũng đề xuất tế bào lai (hybridoma) sản xuất kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo sáng chế.

Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm bao gồm kháng thể đơn dòng phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo sáng chế và chất mang dược dụng.

Sáng chế cũng đề xuất các phương pháp điều trị tình trạng liên quan đến sự hình thành các mảng chứa protein beta-amyloid ở đối tượng cần. Các phương pháp này bao

gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó hoặc được phẩm theo sáng chế. Theo một số phương án, tình trạng này là bệnh Alzheimer. Theo một số phương án nhất định, tình trạng bệnh được chọn từ nhóm bao gồm chứng mất trí liên quan đến bệnh Trisomy 21 (Hội chứng Down), bệnh thể Lewy lan tỏa, bệnh viêm cơ thể thể gộp, bệnh mạch máu não và xuất huyết não di truyền với bệnh amyloidosis loại Hà Lan (HCHWA-D).

Sáng chế cũng đề xuất những phương pháp làm giảm các mảng liên quan đến bệnh Alzheimer cho đối tượng cần điều trị. Các phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó hoặc được phẩm theo sáng chế.

Sáng chế cũng đề xuất các phương pháp ngăn chặn hoạt tính tạo mầm của 3pE A β ở đối tượng cần điều trị. Các phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó hoặc được phẩm theo sáng chế.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp sản xuất kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo sáng chế, phương pháp này bao gồm bước nuôi cấy tế bào bao gồm axit nucleic mã hóa kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó trong các điều kiện để có thể tạo kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, và bước thu hồi kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp sản xuất được phẩm theo sáng chế. Các phương pháp này bao gồm bước kết hợp kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo sáng chế có chất mang được dụng để thu được được phẩm.

Phương án bao gồm bộ kit và thiết bị chứa kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó được mô tả ở trên.

Các đối tượng, tính năng và lợi thế khác theo sáng chế sẽ rõ ràng đối với những người có kỹ năng trong ngành khi xem xét chi tiết các phương án được ưu tiên tiếp theo.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

HÌNH 1 là biểu đồ sensogram (đồ thị phản ứng so với thời gian cộng hưởng plasmon bề mặt) bất thường) (động học chu kỳ đơn) từ sự phát hiện không có nhãn cộng hưởng plasmon bề mặt của tương tác liên kết ái lực BAMB31_2a (mIgG2a) với peptit A β (3pE-40) người. Vết màu xám đại diện cho dữ liệu tham chiếu kép được trừ, còn vết màu đen đại diện cho các giá trị phù hợp.

HÌNH 2 là biểu đồ sensogram (động học chu kỳ đơn) từ sự phát hiện không có nhãn cộng hưởng plasmon bề mặt của tương tác liên kết ái lực mE8c mIgG2a với peptit A β (3pE-40) người. Vết màu xám đại diện cho dữ liệu tham chiếu kép được trừ, còn vết màu đen đại diện cho các giá trị phù hợp.

HÌNH 3A-3I minh họa khả năng phản ứng với mảng khi được phân tích bằng cách hóa mô miễn dịch trong mô não cố định bằng formalin trong thể vùi parafin (FFPE) ở chuột đối với BAMB674 và BAMB675 so với các phân tử HFA chất so sánh. Kết quả dành cho nồng độ kháng thể sơ cấp 0,05 μ g/mL được minh họa. Các mũi tên biểu thị vùng gắn nhãn mảng cho BAMB674 và BAMB675. (A) BAMB674; (B) BAMB675; (C) Kháng thể I; (D) Kháng thể II; (E) B12L; (F) CI-C7; (G) hE8L; (H) R17L; (I) R17.

HÌNH 4A-4B minh họa đồ thị biểu thị tính chọn lọc BAMB31_1 như được minh họa bằng cách phát hiện các peptit A β tổng hợp của người trong ELISA tăng kẹp. (A) A β 1-40 (B) A β pE11-40.

HÌNH 5A-5F minh họa khả năng phản ứng với các mảng bằng cách hóa mô miễn dịch trong mô não cố định bằng formalin trong thể vùi parafin (FFPE) ở chuột chuyển gen đối với (A-B) BAMB246 (hợp thể khảm huIgG1) (C-D) BAMB674 và (E-F) BAMB675. Bảng chèn nhỏ minh họa toàn bộ phần não nhuộm màu và vùng phóng to.

HÌNH 6A-6D minh họa khả năng phản ứng với các mảng bằng cách hóa mô miễn dịch trong mô não AD được bảo quản cryo với (A, C) 4G8 và (B, D) BAMB31_2a (mIgG2a) ở hai độ phóng đại khác nhau.

HÌNH 7 minh họa đồ thị biểu thị nồng độ kháng thể trong huyết thanh tại các thời điểm khác nhau sau một liều 20 mg/kg trong màng bụng (i.p.) ở chuột chuyển gen.

HÌNH 8 minh họa đồ thị biểu thị các ổ vi xuất huyết sau khi điều trị mãn tính bằng đối chứng lớp kháng thể và kháng thể BAMB31_2a (mIgG2a) ở chuột PDAPP, bằng cách đánh giá số lượng tế bào dương tính của Perls.

HÌNH 9 minh họa đồ thị biểu thị gánh nặng amyloid sau khi điều trị mãn tính bằng đối chứng lớp kháng thể và kháng thể BAMB31_2a (mIgG2a) trong hồi hải mã của chuột PDAPP, được đo bằng phương pháp phát hiện xét nghiệm miễn dịch A β 1-x. Giá trị màu xám đại diện cho các điểm dữ liệu bên dưới giới hạn phát hiện của xét nghiệm.

HÌNH 10 minh họa sơ đồ mô hình hai ngăn đối với đặc trưng PK của khi BAMB674 và BAMB675.

HÌNH 11 minh họa đồ thị biểu thị PK so với dữ liệu được quan sát đối với BAMB674 và BAMB675. Mức kháng thể đơn dòng BAM31 HFA trong huyết thanh ở dạng IgG1 kiểu đại (Huyết thanh WT) và lớp kháng thể IgG1 +YTE (Huyết thanh YTE) sau khi tiêm bolus 25 mg/kg (tiêm nhanh 1 liều thuốc) trong tĩnh mạch (i.v.) ở khi đuôi dài. Nồng độ g/ml của kháng thể kháng A β 3pE (3pE-AB) μ được minh họa trên thang log trên trục Y theo thời gian tính theo ngày trên trục X. Thời gian bán thải được tính toán ($t_{1/2}$) cho mỗi kháng thể đơn dòng được minh họa trên văn bản ghép.

HÌNH 12 minh họa đồ thị biểu thị nồng độ trong não quan sát được đối với BAMB674 và BAMB675. Mức dịch thủy phân não của kháng thể đơn dòng BAMB31 HFA vào ngày thứ 7 và ngày thứ 42 ở dạng IgG1 kiểu đại (não WT) và lớp kháng thể IgG1 +YTE (não YTE) sau khi tiêm bolus 25 mg/kg i.v. ở khi đuôi dài. Nồng độ g/ml của kháng thể kháng A β 3pE (3pE-AB) μ được minh họa trên thang log trên trục Y theo thời gian tính theo ngày trên trục X.

Mô tả chi tiết sáng chế

Nhiều tài liệu kỹ thuật, bài báo và bằng sáng chế được nêu hoặc được mô tả trong phần tình trạng kỹ thuật của sáng chế và trong toàn bộ bản mô tả; mỗi tham chiếu này được kết hợp đầy đủ vào tài liệu này bằng viện dẫn. Việc trình bày về tài liệu, hoạt động, vật liệu, thiết bị, thành phần, v.v. đã được đưa vào bản mô tả nhằm mục đích cung cấp ngữ cảnh của sáng chế. Việc trình bày này không có ý rằng vấn đề bất kỳ hoặc tất cả các vấn đề này là một phần của kỹ thuật trước đây liên quan đến sáng chế bất kỳ được bộc lộ hoặc được yêu cầu bảo hộ.

Cần hiểu rằng sáng chế này không giới hạn ở các phương pháp, thuốc thử, hợp chất, chế phẩm hoặc hệ thống sinh học cụ thể mà có thể khác nhau. Cũng cần hiểu rằng hệ thuật ngữ sử dụng trong tài liệu này chỉ nhằm mục đích mô tả các phương án cụ thể và không có ý giới hạn.

Trừ khi được quy định khác đi, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả này có cùng nghĩa thông thường theo hiểu biết của người có trình độ bình thường trong ngành mà sáng chế này có liên quan. Hoặc, các thuật ngữ nhất định được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa như đã nêu trong bản mô tả.

Cần lưu ý là khi được sử dụng trong bản mô tả này và trong các điểm yêu cầu bảo hộ, dạng số ít “một” bao gồm cả các số nhiều trừ khi ngữ cảnh quy định khác.

Trừ khi được quy định khác, thuật ngữ “ít nhất” đứng trước một dãy các phần tử sẽ được hiểu là chỉ mọi phần tử trong dãy. Người có trình độ trong ngành sẽ nhận diện hoặc có khả năng biết rõ, chỉ cần bằng cách sử dụng thực nghiệm thường quy, nhiều phương án tương đương với các phương án cụ thể của sáng chế được mô tả trong tài liệu này. Các phương án tương đương được dự kiến bao gồm trong sáng chế.

Trong bản mô tả này, các thuật ngữ "bao gồm", "gồm", "gồm có", "có", "chứa" hoặc "có chứa", hoặc bất kỳ biến thể nào khác của nó, sẽ được hiểu là ngụ ý bao gồm một số nguyên hoặc nhóm số nguyên đã nêu nhưng không loại trừ bất kỳ số nguyên hoặc nhóm số nguyên nào khác, và được dự kiến là không hạn chế hoặc có thể mở rộng. Ví dụ, chế phẩm, hỗn hợp, quy trình, phương pháp, mục hoặc thiết bị bao gồm danh sách các phần tử không nhất thiết chỉ giới hạn ở các phần tử này mà có thể bao gồm các phần tử khác không được liệt kê rõ ràng hoặc vốn thuộc chế phẩm, hỗn hợp, quy trình, phương pháp, mục hoặc thiết bị đó. Ngoài ra, trừ khi được quy định ngược lại một cách rõ ràng, "hoặc" đề cập đến yếu tố được bao gồm với hoặc và không đề cập yếu tố bị loại trừ với hoặc. Ví dụ, một điều kiện A hoặc B được thỏa mãn bởi điều bất kỳ trong những điều sau đây: A đúng (hoặc có) và B sai (hoặc không có), A sai (hoặc không có) và B đúng (hoặc có), và cả A và B đúng (hoặc có).

Như được sử dụng trong tài liệu này, thuật ngữ liên hợp “và/hoặc” giữa nhiều thành phần được nêu được hiểu là bao gồm cả các tùy chọn riêng lẻ và kết hợp. Ví dụ: khi hai phần tử được gắn liền với nhau bởi “và/hoặc”, tùy chọn đầu tiên đề cập đến khả năng áp dụng của thành phần thứ nhất khi không có thành phần thứ hai. Tùy chọn thứ hai đề cập đến khả năng áp dụng của thành phần thứ hai mà không có thành phần thứ nhất. Tùy chọn thứ ba đề cập đến khả năng áp dụng sự kết hợp thành phần thứ nhất và thành phần thứ hai. Bất kỳ một trong những tùy chọn này đều được hiểu là nằm trong nghĩa và vì vậy đáp ứng yêu cầu của thuật ngữ “và/hoặc” như được sử dụng trong tài liệu này. Áp dụng đồng thời hơn một trong những tùy chọn này đều được hiểu là nằm trong nghĩa và do đó đáp ứng yêu cầu của thuật ngữ “và/hoặc”.

Trong tài liệu này, thuật ngữ "bao gồm" hoặc các biến thể như "gồm có" hoặc "gồm" (như được sử dụng trong toàn bộ sáng chế và yêu cầu bảo hộ), được dùng để biểu thị việc bao gồm bất kỳ số nguyên hoặc nhóm số nguyên được nêu, nhưng không thể thêm

số nguyên hoặc nhóm số nguyên khác vào phương pháp, cấu trúc hoặc thành phần được chỉ định.

Trong tài liệu này, thuật ngữ "chủ yếu bao gồm" hoặc các biến thể như "chủ yếu gồm có" hoặc "chủ yếu gồm" (như được sử dụng trong toàn bộ sáng chế và yêu cầu bảo hộ), được dùng để biểu thị việc bao gồm bất kỳ số nguyên hoặc nhóm số nguyên đã nêu, và bao gồm tùy chọn bất kỳ số nguyên hoặc nhóm số nguyên đã nêu không thay đổi đáng kể các đặc tính mới hoặc cơ bản của phương pháp, cấu trúc hoặc thành phần được chỉ định. Xem M.P.E.P. § 2111.03.

Kháng thể

Sáng chế đề xuất kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó liên kết với peptit 3pE A β , đặc biệt ưu tiên peptit A β không chứa 3pE hơn. Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất các phương pháp sản xuất kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng liên kết với peptit 3pE A β , và các phương pháp sản xuất tế bào lai tạo kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng liên kết với peptit 3pE A β . Sáng chế cũng bao gồm phương pháp điều trị bệnh Alzheimer và các bệnh khác liên quan đến β -amyloid ở một cá nhân, phương pháp làm sạch các mảng liên quan đến bệnh Alzheimer hoặc các bệnh khác liên quan đến β -amyloid, cũng như phương pháp ngăn chặn hoạt tính tạo mầm mảng của 3pE A β . Sáng chế cũng đề xuất các bộ kit và thiết bị gồm có kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó để sử dụng trong các phương pháp được mô tả.

Theo một phương án cụ thể, sáng chế đề cập đến kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng xác định bổ sung chuỗi nặng 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3 và vùng xác định bổ sung chuỗi nhẹ 1 (LCDR1), LCDR2 và LCDR3, có trình tự polypeptit có:

- a. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 2, 3, 4, 5 và 6;
- b. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 7, 3, 4, 5 và 6;
- c. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 7, 3, 8, 5 và 6;
- d. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 2, 3, 8, 5 và 6;
- e. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 57, 3, 8, 5 và 6;
- f. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 57, 3, 4, 5 và 6;
- g. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 58, 3, 4, 5 và 6;
- h. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 7, 3, 8, 5 và 6;

- i. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 57, 3, 8, 5 và 6;
- j. các SEQ ID NO lần lượt là 56, 7, 3, 4, 5 và 6;
- k. các SEQ ID NO lần lượt là 1, 57, 3, 4, 5 và 6;
- l. các SEQ ID NO lần lượt là 1, 58, 3, 4, 5 và 6; hoặc
- m. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 2, 3, 4, 5 và 6;

trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với 3pE A β , tốt nhất là 3pE A β của người.

Theo một phương án cụ thể khác, sáng chế đề cập đến kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 95 % với SEQ ID No:9, 11, 13, 15, 16, 17, 19, 20 hoặc 21, hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 95 % với SEQ ID No:10, 12, 14, 18, 22, 53 hoặc 55.

Theo một phương án cụ thể khác, sáng chế đề cập đến kháng thể đơn dòng phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo sáng chế, bao gồm:

- l. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:21 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:22;
- m. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:9 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:10;
- n. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:11 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:12;
- o. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:13 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14;
- p. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:15 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14;
- q. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:16 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14;
- r. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:20 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14;
- s. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:17 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:18;
- t. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:19 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:18;

u. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:21 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:53; hoặc

v. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:21 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:55.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh kháng nguyên của nó, bao gồm HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 và LCDR3, có trình tự polypeptit có các SEQ ID No lần lượt là:1, 2, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID No lần lượt là:56, 58, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID No lần lượt là:56, 2, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID No lần lượt là:1, 58, 3, 4, 5 và 6. Theo một phương án khác, kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, chẳng hạn như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No:21, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, ví dụ như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No:22 hoặc 53 hoặc 55. Tốt nhất là kháng thể đơn dòng phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:21; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:22 hoặc 53 hoặc 55.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh kháng nguyên của nó, bao gồm HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 và LCDR3, có trình tự polypeptit có các SEQ ID No lần lượt là:1, 2, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID No lần lượt là:56, 58, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID No lần lượt là:56, 2, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID No lần lượt là:1, 58, 3, 4, 5 và 6. Theo một phương án khác, kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, chẳng hạn như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No:20, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, ví dụ như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No:14. Tốt nhất là, kháng thể đơn dòng phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:20; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, bao gồm HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 và LCDR3, có trình tự polypeptit có các SEQ ID No lần lượt là: 1, 7, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID No lần lượt là: 56, 57, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID No lần lượt là: 56, 7, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID No lần lượt là: 1, 57, 3, 8, 5 và 6. Theo một phương án khác, kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, chẳng hạn như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No: 19, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, ví dụ như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No: 18. Tốt nhất là, kháng thể đơn dòng phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No: 19; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No: 18.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, bao gồm HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 và LCDR3, có trình tự polypeptit có các SEQ ID No lần lượt là: 1, 7, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID No lần lượt là: 56, 57, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID No lần lượt là: 56, 7, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID No lần lượt là: 1, 57, 3, 8, 5 và 6. Theo một phương án khác, kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, chẳng hạn như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No: 17, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, ví dụ như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No: 18. Tốt nhất là, kháng thể đơn dòng phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No: 17; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No: 18.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 và LCDR3, có trình tự polypeptit có các SEQ ID NO lần lượt là: 1, 7, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID NO lần lượt là: 56, 57, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID NO lần lượt là: 56, 7, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID NO lần lượt là: 1, 57, 3, 8, 5 và 6. Theo một phương án khác, kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao

gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, chẳng hạn như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No:16, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, ví dụ như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No:14. Tốt nhất là, kháng thể đơn dòng phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:16; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 và LCDR3, có trình tự polypeptit có các SEQ ID NO lần lượt là: 1, 7, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID NO lần lượt là:56, 57, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID NO lần lượt là:56, 7, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID No lần lượt là:1, 57, 3, 8, 5 và 6. Theo một phương án khác, kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, chẳng hạn như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No:15, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, ví dụ như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No:14. Tốt nhất là, kháng thể đơn dòng phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:15; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 và LCDR3, có trình tự polypeptit có các SEQ ID NO lần lượt là: 1, 7, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID NO lần lượt là:56, 57, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID NO lần lượt là:56, 7, 3, 4, 5 và 6 hoặc các SEQ ID NO lần lượt là:1, 57, 3, 8, 5 và 6. Theo một phương án khác, kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, chẳng hạn như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No:13, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, ví dụ như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No:14. Tốt nhất là, kháng thể đơn dòng phân lập hoặc mảnh gắn

kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:13; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 và LCDR3, có trình tự polypeptit có các SEQ ID NO lần lượt là: 1, 7, 3, 8, 5 và 6 hoặc các SEQ ID NO lần lượt là:56, 57, 3, 8, 5 và 6 hoặc các SEQ ID NO lần lượt là:56, 7, 3, 8, 5 và 6 hoặc các SEQ ID NO lần lượt là:1, 57, 3, 8, 5 và 6. Theo một phương án khác, kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, chẳng hạn như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No:11, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, ví dụ như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No:12. Tốt nhất là, kháng thể đơn dòng phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:11; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:12.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 và LCDR3, có trình tự polypeptit có các SEQ ID NO lần lượt là: 1, 7, 3, 8, 5 và 6 hoặc các SEQ ID NO lần lượt là:56, 57, 3, 8, 5 và 6 hoặc các SEQ ID NO lần lượt là:56, 7, 3, 8, 5 và 6 hoặc các SEQ ID NO lần lượt là:1, 57, 3, 8, 5 và 6. Theo một phương án khác, kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, chẳng hạn như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No:9, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 85 %, tốt hơn là 90 %, tốt hơn nữa là 95 % trở lên, ví dụ như 95 %, 96 %, 97 %, 98 % hoặc 99 % với SEQ ID No:10. Tốt nhất là, kháng thể đơn dòng phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:9; và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:10.

Theo một phương án cụ thể khác, kháng thể đơn dòng phân lập bao gồm:

- a. trình tự axit amin chuỗi nặng gồm có SEQ ID No:37 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID No:38;

b. trình tự axit amin chuỗi nặng gồm có SEQ ID No:39 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID No:38;

c. trình tự axit amin chuỗi nặng gồm có SEQ ID No:37 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID No:52; hoặc

d. trình tự axit amin chuỗi nặng gồm có SEQ ID No:39 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID No:55.

Theo một phương án cụ thể khác, sáng chế đề cập đến kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo sáng chế, trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên này là dạng khảm.

Theo một phương án cụ thể khác, sáng chế đề cập đến kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo sáng chế, trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên này là của người hoặc được nhân tính hóa.

Theo một phương án cụ thể khác, sáng chế đề cập đến các mảnh gắn kháng nguyên, trong đó mảnh gắn kháng nguyên này được chọn từ nhóm các mảnh bao gồm Fv, F(ab'), F(ab')₂ và scFv. Kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó liên kết có chọn lọc với peptit 3pE Aβ (ví dụ: Aβ_{3pE-40} và Aβ_{3pE-42}), có ít hoặc không có phản ứng chéo với peptit Aβ hoặc protein tiền chất β-amyloid khác (APP).

Theo phương án chung khác, sáng chế cũng đề cập đến axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể đơn dòng hoặc đoạn gắn kháng nguyên của nó theo sáng chế. Những người có trình độ trong ngành sẽ hiểu rằng trình tự mã hóa của protein có thể được thay đổi (ví dụ, được thay thế, bị làm mất đoạn, bị chèn đoạn) mà không thay đổi trình tự axit amin của protein. Theo đó, những người có trình độ trong ngành sẽ hiểu rằng trình tự axit nucleic mã hóa kháng thể đơn dòng của sáng chế hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó có thể được thay đổi mà không thay đổi trình tự axit amin của các protein này.

Theo phương án chung khác, sáng chế cũng đề cập đến vector bao gồm axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể đơn dòng của sáng chế hoặc đoạn gắn kháng nguyên của nó. Có thể sử dụng vector bất kỳ được người có trình độ trong ngành biết đến theo quan điểm của sáng chế, như plasmid, cosmid, vector thực khuẩn hoặc vector vi rút. Trong một số phương án, vector là vector biểu hiện tái tổ hợp như plasmid. Vector có thể bao gồm phần tử bất kỳ để thiết lập chức năng thông thường của vector biểu hiện, ví dụ, vùng khởi động, phần tử bám ribô thể, vùng kết thúc, vùng tăng cường, dấu ấn chọn lọc, hoặc gốc sao chép. Vùng

khởi động có thể là vùng khởi động cơ định, cảm ứng hoặc ức chế. Số vector biểu hiện có khả năng đưa axit nucleic đến tế bào đã được biết đến trong ngành và có thể được sử dụng ở đây để sản xuất kháng thể hoặc đoạn gắn kháng nguyên của nó trong tế bào. Có thể sử dụng các kỹ thuật tạo dòng thông thường hoặc tổng hợp gen nhân tạo để tạo vector biểu hiện tái tổ hợp theo phương án của sáng chế.

Trong phương án chung khác, sáng chế cũng đề cập đến tế bào chủ bao gồm axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể đơn dòng của sáng chế hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó. Có thể sử dụng tế bào chủ bất kỳ được người có trình độ trong ngành biết đến theo quan điểm của sáng chế để biểu hiện tái tổ hợp kháng thể của sáng chế hoặc đoạn gắn kháng nguyên của nó. Theo một số phương án, tế bào chủ là tế bào TG1 hoặc BL21 của vi khuẩn *E. coli* (cho biểu hiện của, ví dụ, kháng thể scFv hoặc Fab (đoạn gắn kháng nguyên)), tế bào CHO-DG44 hoặc CHO-K1 hoặc tế bào HEK293 (cho biểu hiện của, ví dụ kháng thể IgG có đủ độ dài). Theo các phương án cụ thể, vector biểu hiện tái tổ hợp được biến đổi thành tế bào chủ bằng các phương pháp thông thường như truyền hóa chất, sốc nhiệt hoặc công nghệ điện di, trong đó vector biểu hiện tái tổ hợp được tích hợp ổn định vào bộ gen tế bào chủ để axit nucleic tái tổ hợp được biểu hiện hiệu quả.

Theo phương án chung khác, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất kháng thể đơn dòng của sáng chế hoặc đoạn gắn kháng nguyên của nó, bao gồm bước nuôi cấy tế bào bao gồm polynucleotit mã hóa kháng thể đơn dòng hoặc đoạn gắn kháng nguyên của nó trong các điều kiện để có thể tạo ra kháng thể đơn dòng của sáng chế hoặc đoạn gắn kháng nguyên của nó, và bước thu hồi kháng thể hoặc đoạn gắn kháng nguyên của nó từ tế bào hoặc mẻ nuôi cấy tế bào (ví dụ, từ lớp bề mặt). Có thể thu hoạch các kháng thể hoặc đoạn gắn kháng nguyên của nó từ các tế bào và được tinh chế theo các kỹ thuật thông thường trong ngành và theo mô tả trong tài liệu này.

Sáng chế đề xuất kháng thể được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó liên kết với 3pE A β . Thuật ngữ “kháng thể” trong tài liệu này chỉ protein globulin miễn dịch có khả năng liên kết với kháng nguyên hoặc một phần của nó, đặc biệt là protein globulin miễn dịch có khả năng liên kết đặc hiệu với 3pE A β . Sự gắn kết kháng thể với kháng nguyên có thể được đo lường bằng các phương pháp mà những người có kỹ năng trong ngành biết đến, ví dụ như sử dụng thiết bị BIAcore™. Kháng thể hoặc mảnh kháng thể gắn kháng nguyên được cho là liên kết đặc hiệu với kháng nguyên khi hằng số phân

ly nhỏ hơn hoặc bằng 1 μM , tốt hơn là nhỏ hơn hoặc bằng 100 nM và tốt nhất là nhỏ hơn hoặc bằng 10 nM.

Các mảnh gắn kháng nguyên của kháng thể đề cập đến mảnh của kháng thể có thể liên kết với kháng nguyên mà kháng thể nguyên vẹn liên kết và cạnh tranh với kháng thể nguyên vẹn để gắn kháng nguyên. Các mảnh gắn kháng nguyên bao gồm một phần kháng thể nguyên vẹn cho phép gắn kháng nguyên (nghĩa là vùng biến đổi của kháng thể nguyên vẹn). Các mảnh gắn kháng nguyên có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở Fab, Fab', F(ab')₂, mảnh Fv, mảnh Fv ổn định disulfua (dsFv), (dsFv)₂, dsFv đặc hiệu đôi (dsFv-dsFv'), phân tử kháng thể chuỗi đơn (ví dụ: scFV), diabody (kháng thể đặc hiệu đôi tái tổ hợp), minibody, nanobody (kháng thể đơn vùng), kháng thể dài và hẹp, kháng thể đơn miền (sdab), kháng thể đơn miền được camel hóa, kháng thể đa hiệu được tạo thành từ các mảnh kháng thể và mảnh kháng thể khác bất kỳ liên kết với kháng nguyên nhưng không bao gồm cấu trúc kháng thể hoàn chỉnh.

Kháng thể được tạo thành từ hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ. Mỗi chuỗi nặng có một miền hoặc vùng thay đổi (V_H), tiếp theo là miền hoặc vùng hằng định (C_{H1}), vùng bản lề và hai miền hoặc vùng hằng định khác (C_{H2} và C_{H3}). Mỗi chuỗi nhẹ có một miền hoặc vùng biến đổi (V_L) và một miền hoặc vùng hằng định (C_L). Các miền hoặc vùng thay đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ tạo thành paratope (vị trí bám) của kháng thể (cấu trúc tương tự như ổ khóa), đặc hiệu dành cho một epitope (khu vực cụ thể trong kháng nguyên) cụ thể (tương tự như chìa khóa) để paratope và epitope có thể liên kết với nhau chính xác. Trong miền biến đổi, mỗi ba vòng biến đổi của sợi β trên chuỗi nhẹ và chuỗi nặng chịu trách nhiệm liên kết với kháng nguyên. Các vòng này được gọi là vùng xác định bổ sung (CDR, cụ thể là CDR1, CDR2 và CDR3).

CDR được định nghĩa là vùng xác định bổ sung của kháng thể. Đây là những vùng siêu biến của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ kháng thể, chịu trách nhiệm chính trong việc liên kết với kháng nguyên. Có ba CDR (CDR1, CDR2 và CDR3) trong từng vùng biến đổi chuỗi nặng và nhẹ. Các vùng xác định bổ sung biến đổi chuỗi nhẹ được gọi cách khác là LCDR1, LCDR2 và LCDR3, và các vùng xác định bổ sung biến đổi chuỗi nặng được gọi cách khác là HCDR1, HCDR2 và HCDR3. CDR của kháng thể có thể được xác định theo một số cách. Ví dụ: CDR trong vùng biến đổi có thể được xác định theo định nghĩa của Kabat, Chothia, IMGT và/hoặc các định nghĩa về cấu hình hoặc bất kỳ phương pháp xác định CDR nào đã được biết đến trong ngành. CDR kháng thể có thể được xác định là vùng

siêu biến ban đầu được định nghĩa bởi Kabat (Kabat và cộng sự, 1992, Trình tự các protein có lợi ích miễn dịch, ấn bản thứ 5, Dịch vụ y tế công cộng, NIH, Washington D.C.), cấu trúc vòng có cấu trúc ban đầu được mô tả bởi Chothia (Chothia và cộng sự, Nature 342:877-883 (1989)) hoặc hệ thống đánh số duy nhất của IMGT (Lefranc, Nhà nghiên cứu miễn dịch 7:132-136 (1999); Lefranc và cộng sự, Nucleic Acids Res. ((Nghiên cứu axit nucleic) 27:209-212 (1999); Scaviner và cộng sự, Exp. Clin. Immunogenet. (Tạp chí miễn dịch lâm sàng thực nghiệm) 16:234-240 (1999); Lefranc và cộng sự, Nucleic Acids Res. ((Nghiên cứu axit nucleic) 43:D413-422 (2015)).

"Được phân lập" khi được sử dụng trong ngữ cảnh của kháng thể có nghĩa là được biến đổi từ trạng thái tự nhiên bất kỳ "bởi bàn tay con người"; nghĩa là, nếu xuất hiện trong tự nhiên thì nó đã được thay đổi hoặc loại bỏ khỏi môi trường ban đầu, hoặc cả hai. Ví dụ: kháng thể tồn tại tự nhiên ở động vật sống ở trạng thái tự nhiên không được "phân lập", nhưng kháng thể này được tách ra từ các vật liệu cùng tồn tại ở trạng thái tự nhiên của nó được "phân lập", như thuật ngữ được dùng trong tài liệu này, ví dụ như "kháng thể được phân lập" có thể đề cập đến kháng thể, về cơ bản là không có kháng thể khác có tính đặc hiệu kháng nguyên khác nhau (nghĩa là, kháng thể được phân lập liên kết đặc hiệu với 3pE A β về cơ bản là không có kháng thể không liên kết với 3pE A β). Kháng thể có thể tồn tại trong chế phẩm như thuốc thử xét nghiệm miễn dịch, không phải là chế phẩm tồn tại tự nhiên, và trong đó vẫn có kháng thể được phân lập theo nghĩa của thuật ngữ đó, như được dùng trong tài liệu này.

Các phương pháp sản xuất kháng thể bao gồm bước cấy vào vật chủ chất kháng nguyên mong muốn. Vật chủ phù hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở chuột, chuột cống, chuột đồng, chuột lang, thỏ, gà, lừa, ngựa, khỉ, tinh tinh, đười ươi, khỉ đột, người và loài bất kỳ có khả năng tạo đáp ứng miễn dịch trưởng thành. Quy trình tạo miễn dịch đã tồn tại lâu dài trong ngành và được nêu trong nhiều chuyên luận và ấn phẩm bao gồm "*The Immunoassay Handbook*" (Cẩm nang xét nghiệm miễn dịch)," Ấn bản thứ 2, do David Wild biên tập (Nature Publishing Group, 2000).

Tốt nhất là, chất kháng nguyên bao gồm các đặc tính theo sáng chế được dùng cho đối tượng vật chủ, ví dụ như động vật hoặc con người, kết hợp với tá chất. Các tá chất phù hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở tá chất Freund, hydroxit nhôm dạng bột (phèn), hydroxit nhôm cùng với *Bordetella pertussis* và monophosphoryl lipid A-trihaloza dicorynomycolat tổng hợp (MPL-TDM).

Thông thường, chất kháng nguyên hoặc tổ hợp chất kháng nguyên và tá chất được tiêm vào vật chủ động vật có vú bằng một hoặc nhiều mũi tiêm dưới da hoặc trong màng bụng. Tốt nhất là, chương trình tạo miễn dịch được thực hiện trong ít nhất một tuần và tốt nhất là trong hai hoặc nhiều tuần. Kháng thể đa dòng tạo ra theo cách này có thể được phân lập và tinh chế bằng các phương pháp đã được biết rõ trong ngành.

Kháng thể đơn dòng có thể được tạo ra bằng phương pháp tế bào lai đã tồn tại lâu nay của Kohler và Milstein, ví dụ như *Nature* 256:495-497 (1975). Phương pháp tế bào lai thường liên quan đến bước tạo miễn dịch cho vật chủ hoặc lympho bào từ vật chủ, bước thu thập kháng thể đơn dòng tiết ra hoặc có khả năng tiết ra lympho bào, bước dung hợp lympho bào với tế bào bất tử và bước chọn tế bào tiết ra kháng thể đơn dòng mong muốn.

Vật chủ có thể được miễn dịch để tạo lympho bào sản xuất hoặc có khả năng sản xuất kháng thể đặc hiệu dành cho chất kháng nguyên. Ngoài ra, lympho bào có thể được tạo miễn dịch *trong ống nghiệm*. Nếu cần tế bào người thì có thể sử dụng lympho bào máu ngoại vi, dù tế bào lá lách hoặc lympho bào từ nguồn động vật có vú khác được ưu tiên hơn.

Lympho bào có thể được dung hợp với dòng tế bào bất tử để tạo thành tế bào của tế bào lai, quá trình có thể được tạo điều kiện thuận lợi bằng cách sử dụng tác nhân dung hợp, ví dụ như polyetylen glycol. Theo minh họa, có thể sử dụng tế bào u tủy đột biến của loài gặm nhấm, bò hoặc người được làm bất tử bằng cách biến đổi. Quần thể tế bào của tế bào lai về cơ bản là tinh khiết, trái ngược với tế bào bất tử không được dung hợp, được ưu tiên hơn. Do đó, sau khi dung hợp, các tế bào có thể được nuôi trong môi trường thích hợp để ức chế sự phát triển hoặc tồn tại của tế bào bất tử, không dung hợp, ví dụ như dùng tế bào u tủy đột biến thiếu enzym hypoxantin guanin phosphoribosyl transferaza (HGPRT). Trong trường hợp này, hypoxantin, aminopterin và thymidin có thể được thêm vào môi trường (môi trường HAT) để ngăn tế bào thiếu HGPRT phát triển, mà vẫn cho phép tế bào lai phát triển.

Tốt nhất là, các tế bào bất tử dung hợp hiệu quả, có thể được phân lập khỏi quần thể hỗn hợp theo chọn lọc trong môi trường như HAT, và hỗ trợ sự biểu hiện ổn định và ở mức độ cao của kháng thể sau khi dung hợp. Các dòng tế bào bất tử được ưu tiên

bao gồm dòng tế bào u tủy có sẵn từ American Type Culture Collection, Manassas, VA.

Một phương án theo sáng chế là phương pháp sản xuất dòng tế bào của tế bào lai có khả năng tạo kháng thể đơn dòng liên kết với peptit beta amyloid. Những phương pháp này thường được những người có kỹ năng trong ngành biết đến và thường bao gồm: (i) bước chọn vật chủ để sản xuất kháng thể; (ii) bước cấy vào vật chủ chất kháng nguyên mong muốn; (iii) bước dung hợp dòng tế bào từ vật chủ đã cấy với tế bào phân chia liên tục để tạo tế bào dung hợp có khả năng sản xuất kháng thể đơn dòng liên kết với chất kháng nguyên; và (iv) bước tạo dòng tế bào hợp nhất để thu được dòng tế bào của tế bào lai.

Phương pháp theo sáng chế bao gồm bước sản xuất dòng tế bào của tế bào lai có khả năng sản xuất kháng thể đơn dòng liên kết với peptit 3pE A β . Tế bào lai có thể được sản xuất bằng cách tạo miễn dịch cho động vật mà có thể sản xuất ra tế bào lai, chẳng hạn như chuột Balb/c, với việc tiêm chất kháng nguyên mong muốn trong màng bụng ban đầu, chẳng hạn như peptit A β có pyroglutamat trong tá chất của Freund, sau đó là tiêm tăng cường, ví dụ như cứ sau một đến hai tuần. Có thể thực hiện dung hợp lá lách được phân lập tiếp theo bằng bất kỳ kỹ thuật nào thường được những người có kỹ năng thông thường trong ngành biết đến, tốt nhất là sử dụng tế bào SP2/0 theo quy trình sửa đổi của Kohler và Milstein (Eur. J. Immunol. (Tạp chí miễn dịch Châu Âu), 1976; 6:292-295). Tế bào lai có thể được sàng lọc để xác định loại nào sản xuất ra kháng thể đặc hiệu dành cho peptit 3pE A β . Có thể thực hiện sàng lọc khi xét nghiệm tiêu chuẩn, chẳng hạn như xét nghiệm ELISA hoặc RIA. Một phương án của sáng chế là phương pháp sản xuất dòng tế bào của tế bào lai tạo kháng thể đơn dòng BAMB31_1 hoặc phiên bản nhân tính hóa của nó.

Kháng thể đơn dòng cũng có thể được sản xuất bằng các phương pháp tái tổ hợp đã được biết đến trong ngành, ví dụ như được mô tả trong Bằng sáng chế Hoa Kỳ số 4.166.452. ADN mã hóa kháng thể đơn dòng có thể được phân lập và giải trình tự bằng quy trình thông thường, ví dụ như sử dụng các đoạn dò oligonucleotit liên kết đặc hiệu với gen chuỗi kháng thể nặng và nhẹ của chuột, tốt nhất là dò ADN được phân lập từ dòng tế bào của tế bào lai kháng thể đơn dòng tiết ra kháng thể đặc hiệu dành cho A β có pyroglutamat.

Các mảnh kháng thể có chứa vị trí liên kết cụ thể đối với peptit beta amyloid cũng có thể được tạo ra. Các mảnh này bao gồm, nhưng không giới hạn ở mảnh $F(ab')_2$ mà có thể được sản xuất bằng cách thủy phân pepsin của phân tử kháng thể và các mảnh Fab có thể được tạo ra bằng cách khử cầu disulfua của mảnh $F(ab')_2$. Ngoài ra, thư viện biểu hiện Fab có thể được hình thành để xác định nhanh chóng và dễ dàng các mảnh Fab đơn dòng có tính đặc hiệu mong muốn (Huse và cộng sự, *Science* 256:1270-1281 (1989)). Các mảnh kháng thể Fab, Fv và ScFv đều có thể được biểu hiện và tiết ra từ *Escherichia coli*, cho phép sản xuất một lượng lớn các mảnh này. Ngoài ra, các mảnh Fab'-SH có thể được thu hồi trực tiếp từ *E. coli* và ghép hóa học để tạo thành các mảnh $F(ab')_2$ (Carter và cộng sự, *BioTechnology* (Công nghệ sinh học) 10:163-167 (1992)). Các kỹ thuật khác để sản xuất mảnh kháng thể được những người có kỹ năng trong ngành biết đến. Các mảnh Fv chuỗi đơn (scFv) cũng được thấy rằng (xem, ví dụ: Bằng sáng chế Hoa Kỳ số 5.761.894 và 5.587.458). Các mảnh Fv và scFv là loại duy nhất có vị trí kết hợp nguyên vẹn không có vùng cố định; do đó, chúng có khả năng cho thấy liên kết không đặc hiệu giảm. Mảnh kháng thể cũng có thể là "kháng thể dài và hẹp", ví dụ như được mô tả trong Bằng sáng chế Hoa Kỳ số 5.642.870.

Do đó, mục tiêu theo sáng chế là để cung cấp kháng thể đơn dòng phân lập được biểu hiện bằng tế bào của tế bào lai nói trên, các kháng thể có khả năng nhận biết đặc hiệu 3pE A β . Kháng thể đơn dòng phân lập có thể được biểu hiện bằng tế bào của tế bào lai hoặc được tái tổ hợp.

Tốt nhất là, kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo sáng chế liên kết có chọn lọc với 3pE A β , ít hoặc không có phản ứng chéo với A β khác mà không có protein tiền chất 3pE hoặc β -amyloid (APP). Đặc biệt, kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo sáng chế liên kết có chọn lọc với các peptit A β 3pE-40 (SỐ ID TRÌNH TỰ:40 hoặc SEQ ID No:45) và A β 3pE-42 (SỐ ID TRÌNH TỰ:51) với ít hoặc không có phản ứng chéo với peptit A β hoặc APP không phải 3pE khác.

Bảng 1 cung cấp các trình tự axit amin của kháng thể theo sáng chế. CDR của các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ như được định nghĩa bởi Kabat, Chothia và IMGT được đặt là trình tự riêng biệt.

Bảng 1: Trình tự kháng thể đơn dòng 3pE Aβ

mAb (kháng thể đơn dòng)	Khu vực	SEQ ID No:	Trình tự
BAMB31_1	Chuỗi nặng		
	VH	9	EIQLQQSGPELVKPGTSVKVSCASGHVFTSYDMYW VKQSHGKSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKATLTV DKSSSTAYMHLNSLTSEDSAVYYCAYRYAMDYWG QGTSVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	DSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	Chuỗi nhẹ		
	VL	10	DVVMQTQPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLDSNGKTYL TWLLQRPQGSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGAGTD FTLKIIRVEAEDLGVIYCWQGTHTFPYTFGGGKLEIK
	LCDR1	8	KSSQSLLDSNGKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHTFPYT
BAMB31_2a	Chuỗi nặng	23	EIQLQQSGPELVKPGTSVKVSCASGHVFTSYDMYWV KQSHGKSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKATLTVDK SSSTAYMHLNSLTSEDSAVYYCAYRYAMDYWGQGT SVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGY FPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVT SSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDDKIEPRGPTIKPCPPCK CPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSE DDPDVQISWVFNNEVHTAQQTQTHREDYNSTLRVVS LPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSV RAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVE WTNNGKTELNYKNTEPVLDSGYSFMYSKLRVEKKN WVERNYSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
	VH	9	EIQLQQSGPELVKPGTSVKVSCASGHVFTSYDMYWV KQSHGKSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKATLTVDK SSSTAYMHLNSLTSEDSAVYYCAYRYAMDYWGQGT SVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG

	HCDR2 AbM	57	DSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	Chuỗi nhẹ	24	DVVMQTQPLTSLSVTIGQPASISCKSSQSLLDSNGKTYL TWLLQRPQGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGAGTD FTLKIIRVEAEDLGVIYYCWQGTTFPYTFGGGKLEIK RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDIN VKWKIDGSRQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLT TKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRECE
	VL	10	DVVMQTQPLTSLSVTIGQPASISCKSSQSLLDSNGKTYL TWLLQRPQGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGAGTD FTLKIIRVEAEDLGVIYYCWQGTTFPYTFGGGKLEIK
	LCDR1	8	KSSQSLLDSNGKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTTFPYT
BAMB246	Chuỗi nặng	25	EIQLQQSGPELVKPGTSVKVSCASGHVFTSYDMYWV KQSHGKSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKATLTVDK SSSTAYMHLNSLTSEDSAVYYCAYRYAMDYWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	VH	9	EIQLQQSGPELVKPGTSVKVSCASGHVFTSYDMYWV KQSHGKSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKATLTVDK SSSTAYMHLNSLTSEDSAVYYCAYRYAMDYWGQGT SVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	YIDSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	Chuỗi nhẹ	26	DVVMQTQPLTSLSVTIGQPASISCKSSQSLLDSNGKTYL TWLLQRPQGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGAGTD FTLKIIRVEAEDLGVIYYCWQGTTFPYTFGGGKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

	VL	10	DVVMQTQPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLDSNGKTYL TWLLQRPQGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGAGTD FTLKIIRVEAEDLGVIYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK
	LCDR1	8	KSSQSLLDSNGKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB611	Chuỗi nặng	27	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQGLEWMGYIDSDNGDTSYNQKFKGRVTMTV DTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAYRYAMDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSLKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	VH	11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQGLEWMGYIDSDNGDTSYNQKFKGRVTMTV DTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAYRYAMDYWGQ GTLVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	YIDSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	Chuỗi nhẹ	28	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSNGKTY LTFWQQRPQGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTLSSTL TLISKADYEKKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	VL	12	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSNGKTYL TWFQQRPQGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK
	LCDR1	8	KSSQSLLDSNGKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB612	Chuỗi nặng	29	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQSPGQGLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGRVTLTVD STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAYRYAMDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP

			SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	VH	13	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQSPGQGLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGRVTLTVDT STSTVYMELSSLRSED TAVYYCAYRYAMDYWGQGT LTVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	YIDSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	Chuỗi nhẹ	30	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTY LTWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTL TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
	VL	14	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYL TWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK
	LCDR1	4	KSSQSLLDSRAKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB613	Chuỗi nặng	31	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQGLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKVTLTVD TSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAYRYAMDYWGQGT TLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	VH	15	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQGLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKVTLTVD TSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAYRYAMDYWGQGT TLTVTVSS

	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	YIDSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	Chuỗi nhẹ	30	DVVM TQSP LSLP VTLGQP ASISCKSSQSLLDSRAKTY LTWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
	VL	14	DVVM TQSP LSLP VTLGQP ASISCKSSQSLLDSRAKTY LTWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEI K
	LCDR1	4	KSSQSLLDSRAKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB614			
	Chuỗi nặng	32	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQGLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGRVTLTV TSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAYRYAMDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	VH	16	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQGLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGRVTLTV TSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAYRYAMDYWGQG TLVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	YIDSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY

	Chuỗi nhẹ	30	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTY LTWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTL TLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	VL	14	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYL TWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK
	LCDR1	4	KSSQSLLDSRAKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB630	Chuỗi nặng	33	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VKQAPGQSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKVTLTVD TSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAYRYAMDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	VH	17	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VKQAPGQSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKVTLTVD TSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAYRYAMDYWGQG TLVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	YIDSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	Chuỗi nhẹ	34	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTY LTWLLQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTL TLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	VL	18	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYL TWLLQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK
	LCDR1	4	KSSQSLLDSRAKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT

BAMB631	Chuỗi nặng	35	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQSLEWMGYIDSDNGDTSYNQKFKGRVTLTVD TSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAYRYAMDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	VH	19	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQSLEWMGYIDSDNGDTSYNQKFKGRVTLTVD TSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAYRYAMDYWGQG TLVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	YIDSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	Chuỗi nhẹ	34	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTY LTWLLQRPQGSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	VL	18	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYL TWLLQRPQGSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIK
	LCDR1	4	KSSQSLLDSRAKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB623	Chuỗi nặng	36	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKATMTVD TSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAYRYAMDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI

			AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	VH	20	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKATMTVD TSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAYRYAMDYWGQG TLVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	YIDSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	Chuỗi nhẹ	30	DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTY LTWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTL TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
	VL	14	DVVMTQSPSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTY LTWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEI K
	LCDR1	4	KSSQSLLDSRAKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB674	Chuỗi nặng	37	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQGLEWIGYIDSDSGDTSYNQKFKGRVTLTVDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAYRYAMDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	VH	21	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQGLEWIGYIDSDSGDTSYNQKFKGRVTLTVDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAYRYAMDYWGQGT LVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY

	HCDR2 Kabat	2	YIDSD <u>S</u> GDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	58	YIDSD <u>S</u> GDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	Chuỗi nhẹ	38	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTY LTWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEI KRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTL TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	VL	22	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTY LTWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEI K
	LCDR1	4	KSSQSLLDS <u>RA</u> KTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB675			
	Chuỗi nặng	39	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQGLEWIGYIDSDSGDTSYNQKFKGRVTLTVDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAYRYAMDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL <u>YITRE</u> PEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	VH	21	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQGLEWIGYIDSDSGDTSYNQKFKGRVTLTVDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAYRYAMDYWGQGT LVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	2	YIDSD <u>S</u> GDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	58	YIDSD <u>S</u> GDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	Chuỗi nhẹ	38	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYL TWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEIKR TVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV

			QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLISK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	VL	22	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTY LTWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGKLEI K
	LCDR1	4	KSSQSLLDS <u>RA</u> KTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB700	Chuỗi nặng	37	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQGLEWIGYIDSDSGDTSYNQKFKGRVTLTVDT STSTVYMELSSLRSED ² AVYYCAYRYAMDYWGQGT LTVVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	VH	21	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQGLEWIGYIDSDSGDTSYNQKFKGRVTLTVDT STSTVYMELSSLRSED ² AVYYCAYRYAMDYWGQGT LTVVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	2	YIDSD <u>S</u> GDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	58	YIDSD <u>S</u> GDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	Chuỗi nhẹ	52	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTY LTWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQGTKLEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTL TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	VL	53	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTY LTWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQGTKLEI K
	LCDR1	4	KSSQSLLDS <u>RA</u> KTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB701	Chuỗi nặng	39	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQGLEWIGYIDSDSGDTSYNQKFKGRVTLTVDT

		STSTVYMESSLRSED T AVYYCAYRYAMDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL <u>Y</u> <u>T</u> <u>R</u> EPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
VH	21	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYW VRQAPGQGLEWIGYIDSDSGDTSYNQKFKGRVTLTVDT STSTVYMESSLRSED T AVYYCAYRYAMDYWGQGT LVTVSS
HCDR1 Kabat	1	SYDMY
HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
HCDR2 Kabat	2	YIDSD <u>S</u> GDTSYNQKFKG
HCDR2 AbM	58	YIDSD <u>S</u> GDTS
HCDR3	3	YRYAMDY
Chuỗi nhẹ	54	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTY LTWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKVE IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTL TLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
VL	55	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTY LTWLQQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGT DFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKVE IK
LCDR1	4	KSSQSLLDS <u>R</u> AKTYLT
LCDR2	5	LVSKLDS
LCDR3	6	WQGTHFPYT

Thuật ngữ “đồng nhất” hoặc phần trăm “đồng nhất” trong ngữ cảnh có hai hoặc nhiều axit nucleic hoặc trình tự polypeptit (ví dụ: kháng thể kháng 3pE A β và polynucleotit mã hóa chúng, polypeptit 3pE A β và polynucleotit 3pE A β mã hóa chúng), đề cập đến hai hoặc nhiều trình tự hoặc trình tự con giống nhau hoặc có phần trăm xác định các đơn phân axit amin hoặc nucleotit giống nhau, khi so sánh và bắt

cặp sẽ tạo sự tương ứng tối đa, như được đo lường bằng cách sử dụng một trong các thuật toán so sánh trình tự sau đây hoặc bằng cách kiểm tra bằng mắt.

Để so sánh chuỗi, thông thường một chuỗi đóng vai trò là chuỗi tham chiếu còn chuỗi thử nghiệm được so sánh với nó. Khi sử dụng thuật toán so sánh chuỗi, các chuỗi tham chiếu và thử nghiệm được nhập vào máy tính, tọa độ chuỗi con được chỉ định, nếu cần, và các tham số chương trình thuật toán chuỗi được chỉ định. Thuật toán so sánh chuỗi sau đó tính toán phần trăm đồng nhất chuỗi cho chuỗi thử nghiệm so với chuỗi tham chiếu, dựa trên các tham số chương trình được chỉ định.

Có thể thực hiện bắt cặp tối đa các chuỗi để so sánh, ví dụ, bằng thuật toán tương đồng tại chỗ của Smith & Waterman, *Adv. Appl. Math.* (Tiến bộ trong toán học ứng dụng) 2:482 (1981), bằng thuật toán bắt cặp tương đồng của Needleman & Wunsch, *J. Mol. Biol.* (Tạp chí sinh học phân tử) 48:443 (1970), bằng phương pháp tìm kiếm sự đồng dạng của Pearson & Lipman, *Proc. Nat'l. Acad. Sci.* (Kỷ yếu Viện Hàn lâm Khoa học Quốc gia) USA (Kỷ yếu Viện Hàn lâm Khoa học Quốc gia Hoa Kỳ) 85:2444 (1988), bằng sự triển khai các thuật toán này trên máy tính (GAP, BESTFIT, FASTA, và TFASTA trong Gói phần mềm di truyền Wisconsin, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), hoặc qua kiểm tra bằng mắt (xem tổng thể, *Current Protocols in Molecular Biology* (Các quy trình hiện nay trong sinh học phân tử), F.M. Ausubel và cộng sự, btv, *Current Protocols* ((Các quy trình hiện nay), dự án hợp tác giữa Greene Publishing Associates, Inc. và John Wiley & Sons, Inc., (1995 Supplement) (Ausubel)).

Các ví dụ về các thuật toán phù hợp để xác định phần trăm đồng nhất trình tự và đồng dạng trình tự là thuật toán BLAST và BLAST 2.0, được mô tả lần lượt trong Altschul và cộng sự (1990) *J. Mol. Biol.* (Tạp chí sinh học phân tử) 215: 403-410 và Altschul và cộng sự (1997) *Nucleic Acids Res.* (Nghiên cứu axit nucleic) 25: 3389-3402. Phần mềm để thực hiện phân tích BLAST đã có trên thị trường thông qua Trung tâm quốc gia Thông tin công nghệ sinh học (National Center for Biotechnology Information). Thuật toán này trước tiên liên quan đến việc xác định các cặp trình tự cho điểm cao (HSP) bằng cách xác định các từ ngắn có độ dài W trong chuỗi truy vấn, các từ này khớp hoặc thỏa mãn một số điểm ngưỡng có giá trị dương T khi được bắt cặp với từ có cùng độ dài trong chuỗi cơ sở dữ liệu. T được gọi là ngưỡng điểm từ vùng lân cận (Altschul và cộng sự, *supra*). Các kết quả khớp từ lân cận ban đầu này đóng vai trò là hạt giống để bắt đầu tìm kiếm để tìm các HSP dài

hơn có chứa chúng. Kết quả khớp từ sau đó được mở rộng theo cả hai hướng dọc theo mỗi chuỗi sao cho có thể tăng điểm bất cặp tích lũy.

Điểm tích lũy được tính bằng cách sử dụng tham số M (điểm thưởng cho cặp đơn phân phù hợp) cho trình tự nucleotit; luôn luôn > 0) và N (điểm phạt cho các đơn phân không phù hợp; luôn luôn < 0). Đối với trình tự axit amin, ma trận tính điểm được sử dụng để tính điểm tích lũy. Sự mở rộng các kết quả khớp từ theo mỗi hướng bị dừng lại khi: điểm bất cặp tích lũy giảm đi bởi số lượng X so với giá trị đạt được lớn nhất của nó; điểm tích lũy bằng 0 hoặc thấp hơn, do sự tích lũy của một hoặc nhiều sự bất cặp đơn phân điểm âm; hoặc đến cuối của một trong hai trình tự. Các tham số của thuật toán BLAST W, T và X xác định độ nhạy và tốc độ bất cặp. Chương trình BLASTN (cho trình tự nucleotit) sử dụng làm mặc định độ dài từ (W) là 11, kỳ vọng (E) là 10, M=5, N=-4 và so sánh cả hai sợi. Đối với trình tự axit amin, chương trình BLASTP sử dụng làm mặc định độ dài từ (W) là 3, kỳ vọng (E) là 10 và ma trận cho điểm BLOSUM62 (xem Henikoff & Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci.(Kỷ yếu Viện Hàn lâm Khoa học Quốc gia) USA 89:10915 (1989)).

Ngoài việc tính toán nhận dạng trình tự phần trăm, thuật toán BLAST cũng thực hiện phân tích thống kê về sự giống nhau giữa hai trình tự (xem, ví dụ: Karlin & Altschul, Proc. Nat'l. Acad. Sci.(Kỷ yếu Viện Hàn lâm Khoa học Quốc gia) USA 90:5873-5787 (1993)). Một phép đo sự tương đồng được đề xuất bởi thuật toán BLAST là xác suất tổng nhỏ nhất (P (N)), cung cấp chỉ báo về xác suất mà sự trùng khớp giữa hai trình tự nucleotide hoặc axit amin sẽ tình cờ xảy ra. Ví dụ, axit nucleic được xem là tương tự như trình tự chuẩn nếu xác suất tổng nhỏ nhất khi so sánh giữa axit nucleic thử nghiệm với axit nucleic chuẩn là nhỏ hơn khoảng 0,1, tốt hơn là nhỏ hơn khoảng 0,01 và tốt nhất là nhỏ hơn khoảng 0,001.

Chỉ báo khác rằng hai chuỗi axit nucleic hoặc polypeptit về cơ bản là đồng nhất là polypeptit được mã hóa bởi axit nucleic thứ nhất phản ứng chéo miễn dịch với polypeptit được mã hóa bởi axit nucleic thứ hai, như được mô tả ở phần dưới. Theo đó, polypeptit về cơ bản là đồng nhất với polypeptit thứ hai, ví dụ, trong đó hai peptit chỉ khác nhau các thay thế bảo thủ. Chỉ báo khác rằng hai chuỗi axit nucleic hoặc polypeptit về cơ bản là đồng nhất là hai phân tử lai hóa với nhau trong các điều kiện khắc nghiệt.

Các phương pháp trong ống nghiệm

Cần hiểu rằng tất cả cách thức xét nghiệm miễn dịch sử dụng kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng được dự kiến sử dụng theo các phương án hiện được ưu tiên, bao gồm các xét nghiệm mà kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng được liên kết với pha rắn và các xét nghiệm mà có kháng thể trong môi trường lỏng. Các phương pháp xét nghiệm miễn dịch có thể được sử dụng để phát hiện chất đang được phân tích bằng cách dùng kháng thể biểu hiện các đặc tính theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở thử nghiệm cạnh tranh (giới hạn thuốc thử), trong đó chất phân tích được gắn nhãn (chất tương tự chất phân tích) và chất phân tích trong mẫu cạnh tranh với kháng thể và xét nghiệm định lượng miễn dịch đơn tại chỗ, trong đó kháng thể này được gắn nhãn; và tương tự.

Theo sáng chế, kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng có thể được sử dụng trong các kỹ thuật miễn dịch học thông thường để phát hiện A β 3pE ở bất cứ nơi nào có thể xảy ra, kể cả mẫu sinh học để theo dõi các bệnh liên quan đến β -amyloid và môi trường được điều hòa từ nuôi cấy tế bào để theo dõi quá trình xử lý nội bào của APP. Những kỹ thuật miễn dịch phù hợp đã được những người có kỹ năng trong ngành biết rõ và bao gồm, ví dụ như kỹ thuật ELISA, phân tích Western Blot, xét nghiệm miễn dịch cạnh tranh hoặc tầng kẹp (sandwich) và các kỹ thuật tương tự, và như được biết đến nhiều, tất cả đều phụ thuộc vào sự tạo thành phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể, trong đó đối với mục đích xét nghiệm, kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó có thể được gắn nhãn là phát hiện, ví dụ: vô tuyến, enzym, nhãn phát quang hoặc huỳnh quang hoặc có thể được cố định trên chất mang không hòa tan. Do đó, mục đích của sáng chế là đề xuất các xét nghiệm miễn dịch để xác định hoặc phát hiện A β 3pE hoặc mảnh của nó trong mẫu, phương pháp này bao gồm bước cho mẫu tiếp xúc với kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó với A β 3pE hoặc mảnh của nó theo sáng chế, và bước xác định liệu phức hợp miễn dịch có được hình thành giữa kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó và A β 3pE hoặc mảnh của nó hay không. Những phương pháp này có thể được thực hiện trên các mẫu mô hoặc mẫu dịch cơ thể và thường bao gồm bước lấy mẫu từ cơ thể của đối tượng; bước cho mẫu này tiếp xúc với lượng tạo ảnh hiệu quả của kháng thể được gắn nhãn là có thể phát hiện hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo sáng chế; và bước phát hiện nhãn để xác định sự hiện diện của A β 3pE hoặc các mảnh của chúng trong mẫu. Các phương pháp đo sử dụng kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng

theo sáng chế không bị giới hạn đặc biệt. Có thể sử dụng bất kỳ phương pháp đo lường nào miễn là lượng kháng thể, kháng nguyên hoặc phức hợp kháng nguyên-kháng thể tương ứng với lượng kháng nguyên, đặc biệt là lượng A β 3pE hoặc các mảnh của chúng trong dung dịch cần đo được phát hiện bằng phương pháp hóa học hoặc vật lý, và được tính từ các đường cong chuẩn được điều chế bằng cách dùng dung dịch chuẩn có chứa kháng nguyên với lượng đã biết. Ví dụ: phép định lượng bằng độ đục, phương pháp cạnh tranh, phương pháp định lượng miễn dịch và phương pháp tăng kẹp được sử dụng thích hợp. Đặc biệt ưu tiên sử dụng phương pháp tăng kẹp đối với độ nhạy và tính đặc hiệu.

Theo phương pháp tăng kẹp, dung dịch thử nghiệm được cho phản ứng với kháng thể không hòa tan, chẳng hạn như kháng thể kháng A β 3pE không hòa tan (phản ứng thứ nhất). Ngoài ra, kháng thể thứ cấp đã gắn nhãn được cho phản ứng (phản ứng thứ hai); sau đó, hoạt tính của chất gắn nhãn trên chất mang không hòa tan sẽ được xét nghiệm, nhờ đó có thể xác định được lượng A β 3pE hoặc các mảnh của chúng trong dung dịch thử nghiệm. Phản ứng thứ nhất và phản ứng thứ hai có thể được tiến hành đồng thời hoặc tuần tự.

Theo các phương pháp đo, chất dán nhãn, đồng vị phóng xạ, enzym, chất huỳnh quang, chất phát sáng... được sử dụng làm chất gắn nhãn. Ví dụ về các đồng vị phóng xạ bao gồm ^{125}I , ^{131}I , ^3H và ^{14}C . Enzym thường được tạo ra để có thể phát hiện bằng cách liên hợp với cơ chất thích hợp mà sẽ xúc tác cho phản ứng có thể phát hiện được. Các ví dụ về chất này bao gồm, chẳng hạn như beta-galactosidaza, beta-glucosidaza, phosphataza kiềm, peroxidaza và malat dehydrogenaza, tốt hơn là peroxydaza ở cây cải ngựa. Các chất phát sáng bao gồm, ví dụ như luminol, chất dẫn xuất luminol, luciferin, aequorin và luciferaza. Ngoài ra, hệ thống avidin-biotin cũng có thể được sử dụng để gắn nhãn các kháng thể và chất kháng nguyên theo sáng chế. Khi chất kháng nguyên hoặc kháng thể không hòa tan, có thể sử dụng quá trình hấp thụ vật lý hoặc liên kết hóa học thường được dùng để khử hòa tan hoặc cố định protein hoặc enzym. Ví dụ về chất mang bao gồm polysacarit không hòa tan như agaroza, dextran và xenluloza, nhựa tổng hợp như polystyren, polyacrylamit và polyme silicon và thủy tinh.

Theo một phương án khác, để phát hiện hoặc chẩn đoán các bệnh liên quan đến β -amyloid, mẫu sinh học bao gồm mô, dịch cơ thể, chẳng hạn như dịch não tủy (CSF), máu, huyết tương, huyết thanh, nước tiểu, v.v., được chứa và tiếp xúc với một lượng kháng thể thứ nhất phù hợp để sản xuất phức hợp miễn dịch. Việc tiếp xúc thường bao

gồm bước thêm mẫu vào cơ chất rắn được phủ kháng thể thứ nhất. Phức hợp tạo ra từ bước cho mẫu tiếp xúc với kháng thể thứ nhất được tách khỏi mẫu bằng cách rửa giải. Tuy nhiên, các phương pháp phục hồi khác có thể được sử dụng. Phức hợp đã phục hồi được cho tiếp xúc với ít nhất một kháng thể thứ hai liên quan đến yếu tố quyết định kháng nguyên trên kháng nguyên và có khả năng liên kết với kháng nguyên trong phức hợp. Yếu tố quyết định kháng nguyên liên quan đến kháng thể thứ hai có thể giống với yếu tố mà kháng thể thứ nhất đề cập đến, do bản chất đa epitope của thực thể kháng nguyên. Có thể phát hiện được kháng thể thứ nhất hoặc thứ hai bằng cách sử dụng bất kỳ nhãn nào được mô tả ở trên. Theo phương án ưu tiên, kháng thể thứ hai được tạo ra có thể phát hiện. Sự hiện diện của kháng thể có thể phát hiện liên kết với phức hợp bao gồm kháng nguyên liên kết với kháng thể thứ nhất và thứ hai có thể được phát hiện dễ dàng bằng các kỹ thuật đã được biết đến. Bằng cách so sánh kết quả thu được trong mẫu sinh học với kết quả thu được trên mẫu đối chứng, có thể xác định được sự hiện diện của hoặc mức A β 3pE biến đổi hoặc các mảnh của chúng.

Các phương pháp *trong cơ thể sống*

Phương án theo sáng chế liên quan đến phương pháp ngăn ngừa, cải thiện, điều trị và/hoặc làm giảm sự tích tụ amyloid-beta trong điều kiện liên quan đến amyloid-beta bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị dùng một lượng điều trị hữu hiệu kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng, như được công bố trong tài liệu này. Các phương án khác theo sáng chế bao gồm được phẩm để ngăn ngừa, cải thiện, điều trị và/hoặc làm giảm sự tích tụ amyloid trong điều kiện liên quan đến amyloid-beta gồm các kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của chúng như được công bố trong tài liệu này. Các phương pháp theo sáng chế bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu của một/nhiều kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của chúng được mô tả trong tài liệu này.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến các phương pháp ngăn ngừa, cải thiện, điều trị và/hoặc giảm sự tích tụ amyloid-beta trong điều kiện có đặc trưng là sự tạo thành các mảng chứa protein beta-amyloid của người, phương pháp này bao gồm bước cho người cần điều trị sử dụng (tốt hơn là ở ngoại biên) một lượng kháng thể hữu hiệu điều trị hoặc phòng bệnh theo sáng chế hoặc mảnh đáp ứng miễn dịch của nó mà kháng thể liên kết đặc hiệu với A β 3pE của người. Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến phương pháp ức chế sự tạo thành các mảng amyloid và/hoặc phương pháp thanh thải các mảng

amyloid ở người, phương pháp này bao gồm bước sử dụng sự ức chế hoặc thanh thải đó cho đối tượng người cần điều trị một lượng kháng thể hữu hiệu theo sáng chế, trong đó peptit A β 3pE của chất cách ly kháng thể trong não và gây ra sự thanh thải A β 3pE biến đổi trong não. Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến các kháng thể được nhân tính hóa này, bao gồm cả những phần có hiệu quả về mặt miễn dịch của chúng và phương pháp điều chế các kháng thể và phân này.

Đối tượng cần dùng là người đang mắc bệnh hoặc có khả năng trải qua tình trạng có đặc trưng là sự tạo thành các mảng chứa protein beta-amyloid. Theo một phương án, điều kiện là bệnh Alzheimer. Theo các phương án khác, tình trạng này là chứng mất trí liên quan đến bệnh Trisomy 21 (Hội chứng Down), bệnh thể Lewy lan tỏa, bệnh viêm cơ thể vùi, bệnh thoái hoá mạch máu não dạng tinh bột và xuất huyết não di truyền với chứng thoái hóa dạng tinh bột kiểu Hà Lan (HCHWA-D).

Kháng thể được nhân tính hóa là kháng thể từ loài không phải người mà có trình tự protein được sửa đổi để tăng tính tương đồng với các biến thể của kháng thể được tạo ra tự nhiên ở người. Nhìn chung, trình tự protein của kháng thể được nhân tính hóa về cơ bản là đồng nhất với trình tự của biến thể người, ngoại trừ nguồn gốc không phải người của một số/tất cả các đoạn trong vùng xác định tính bổ sung (CDR) của nó, chịu trách nhiệm về khả năng của kháng thể liên kết với kháng nguyên đích của nó. Vùng khung của vùng biến đổi được thay thế bằng vùng khung tương ứng của người, giúp CDR không phải người về cơ bản là còn nguyên vẹn. Trong một số trường hợp, kháng thể được nhân tính hóa có số lượng ít các thay thế trong một hoặc nhiều vùng CDR không phải của người để duy trì ái lực liên kết và/hoặc hằng số phân ly của kháng thể không phải của người.

Kháng thể được nhân tính hóa lại là chỉ kháng thể bao gồm khung của người, ít nhất một CDR từ kháng thể không phải của người, và trong đó vùng hằng định bất kỳ hiện diện về cơ bản đồng nhất với vùng hằng định globulin miễn dịch của người, nghĩa là, ít nhất khoảng 85 %, 90 %, tốt nhất là giống ít nhất 95 % hoặc 98 %. Do đó, tất cả các phần của kháng thể được nhân tính hóa, ngoại trừ một hoặc nhiều CDR, về cơ bản đồng nhất với các phần tương ứng của trình tự globulin miễn dịch của người. Ví dụ: globulin miễn dịch được nhân tính hóa thường sẽ không bao gồm kháng thể vùng biến đổi dạng khảm của chuột/vùng hằng định của người.

Kháng thể được nhân tính hóa có ít nhất ba lợi thế tiềm năng so với kháng thể không phải của người và kháng thể dạng khảm để sử dụng trong liệu pháp điều trị cho người: 1) vì phần thực thi là người nên có thể tương tác tốt hơn với các phần khác của hệ thống miễn dịch của người (ví dụ: hoạt hóa tiểu thần kinh đệm để loại bỏ mảng); 2) hệ thống miễn dịch của người không nhận ra khung hoặc vùng C của kháng thể được nhân tính hóa là ngoại lai, và do đó đáp ứng tạo kháng thể kháng lại kháng thể được sử dụng này phải ít hơn so với kháng thể ngoại lai hoàn toàn không phải của người hoặc kháng thể ngoại lai một phần dạng khảm; và 3) kháng thể không phải của người được sử dụng đã được báo cáo là có thời gian bán thải trong tuần hoàn của người ngắn hơn thời gian bán thải của kháng thể ở người.

Theo phương pháp điều trị và ngăn ngừa tình trạng bệnh có đặc trưng là sự tạo thành các mảng chứa protein beta-amyloid, kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng (bao gồm các mảnh đáp ứng về mặt miễn dịch) theo sáng chế, được sử dụng cho đối tượng có nguy cơ hoặc biểu hiện triệu chứng hoặc bệnh lý liên quan đến amyloid beta như bệnh Alzheimer lâm sàng hoặc tiền lâm sàng, sa sút trí tuệ liên quan đến hội chứng Down, hoặc bệnh mạch máu tinh bột lâm sàng hoặc tiền lâm sàng bằng các kỹ thuật sử dụng tiêu chuẩn. Tốt nhất là sử dụng ngoại vi (nghĩa là không đưa vào hệ thần kinh trung ương) bằng cách tiêm tĩnh mạch, trong màng bụng, dưới da, trong phổi, qua da, trong cơ, trong mũi, qua miệng, dưới lưỡi hoặc nhét vào hậu môn hoặc âm đạo. Tuy kháng thể hoặc các mảnh gắn của chúng có thể được đưa trực tiếp vào hệ thống não thất, dịch tủy hoặc nhu mô não và những kỹ thuật xử lý các vị trí này đã được biết đến nhiều trong ngành, nhưng không cần phải áp dụng các quy trình khó khăn hơn này. Kháng thể hoặc các mảnh gắn của chúng theo sáng chế có hiệu lực khi được sử dụng bằng các kỹ thuật đơn giản hơn dựa vào hệ thống tuần hoàn ngoại vi. Các ưu điểm của sáng chế bao gồm khả năng của kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó để phát huy tác dụng có lợi ngay cả khi không được cung cấp trực tiếp cho chính hệ thần kinh trung ương.

Dược phẩm để sử dụng được tạo ra để phù hợp với cách sử dụng đã chọn, và các tá dược được dùng như chất gây phân tán, dung dịch đệm, chất hoạt tính bề mặt, chất bảo quản, chất hòa tan, chất đẳng trương, chất ổn định và các chất tương tự được sử dụng khi thích hợp. Remington's Pharmaceutical Sciences (Khoa học dược Remington), Mack Publishing Co., Easton, Pa., được hợp nhất vào tài liệu này bằng viện dẫn, đề xuất bản tóm tắt về các kỹ thuật điều chế thường được bác sĩ biết đến.

Nó có thể đặc biệt hữu ích để thay đổi đặc tính hòa tan của kháng thể theo sáng chế, khiến chúng ưa chất béo hơn, ví dụ như bằng cách bao bọc trong hạt mỡ hoặc bằng cách ngăn các nhóm phân cực.

Dẫn truyền ngoại vi toàn thân bằng cách ưu tiên tiêm trong tĩnh mạch, trong màng bụng hoặc tiêm dưới da. Các chất mang phù hợp để tiêm như vậy thì không phức tạp. Tuy nhiên, ngoài ra, việc sử dụng thuốc cũng có thể được thực hiện qua màng niêm mạc bằng bình xịt mũi hoặc thuốc đạn. Những chế phẩm phù hợp cho các cách sử dụng này đã được biết đến nhiều và thường bao gồm chất hoạt tính bề mặt tạo điều kiện thuận lợi để truyền qua màng. Các chất hoạt tính bề mặt này thường có nguồn gốc từ steroid hoặc là lipid cation, chẳng hạn như N-[1-(2,3-di-*oleoyl*)propyl-N,N,N-trimethylammonium]chlorua (DOTMA) hoặc nhiều hợp chất khác nhau như cholesterol hemisuccinat, phosphatidyl glycerol và các chất tương tự.

Nồng độ của kháng thể được nhân tính hóa trong công thức từ mức thấp khoảng 0,1 % lên đến mức khoảng 15 hoặc 20 % khối lượng được lựa chọn chủ yếu dựa trên thể tích chất lỏng, độ nhớt, v.v., phù hợp với phương thức sử dụng cụ thể đã chọn. Do đó, dược phẩm điển hình để tiêm có thể được tạo ra để chứa 1 mL nước có chất đệm vô trùng trong nước muối có chất đệm phosphat và 1-100 mg kháng thể được nhân tính hóa theo sáng chế. Chế phẩm có thể được lọc vô trùng sau khi tạo chế phẩm, hoặc được làm bằng cách khác được chấp nhận về mặt vi sinh. Chế phẩm điển hình để truyền tĩnh mạch có thể có thể tích lên đến 250 mL chất lỏng, chẳng hạn như dung dịch Ringer vô trùng và 1-100 mg mỗi mL trở lên ở nồng độ kháng thể.

Đối với việc sử dụng kháng thể, liều lượng là trong khoảng 0,0001 đến 100 mg/kg, và tốt nhất là 0,01 đến 75 mg/kg trọng lượng cơ thể vật chủ. Ví dụ: liều lượng có thể là 0,02 mg/kg, 0,25 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,75 mg/kg, 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 20 mg/kg, 35 mg/kg, 40 mg/kg, 45 mg/kg, 50 mg/kg, 55 mg/kg, 60 mg/kg, 65 mg/kg, 70 mg/kg hoặc 75 mg/kg trọng lượng cơ thể vật chủ. Theo các phương án, liều lượng là trong khoảng 0,01-10 mg/kg hoặc trong khoảng 0,1-15 mg/kg, hoặc trong khoảng 0,1-20 mg/kg, hoặc trong khoảng 0,1-30 mg/kg, hoặc trong khoảng 0,1-40 mg/kg, hoặc trong khoảng 0,1-50 mg/kg, hoặc trong khoảng 0,1-60 mg/kg, tốt nhất là ít nhất 1 mg/kg, ít nhất 5 mg/kg, ít nhất 10 mg/kg, ít nhất 20 mg/kg, ít nhất 30 mg/kg, ít nhất 40 mg/kg, ít nhất 50 mg/kg hoặc ít nhất 60 mg/kg. Theo ví dụ ưu tiên, liều lượng có

thể là khoảng 10 kg/mg, khoảng 20 kg/mg, khoảng 30 kg/mg, khoảng 40 mg/kg, khoảng 50 mg/kg, khoảng 60 mg/kg hoặc khoảng 70 mg/kg. Theo ví dụ ưu tiên đặc biệt, kháng thể được cho sử dụng trong màng bụng với liều lượng từ khoảng 0,3 mg/kg đến khoảng 60 mg/kg. Theo chế độ điều trị điển hình, kháng thể được cho dùng trong màng bụng ở liều lượng khoảng 10 kg/mg, khoảng 20 kg/mg, khoảng 30 kg/mg, khoảng 40 mg/kg, khoảng 50 mg/kg hoặc khoảng 60 mg/kg.

Trong tài liệu này, thuật ngữ “khoảng” được sử dụng để chỉ giá trị có thể đo lường, ví dụ như một lượng có nghĩa là bao gồm các biến thể trong khoảng từ $\pm 20\%$ đến $\pm 0,1\%$, tốt nhất là $\pm 15\%$ hoặc $\pm 10\%$, tốt hơn là $\pm 5\%$, tốt hơn nữa là $\pm 1\%$, và vẫn tốt hơn nữa là $\pm 0,5\%$, $\pm 0,1\%$, $\pm 0,05\%$ hoặc $\pm 0,01\%$ giá trị được xác định, vì các biến thể này là phù hợp.

Chế độ điều trị điển hình yêu cầu sử dụng mỗi hai tuần một lần hoặc mỗi tháng một lần hoặc 3 đến 6 tháng một lần. Theo một số phương pháp, hai hoặc nhiều kháng thể đơn dòng có tính đặc hiệu liên kết khác nhau được sử dụng đồng thời, trong trường hợp đó, liều lượng của mỗi kháng thể được sử dụng thuộc phạm vi được chỉ định. Kháng thể thường được cho sử dụng nhiều lần. Khoảng cách giữa các liều đơn có thể là hàng tuần, hàng tháng hoặc hàng năm. Khoảng cách cũng có thể không đều như được chỉ định bằng cách đo mức kháng thể A β trong máu ở đối tượng. Ngoài ra, kháng thể có thể được sử dụng là chế phẩm có tác dụng kéo dài, trong trường hợp này, cần sử dụng ít thường xuyên hơn. Liều lượng và tần suất sẽ thay đổi tùy vào thời gian bán thải của kháng thể ở bệnh nhân. Nhìn chung, kháng thể của người cho thấy thời gian bán thải dài nhất, sau đó là kháng thể được nhân tính hóa, kháng thể dạng khảm và kháng thể không phải của người.

Liều lượng và tần suất dùng thuốc có thể khác nhau tùy vào việc điều trị là phòng bệnh hay chữa bệnh. Khi áp dụng phòng bệnh thì sử dụng liều lượng tương đối thấp với khoảng cách tương đối không thường xuyên trong một khoảng thời gian dài. Một số đối tượng tiếp tục được điều trị đến hết đời. Khi áp dụng chữa bệnh thì có thể cần liều lượng tương đối cao với khoảng cách tương đối ngắn, cho đến khi giảm hoặc kết thúc tiến triển bệnh, và tốt nhất là đến khi đối tượng thể hiện sự cải thiện một phần hoặc hoàn toàn các triệu chứng của bệnh. Sau đó, có thể sử dụng chế độ phòng bệnh.

Theo một số phương pháp, liều lượng được sử dụng để đạt được nồng độ kháng thể trong huyết tương là 1-1000 $\mu\text{g/ml}$ và theo một số phương pháp là 25-300 $\mu\text{g/ml}$.

Ngoài ra, kháng thể có thể được sử dụng là chế phẩm có tác dụng kéo dài, trong trường hợp này, cần sử dụng ít thường xuyên hơn. Liều lượng và tần suất sẽ thay đổi tùy vào thời gian bán thải của kháng thể ở đối tượng.

Điều trị bằng kháng thể theo sáng chế có thể là phương pháp điều trị độc lập. Ngoài ra, điều trị bằng kháng thể theo sáng chế có thể là một thành phần hoặc giai đoạn của chế độ điều trị kết hợp, trong đó một hoặc nhiều chất điều trị bổ sung cũng được sử dụng để điều trị cho một cá nhân.

Khi được sử dụng cho liệu pháp *trong cơ thể sống*, kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng theo sáng chế được sử dụng cho cá nhân với lượng điều trị hữu hiệu, ví dụ như lượng làm giảm, loại bỏ hoặc ngăn chặn các mảng β -amyloid hoặc cải thiện chức năng nhận thức ở đối tượng mắc bệnh AD hoặc các bệnh khác liên quan đến β -amyloid. Kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng được sử dụng cho một cá nhân, theo các phương pháp đã biết, chẳng hạn như tiêm tĩnh mạch, ví dụ: tiêm bolus (tiêm nhanh tại chỗ) hoặc truyền liên tục trong một khoảng thời gian, trong cơ, trong màng bụng, trong não tủy, dưới da, trong khớp, trong bao hoạt dịch, nội tủy mạc, đường uống, đường bôi hoặc đường hít. Các chất theo sáng chế có thể được tùy ý sử dụng kết hợp với các chất khác hữu hiệu ít nhất một phần khi điều trị bệnh thoái hóa tinh bột theo gen (amyloidogenic). Trường hợp bệnh Alzheimer và các tình trạng liên quan mà trong đó, sự tích tụ amyloid xảy ra trong não, kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với các chất khác để tăng đường dẫn các chất theo sáng chế qua hàng rào máu não.

Theo phương án của sáng chế, kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng theo sáng chế liên kết với 3pE A β trong các mảng tích tụ. Bằng cách liên kết với 3pE A β trong các mảng tích tụ, kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó có thể khiến mảng bị loại bỏ. Sự loại bỏ mảng có thể được thực hiện bằng cách hoạt hóa tiểu thần kinh đệm xung quanh các mảng và làm mảng mất ổn định bằng cách loại bỏ dạng A β ổn định. Ngoài ra, kháng thể hoặc các mảnh gắn kháng nguyên của chúng theo sáng chế có thể ngăn hoạt tính tạo mầm mảng của 3pE A β . Khả năng làm giàu 3pE A β trong mảng so với thoái hóa dạng tinh bột mạch máu có thể làm tăng khoảng thời gian an toàn điều trị cho liệu pháp miễn dịch.

Bộ kit và thiết bị

Sáng chế đề xuất bộ kit và thiết bị có thể được sử dụng trong các phương pháp nêu trên. Tốt nhất là, bộ kit và thiết bị bao gồm kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó liên kết với 3pE Aβ. Ngoài ra, bộ kit có thể bao gồm thuốc thử và tài liệu hướng dẫn. Hướng dẫn có thể được in, ví dụ như trên giấy và/hoặc được cung cấp trong môi trường đọc điện tử. Ngoài ra, hướng dẫn có thể được cung cấp bằng cách hướng người dùng đến trang web trên internet, ví dụ: do nhà sản xuất hoặc nhà phân phối bộ kit chỉ định.

Thuốc thử có trong bộ kit theo sáng chế có thể được cung cấp cho mọi kiểu vật chứa sao cho hoạt tính của các thành phần khác nhau về cơ bản được bảo toàn, còn bản thân các thành phần này về cơ bản không bị vật liệu của vật chứa hấp phụ hoặc biến đổi.

Theo một phương án, bộ kit hoặc thiết bị bao gồm kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo sáng chế, tốt nhất là kháng thể được tinh chế, tốt hơn là kháng thể đơn dòng, tốt hơn nữa là kháng thể đơn dòng được phân lập liên kết với peptit 3pE Aβ. Theo các phương án, kháng thể được biểu hiện bằng tế bào của tế bào lai.

CÁC PHƯƠNG ÁN

Phương án 1 là kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó gồm có vùng xác định bổ sung chuỗi nặng 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3 và vùng xác định bổ sung chuỗi nhẹ 1 (LCDR1), LCDR2 và LCDR3, có trình tự polypeptit có:

- a. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 2, 3, 4, 5 và 6;
- b. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 7, 3, 4, 5 và 6;
- c. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 7, 3, 8, 5 và 6;
- d. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 2, 3, 8, 5 và 6;
- e. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 57, 3, 8, 5 và 6;
- f. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 57, 3, 4, 5 và 6;
- g. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 58, 3, 4, 5 và 6;
- h. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 7, 3, 8, 5 và 6;
- i. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 57, 3, 8, 5 và 6;
- j. các SEQ ID NO lần lượt là 56, 7, 3, 4, 5 và 6;

- k. các SEQ ID NO lần lượt là 1, 57, 3, 4, 5 và 6;
- l. các SEQ ID NO lần lượt là 1, 58, 3, 4, 5 và 6; hoặc
- m. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 2, 3, 4, 5 và 6;

trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với 3pE A β , tốt nhất là 3pE A β của người.

Phương án 2 là kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo phương án 1, bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 95 % với SEQ ID No:9, 11, 13, 15, 16, 17, 19, 20 hoặc 21, hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 95 % với SEQ ID No:10, 12, 14, 18, 22, 53 hoặc 55.

Phương án 3 là kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo phương án 1, bao gồm:

- a. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:21 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:22;
- b. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:9 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:10;
- c. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:11 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:12;
- d. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:13 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14;
- e. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:15 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14;
- f. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:16 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14;
- g. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:20 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14;
- h. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:17 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:18;
- i. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:19 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:18
- j. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:21 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:53; hoặc

k. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:21 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:55.

Phương án 4 là kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo phương án bất kỳ trong các phương án từ 1 đến 3, trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó là dạng khảm.

Phương án 5 là kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo phương án bất kỳ trong các phương án từ 1 đến 4, trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó là ở người hoặc được nhân tính hóa.

Phương án 6 là kháng thể đơn dòng được phân lập bao gồm:

a. trình tự axit amin chuỗi nặng gồm có SEQ ID No:37 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID No:38;

b. trình tự axit amin chuỗi nặng gồm có SEQ ID No:39 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID No:38;

c. trình tự axit amin chuỗi nặng gồm có SEQ ID No:37 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID No:52; hoặc

d. trình tự axit amin chuỗi nặng gồm có SEQ ID No:39 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID No:54.

Phương án 7 là axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo phương án bất kỳ trong các phương án từ 1 đến 6.

Phương án 8 là vector bao gồm axit nucleic đã phân lập theo phương án 7.

Phương án 9 là tế bào chủ bao gồm vector theo phương án 8.

Phương án 10 là dược phẩm bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo phương án bất kỳ trong các phương án từ 1 đến 6 và chất mang dược dụng.

Phương án 11 là phương pháp điều trị tình trạng bệnh cho đối tượng cần điều trị, liên quan đến sự hình thành các mảng chứa protein beta-amyloid, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 6, hoặc dược phẩm theo phương án 10.

Phương án 12 là phương pháp theo phương án 11, trong đó tình trạng bệnh là bệnh Alzheimer.

Phương án 13 là phương pháp theo phương án 11, trong đó tình trạng bệnh được chọn từ nhóm bao gồm chứng mất trí liên quan đến bệnh Trisomy 21 (Hội chứng Down), bệnh thể Lewy lan tỏa, bệnh viêm cơ thể vùi, bệnh thoái hóa mạch máu não dạng tinh bột và xuất huyết não di truyền với chứng thoái hóa dạng tinh bột kiểu Hà Lan (HCHWA-D).

Phương án 14 là phương pháp làm giảm các mảng liên quan đến bệnh Alzheimer ở đối tượng cần điều trị, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 6, hoặc được phẩm theo phương án 10.

Phương án 15 là phương pháp ngăn hoạt tính tạo mầm của 3pE A β ở đối tượng cần điều trị, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo bất kỳ phương án nào trong số các phương án từ 1 đến 6, hoặc được phẩm theo phương án 10.

Phương án 16 là phương pháp sản xuất kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 6, bao gồm bước nuôi cấy tế bào gồm có axit nucleic mã hóa kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó trong các điều kiện để tạo kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, và bước thu hồi kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó.

Phương án 17 là phương pháp sản xuất được phẩm bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 6, phương pháp này bao gồm bước kết hợp kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó với chất mang được dụng để thu được được phẩm.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế có thể được hiểu rõ hơn theo các ví dụ không giới hạn sau.

Ví dụ 1: Tạo kháng thể đơn dòng và quá trình nhân tính hóa

Ba con chuột Balb/c (Janvier Labs) đã được nuôi bằng H2N-pEFRHDSGC-COOH (Eurogentec) (SỐ ID TRÌNH TỰ:47) trong tá chất hoàn chỉnh của Freund (Sigma; St. Louis, MO). Peptit được điều chế bằng cách ghép cặp peptit thông qua đơn phân xystein ở đầu COOH với Albumin huyết thanh bò được hoạt hóa Maleimit (Life Technologies; Carlsbad, CA) sử dụng bộ kit có bán trên thị trường, chẳng hạn như bộ kit BSA được hoạt hóa Maleimit dạng tiêm (Pierce; Rockford, IL), theo hướng dẫn của

nhà sản xuất. Chuột được tiêm tăng cường peptit 100 μ g hoặc 200 μ g được ghép cặp BSA cứ mỗi hai tuần, đầu tiên là tá chất Freund hoàn toàn và sau đó là không hoàn toàn (Sigma).

Tế bào lai và Sản xuất kháng thể: Chuột có độ chuẩn huyết thanh cao nhất sẽ được chọn để dung hợp, còn lá lách của những con chuột khác sẽ được phân lập và đông lạnh trong nitơ lỏng. Vào ngày thứ 4, trước khi dung hợp hoặc tách chiết lá lách, tất cả những con chuột được tiêm tăng cường trong màng bụng với 100 μ g H2N-pEFRHDSGC-COOH (SỐ ID TRÌNH TỰ:47) được ghép cặp với BSA (Merck; Kenilworth, NJ) trong nước muối. Tế bào lá lách của chuột được dung hợp với tế bào SP2/0 (ATCC; Manassas, VA) theo quy trình sửa đổi của Kohler và Milstein (*Euro. J. Immunol.* (Tạp chí miễn dịch Châu Âu), 1976; 292-295). Tế bào lai được tạo mầm trong các đĩa 30 x 96 lỗ và được sàng lọc sau 10 ngày trong kỹ thuật ELISA trực tiếp trên peptit A β 3pE-40 0,5 μ g/lỗ không ghép cặp (AnaSpec; Fremont, CA). Tế bào dương tính được kiểm tra (thiếu) phản ứng chéo trên 0,5 μ g/ml peptide A β 1-40 được phủ (AnaSpec) và được tách dòng phụ ngay.

Sau khi dung hợp, 17 dòng có phản ứng dương tính khi sàng lọc ELISA được phủ trực tiếp với peptit tổng hợp A β 3pE-40 của người (SỐ ID TRÌNH TỰ:40) và được đông lạnh trong nitơ lỏng.

Tất cả tế bào lai đều được nuôi trong môi trường Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) có bổ sung 10 % huyết thanh thai bê (Hyclone, Châu Âu), Hybridoma Fusion Cloning Supplement (Bổ sung tạo dòng dung hợp tế bào lai) (2 %) (Roche; Brussels, Bỉ), HT 2 % (Sigma), 1 mM natri pyruvate, 2 mM L-glutamin và penixilin (100 U/ml) và streptomycin (50 mg/ml). Tất cả các sản phẩm đều có sẵn trên thị trường và được mua từ Life Technologies. Tế bào được ủ trong tủ ủ không khí 8 % CO₂ được làm ẩm.

Kỹ thuật ELISA trực tiếp (Direct ELISA) để chọn kháng thể: Kỹ thuật ELISA sàng lọc được sử dụng để phát hiện kháng thể A β 3pE-40 ở trên là kỹ thuật ELISA trực tiếp với 0,5 μ g/ml peptit A β 3pE-40 tự do của người (SỐ ID TRÌNH TỰ:40) được phủ qua đêm ở 4 °C trong các đĩa vi chuẩn 96 lỗ đáy bằng có độ liên kết cao của NUNC Maxisorp (Life Technologies) trong dung dịch đệm phủ 50 μ l/lỗ (10 mM Tris, 10 mM NaCl và 10 mM NaN₃, pH 8,5).

Ngày hôm sau, các đĩa được chặn bằng 0,1 % casein 75 μ l/lỗ (Merck) trong PBS trong 60 phút ở nhiệt độ phòng để giảm liên kết không đặc hiệu. Tiếp theo, thêm vào 50 μ l lớp bề mặt của tế bào lai và ủ trong 1 giờ ở 37 °C. Sau khi rửa, kháng thể đơn dòng liên kết được phát hiện với 50 μ l/lỗ chứa IgG kháng IgG chuột từ cừu liên hợp với peroxylaza ở cây cải ngựa ((Amersham-Pharmacia Biotech; Little Chalfont, Vương quốc Anh) trong 1 giờ ở 37 °C. Cả hai thuốc thử đều được pha loãng trong 0,1 % casein/PBS. Các đĩa được rửa và 50 μ l dung dịch của 0,42 mM 3,5,3',5'-tetrametyl-benzidin (Biorad), 0,003 % (thể tích/thể tích) H₂O₂ (Biorad) trong 100 mM axit xitric (Biorad; Hercules, CA); 100 mM dinatri hydro phosphat (pH 4,3) (Biorad) được thêm vào làm cơ chất. Có thể thực hiện phản ứng trong tối đa 15 phút trên thiết bị lắc đĩa ở nhiệt độ phòng, sau đó dùng 2 N H₂SO₄ (Merck) 50 μ l/lỗ để ngưng hiện ảnh màu và các đĩa được đọc trên máy đọc đĩa vi chuẩn ở 450 nm (Thermomax, Thiết bị phân tử). Phản ứng chéo của kháng thể đơn dòng đã chọn với A β 1-40 tự do ở người có kích thước đầy đủ được thử nghiệm bằng kỹ thuật ELISA trực tiếp, tương tự như xét nghiệm sàng lọc.

Từ 17 dòng phản ứng A β 3pE-40, BAMB31_1 được chọn để tiếp tục đặc trưng hóa dựa trên ái lực và tính chọn lọc (xem Ví dụ 2 & 3). Kháng thể này được xác định có chuỗi nặng lớp kháng thể IgG1 của chuột và chuỗi nhẹ kappa của chuột. Mặc dù IgG1 Fc của chuột chỉ có 70 % nhận dạng trình tự và 76 % trình tự tương tự với IgG2a Fc của chuột, những lớp kháng thể này có các hoạt động và mức protein khác nhau. So với IgG2a của chuột, IgG1 của chuột có ít chức năng bổ thể và thực thi Fc của chuột hơn vì liên kết yếu hơn với các thụ thể Fc γ RI, Fc γ RIII và Fc γ RIV của chuột và C1q của chuột. Được xem là lớp kháng thể gần nhất với hoạt tính IgG1 của người, IgG2a của chuột liên kết với các thụ thể Fc γ RI, Fc γ RIII và Fc γ RIV của chuột, cũng như C1q của chuột mà có bổ thể, cơ chế gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) và hoạt tính thực bào phụ thuộc kháng thể (ADCP) mà có thể góp phần làm sạch các mảng A β .

Trình tự của chuỗi nặng BAMB31 được biến đổi từ IgG1 của chuột thành IgG2a của chuột để tạo ra BAMB31_2a. Việc bảo toàn khả năng phản ứng sau khi tạo dòng vùng V được xác nhận bằng phương pháp SPR, được mô tả bên dưới.

Quá trình nhân tính hóa: Kháng thể mẹ BAMB31_2a (mIgG2a) được nhân tính hóa bằng quy trình tương tự như của Singh và cộng sự. (Kháng thể đơn dòng 2015;7(4):778-91) ngoại trừ CDR-H2, được mô tả theo định nghĩa AbM (Martin, A.C.,

PNAS 86: 9268-9277, 1989) cho việc này. Tóm lại, các vùng xác định tính bổ sung (CDR) đã được xác định trong các trình tự mẹ ở chuột. Những trình tự này được so sánh với dòng mầm ở người và bốn chuỗi nặng của dòng mầm ở người, cũng như hai khung chuỗi nhẹ của dòng mầm ở người được chọn để ghép CDR của chuột vào đó. Các đoạn J của người đối với VL và VH của từng kháng thể mẹ được chọn bằng cách so sánh trình tự đoạn J của chuột và người để tối đa sự đồng nhất trình tự. Mô hình vùng Fv dạng phân tử của mAb mẹ được tạo ra trong MOE (CCG; Montreal, Canada) sử dụng tham số mặc định. Mô hình kết quả được kiểm tra bằng biểu đồ để xác định các vị trí khung có thể quan trọng đối với sự liên kết và/hoặc tính ổn định của kháng thể. Thư viện kháng thể được tạo ra, trong đó các vị trí này có tổ hợp nhị phân của người/chuột ngoài các CDR đã ghép. Trong các thư viện, mỗi chuỗi có CDR đã ghép của chuột được bắt cặp với chuỗi mẹ đối diện của chuột. Theo cách này, chỉ có một chuỗi được điều chỉnh cho phù hợp với khung của người và các đột biến ngược được quyết định dựa trên liên kết kháng nguyên. Sau đó, VH và VL nhân tính hóa được kết hợp để tạo ra kháng thể ứng viên cuối cùng.

Các dòng thư viện được biểu thị là Fab ở E. coli và được thử nghiệm để liên kết với peptit thông qua kỹ thuật ELISA và các tín hiệu được so sánh với phân tử mẹ đầy đủ của chuột. Các tín hiệu phân tử biểu hiện sự liên kết lớn hơn 80 % chuột mẹ được chọn để giải trình tự. Các chuỗi được phân tích & chuỗi nặng thích nghi với người & chuỗi nhẹ thích nghi với người được chọn để kết hợp và biểu hiện dưới dạng kháng thể đơn dòng IgG1 của người. Tất cả cặp được nhân tính hóa VH/VL của mỗi kháng thể được biểu hiện, tinh chế và đánh giá sự liên kết kháng nguyên, nguy cơ sinh miễn dịch Epivax *in silico* (phương pháp thay đổi cấu trúc của các gene, protein, enzyme trên máy tính), số lượng đơn phân được khôi phục về trình tự và đặc tính lý sinh của chuột.

Kết quả: Một số đơn phân cần được khôi phục về trình tự của chuột để duy trì liên kết của mẹ. Khả năng duy trì liên kết, nguy cơ sinh miễn dịch Epivax *in silico* và các đặc tính lý sinh không phụ thuộc vào số lần khôi phục trình tự của chuột, mà dựa vào những vị trí được khôi phục về trình tự của chuột. Các kết quả đặc trưng hóa của kháng thể đơn dòng HFA tiêu biểu từ phân tích này được minh họa trong Bảng 2 và 3.

Bảng 2: Ví dụ về kết quả đặc tính hóa của BAMB31 HFA

Mẫu	Tổng số #đơn phân được khôi phục về trình tự của chuột	Điểm tổng hợp của Epivax vùng V	SEC (%) Monome)	KD (M)	Tonset (°C)	Tm1 (°C)	Tagg (°C)
Khoảng:	0-7	-53,46 đến 13,62	84 - 99	1,17E-11 đến 1,52E-09	53,9 - 62,5	60,7 - 69,1	61,7 - 70,6
BAMB246	NA	5,25	96	1,39E-11	60,7	67,4	69,4
BAMB611	0	-53,46	97	1,52E-09	62,5	69,1	70,6
BAMB612	4	-20,77	98	1,17E-11	62,1	66,7	67,6
BAMB613	4	-39,59	97	1,82E-11	59,3	65,4	66,4
BAMB614	3	-39,77	98	1,60E-11	61,8	66,6	67,6
BAMB630	7	-13,88	98	3,83E-11	58,4	64,6	64,7
BAMB631	4	-14,31	97	1,80E-11	58,8	64,4	65,0
BAMB623	5	-31,47	84	1,83E-11	54,8	62,0	62,7

Hợp thể khảm IgG1 mẹ của người BAMB246

Các giá trị nằm ngoài phạm vi mong muốn được in đậm: Tổng đơn phân được khôi phục về trình tự của chuột ≥ 5 ; Điểm rủi ro của Hc và Lc Epivax > -10 ; Vùng V kết hợp điểm rủi ro Epivax > -20 ; Các giá trị SEC% Monome < 95 %kd (1/s) giá trị $> 1,00E-04$; Giá trị KD (M) $> 2,50E-11$; Tonset (°C) < 60 ; Tm1 (°C) < 65 ; Tagg (°C) < 65

Giảm thiểu rủi ro sửa đổi sau dịch mã: Kháng thể mẹ và biến thể được điều chỉnh theo khung của người có chứa mô-típ sửa đổi sự khử amit sau dịch mã NG trong HCDR2. Để giải quyết vấn đề tiềm ẩn này, các thư viện riêng được tạo cho cả đơn phân N và G bằng các oligo suy biến. Những oligo này tạo ra các trình tự mới đưa vào ngẫu nhiên tất cả 20 axit amin cho mỗi vị trí. Mỗi thư viện được sàng lọc để duy trì liên kết. Kháng thể biến thể biểu hiện liên kết tương tự với kháng thể mẹ của chuột được chọn để giải trình tự.

Kết quả: Sau khi giải trình tự, cả đột biến N thành S và N thành G đều có liên kết tương đương với mẹ. Các biến thể HFA đầu được tạo dòng và biểu hiện dưới dạng IgG1 kiểu đại (BAMAB674) và IgG1 với các đột biến điểm M37Y, S39T và T41E trong vùng Fc (đánh số dựa trên trình tự vùng hằng định chuỗi nặng Fc IgG1 của vùng hằng định Hc, Mã truy cập GenBank AEV43323), được ký hiệu là IgG1 +YTE (BAMB675). Những đột biến này được biết đến là có thể làm tăng ái lực với FcRn và tăng thời gian bán thải tuần hoàn (Đặc tính của IgG1 ở người được kiến tạo để tăng cường liên kết với thụ thể Fc mới

sinh (FcRn), Dall'Acqua WF., JBC, 2006). Đặc trưng của BAMB674 và BAMB675 được minh họa trong Bảng 3.

Bảng 3: Đặc trưng của BAMB674 và BAMB675

Đặc tính	BAMB674	BAMB675
Lớp kháng thể	IgG1 kiểu đại	IgG1 +YTE
Hc FW	IGHV1-46*03	IGHV1-46*03
Các vị trí Hc FW cần đơn phân của chuột	M48I,M70L	M48I,M70L
Làm giảm nhẹ mô-típ Hc CDR2 NG	N55S	N55S
Lc FW	IGKV2-30*01	IGKV2-30*01
Vị trí Lc FW cần đơn phân của chuột	V109L	V109L
Làm giảm nhẹ mô-típ Lc CDR1 NG	NG→RA	NG→RA
KD (pM)	25,4	25,7
Nhiệt độ khởi phát (T _m onset)	62,9 °C	57,7 °C
T _{m1}	67,3 °C	64,1 °C
Tagg	68,4 °C	67,7 °C
SEC % Monome	97	98
Nồng độ cao ổn định >2 tuần	>100 mg/ml	>100 mg/ml

Bảng 3a: Độ bền nhiệt

Mẫu	Nhiệt độ khởi phát trung bình (°C)	T _{m1} trung bình (°C)	Tagg trung bình (°C)	T-khởi phát bệnh ST DEV	T _{m1} ST DEV	Tagg ST DEV
Kháng thể đơn dòng đối chứng	63,8	69,8	80,6	0,092	0,016	0,001
BAMB700	61,4	67,4	70,5	0,228	0,178	0,168
BAMB701	59,1	65,2	69,5	0,263	0,155	0,559
BAMB674*	62,9	67,3	68,4	-	-	-

* N=1

Ví dụ 2: Thử nghiệm độ ổn định nhiệt

Đối với các biến thể thích ứng với khung của người BAMB31, độ ổn định nhiệt của chúng được đánh giá bằng phương pháp phân tích nhiệt quét vi sai nano (NanoDSF) để đo thời điểm khởi phát nhiệt độ nóng chảy (Tonset - điểm bắt đầu quá trình), nhiệt độ chuyển tiếp nóng chảy đầu tiên (T_{m1}) và nhiệt độ phát hiện kết tụ ban đầu (Tagg). Dữ liệu cho một số biến thể được trình bày trong Bảng 2 (cột 6-8) và Bảng 3 (hàng 10-12) và Bảng 3a.

Vật liệu và phương pháp: Độ ổn định nhiệt của mẫu được xác định bằng thiết bị Prometheus tự động. Phép đo được thực hiện bằng cách nạp mẫu vào ống mao dẫn

24 lỗ từ đĩa mẫu 384 lỗ. Thực hiện lặp lại quá trình này cho từng mẫu. Giao diện người dùng Prometheus NanoDSF (tab Melting Scan) được sử dụng để thiết lập thông số thử nghiệm cho quá trình thực hiện. Quá trình quét nhiệt để tìm mẫu IgG điển hình là từ 20 °C đến 95 °C với tốc độ 1,0 °C/phút. Nồng độ điển hình của mẫu trong khoảng từ 0,3 đến 1 mg/mL. Huỳnh quang bên trong của phân tử ở bước sóng 330 và 350 nm được sử dụng để theo dõi sự trải ra trong quá trình tăng nhiệt độ và ghi lại những thay đổi về cường độ huỳnh quang theo thời gian. Đây được gọi là kết quả quét nhiệt (Tm). Song song đó là sử dụng công nghệ phản xạ ngược để thiết bị tính toán điểm khởi phát của sự kết tụ (Tagg) trong quá trình tăng nhiệt. Do đó, phương pháp NanoDSF giúp đo đồng thời độ ổn định hình dạng và độ ổn định chất keo của ứng viên đầu, thường được theo dõi dưới dạng chỉ báo cho độ ổn định lâu dài của mẫu trong các điều kiện khác nhau.

Ví dụ 3: Đánh giá nguy cơ sinh miễn dịch Epivax in silico

Phần mềm EpiMatrix (EpiVax Inc.) để dự đoán liên kết MHC lớp II được dùng để thực hiện phân tích *in-silico* vùng V của kháng thể đơn dòng kháng Aβ_{3pE}. Phần mềm kiểm tra axit amin 9-mer liên tiếp để xác định trình tự liên kết HLA lớp II tiềm năng. Cơ sở dữ liệu bao gồm các loại HLA phổ biến nhất, bao gồm khoảng 95 % nhóm người. Nếu thụ thể HLA của tế bào trình diện kháng nguyên liên kết với agretope peptit, mặt còn lại của peptit đó (epitope) có thể liên kết với tế bào thực thi T hoặc tế bào điều hòa T, do đó có thể gây kích thích hoặc ức chế đáp ứng miễn dịch kháng protein mang epitope đó. Phần mềm tạo ra điểm liên kết agretope có thể được điều chỉnh để liên kết tế bào điều hòa T được dự đoán. Điểm được chuẩn hóa liên quan đến kích thước của protein và số lượng các sự kiện liên kết dẫn đến kết quả biểu thị tính sinh miễn dịch đã dự đoán của protein.

Ví dụ 4: Đặc trưng hóa phân tích về kháng thể đơn dòng được tinh chế

Nồng độ protein của từng kháng thể đơn dòng đã tinh chế được xác định bằng cách đo độ hấp thụ ở 280 nm trên quang phổ kế NanoDrop1000 hoặc quang phổ kế đa kênh Trinean DropSense96 và được tính bằng cách sử dụng hệ số tắt dựa trên trình tự axit amin.

SE HPLC của kháng thể đã tinh chế được thực hiện bằng cách chạy mẫu trên cột TOSOH TSKgel BioAssist G3SWx1, trong 0,2 M Na Phosphat pH 6,8 ở 1 mL/phút

trên Waters Alliance HPLC trong 20 phút. Dòng thải của cột được theo dõi bằng độ hấp thụ ở 280 nm. Kết quả được trình bày trong Bảng 2 và 3.

Ví dụ 5: Các phương pháp đo động học và ái lực liên kết

Cộng hưởng Plasmon bề mặt (SPR) là phương pháp phát hiện không có nhãn, được dùng để nghiên cứu tương tác phân tử sinh học. Theo dõi những thay đổi nhỏ về khối lượng trên bề mặt cảm biến, xét nghiệm liên kết trực tiếp theo thời gian thực này cung cấp dữ liệu định tính và định lượng về sự tương tác giữa các phân tử sinh học; nghĩa là xác định hằng số liên kết cân bằng (ái lực, K_D) và hằng số tốc độ động học (k_a/k_d ; tốc độ liên kết phức hợp k_a và tốc độ phân ly phức hợp k_d). Phương pháp này rất hữu ích trong nghiên cứu về tương tác giữa protein-protein và protein-axit nucleic, cũng như tương tác giữa protein và các phân tử nhỏ. Ở đây, tương tác giữa các kháng thể đặc hiệu 3pE và A β 3pE-40 người (SỐ ID TRÌNH TỰ:40) hoặc A β 3pE-28 người (SỐ ID TRÌNH TỰ:42), A β 1-40 người (SỐ ID TRÌNH TỰ:41) hoặc A β 1-28 người (SỐ ID TRÌNH TỰ:43), và peptit A β 3pE-28 của loài gặm nhấm (SỐ ID TRÌNH TỰ:45 và 46) được nghiên cứu.

Nguyên vật liệu và phương pháp

SPR: Bộ kit bắt kháng thể của chuột từ GE Healthcare được sử dụng để nghiên cứu ái lực của BAMB31_2a (mIgG2a) kháng peptit A β -3pE-40 (SỐ ID TRÌNH TỰ:40). J&JPRD/A β /pE3/1 mIgG2a (được mô tả trong Bằng sáng chế Hoa Kỳ số 2018/0142011) và mE8c mIgG2a (được mô tả trong US9944696 và US8679498) được bao gồm là kháng thể đối chứng. Việc cố định kháng thể kháng chuột được thực hiện thông qua ghép đôi amin trên chip cảm biến CM5 theo quy định của nhà sản xuất. Sau đó, kháng thể đề cập (1 μ g/ml) được bắt bằng kháng thể kháng chuột đến mức 300 RU, tiếp đó tiêm peptit A β 3pE-40 của người (SỐ ID TRÌNH TỰ:40) ở các nồng độ khác nhau (3,125 nM, 6,25 nM, 12,5 nM, 25 nM và 50 nM) được pha loãng trong dung dịch đệm đang chảy (20 mM dung dịch đệm phosphat với 2,7 mM KCl, 137 mM NaCl và 0,05 % chất hoạt tính bề mặt P20 (Tween™ 20)). Bề mặt được tái tạo bằng 10 mM glyxin HCl ở pH 1,7 trong ít nhất 180 giây và thêm 60 giây. Peptide A β (1-40) của người (SỐ ID TRÌNH TỰ:41) được sử dụng làm đối chứng âm.

Các phương pháp đo ái lực được thực hiện bằng bộ cảm biến sinh học quang T200 (Biacore®). Phân tích động học được thực hiện theo mô hình phù hợp liên kết 1:1 với Phần mềm đánh giá Biacore T200 (phiên bản 2.0).

Trong một số trường hợp, ái lực liên kết và tính đặc hiệu của kháng thể đơn dòng kháng A β 3pE đo bằng SPR được thực hiện bằng các thiết bị khác nhau (Biacore T200, Biacore 8K hoặc MASS-2 (Biacore, Inc.)) và bề mặt của bộ cảm biến sinh học globulin miễn dịch kháng người hoặc kháng chuột. Kháng thể globulin miễn dịch kháng người hoặc kháng chuột được ghép cộng hóa trị vào bề mặt của chip cảm biến CM4 hoặc CM5 (GE Healthcare) bằng cách sử dụng hướng dẫn của nhà sản xuất về hóa học ghép đôi amin. Các kháng thể nói trên được bắt trên chip cảm biến globulin miễn dịch kháng người hoặc chuột đến mức 300-400 RU, sau đó tiêm peptit hoặc protein A β (ví dụ: A β 3pE-40 người (SỐ ID TRÌNH TỰ:40), A β 3pE-28 người (SỐ ID TRÌNH TỰ:42), A β 3pE-28 xáo trộn (SỐ ID TRÌNH TỰ:44), A β 1-28 (SỐ ID TRÌNH TỰ:43), A β 3pE-28 của chuột (SỐ ID TRÌNH TỰ:46) hoặc Fibronectin) ở các nồng độ khác nhau trong Dung dịch nước muối đệm HEPES chứa 0,005 % chất hoạt tính bề mặt P20 (Tween™ 20). Bề mặt được tái tạo với 2 tiêm xung 30 μ L của 10 mM Gly pH 1,5 ở 100 μ L/phút. Dữ liệu được báo cáo có sự khác biệt về tín hiệu SPR giữa tế bào dòng chảy có chứa kháng thể thu được và tế bào tham chiếu không chứa kháng thể thu được. Sự đóng góp bổ sung của thiết bị vào tín hiệu được loại bỏ bằng cách trừ dữ liệu từ việc tiêm blank (không có kháng thể đang thử nghiệm) từ tín hiệu đã trừ tham chiếu. Dữ liệu áp dụng được phân tích theo các pha kết hợp và phân ly phù hợp ở tất cả nồng độ (phù hợp toàn bộ) với mô hình liên kết 1:1 bằng cách dùng phần mềm Biaevaluation (Biacore, Inc.). Nếu không, dữ liệu sẽ được đánh giá định tính dành cho liên kết CÓ/KHÔNG.

Hóa mô miễn dịch trên não cố định bằng formalin trong thể vùi parafin: Đối với phân tích hóa mô miễn dịch, sau khi khử paraffin và tái thủy hóa các phần, thực hiện phục hồi kháng nguyên bằng cách ủ các tiêu bản não của chuột chuyển gen 10 phút trong axit formic (70 % trong nước cất) và hoạt tính peroxydaza nội sinh bị chặn bằng 3 % hydro peroxit (DAKO; Glostrup, Đan mạch, S2023). Các phần được ủ trong 1 giờ với BAMB674, BAMB675, hE8L, R17L, R17, CI-C7, B12L, kháng thể I hoặc kháng thể II (bảy kháng thể sau từng được mô tả trong US9944696B2 và US8679498B2) ở các nồng độ khác nhau (nồng độ tác dụng: 2, 0,1 – 0,05 – 0,025 μ g/ml) trong dung dịch pha loãng kháng thể với các thành phần khử nền (DAKO, S3022)). Sau khi rửa thêm, kháng thể thứ cấp kháng người được gắn nhãn HRP (PI-3000, Vector labs; Burlingame, CA – 1/500 trong dung dịch pha loãng kháng thể (DAKO, S0809)) được áp dụng cho các tiêu bản trong 1 giờ, sau đó gắn nhãn sinh màu với 3,3-điaminobenzidin (DAB) (DAKO, K3468). Các tiêu bản được nhuộm

tương phản với hematoxylin, được khử nước và được gắn vĩnh viễn với Vectamount (H-5000, Vector Labs).

Kết quả: Phân tích động học của kháng thể đơn dòng BAMB31_2a (mIgG2a) đã xác nhận ái lực liên kết với peptit A β 3pE-40 (SỐ ID TRÌNH TỰ:40). Không phát hiện liên kết nào khi sử dụng peptit A β 1-40 của người (SỐ ID TRÌNH TỰ:41) ở nồng độ lên đến 50 nM. Sensogram (động học chu kỳ đơn) thể hiện tương tác liên kết của BAMB31_2a (mIgG2a) với peptit A β 3pE-40 của người (SỐ ID TRÌNH TỰ:40) được minh họa trong HÌNH 1. Là phân tử của chất so sánh, J&JPRD/A β /pE3/1 mIgG2a và mE8c mIgG2a (HÌNH 2) được đánh giá trong cùng một xét nghiệm và ái lực của BAMB31 cao hơn so với mE8c và J&JPRD/A β /pE3/1 đã được chứng minh. Hằng số liên kết cân bằng (ái lực, K_D) và hằng số tốc độ động học (k_a/k_d) được minh họa trong Bảng 4.

Bảng 4: Động học của J&JPRD/A β /pE3/1, BAMB31 và mE8c mIgGa

Mẫu		k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)
J&JPRD/A β /pE3/1 (mIgG2a)	Giá trị trung bình	1,12E+05	9,37E-05	853
	SD	1,48E+04	1,53E-05	201
BAMB31 (mIgG2a)	Giá trị trung bình	9,30E+05	4,94E-05	53
	SD	6,01E+03	3,97E-06	5
mE8c (mIgG2a)	Giá trị trung bình	3,36E+05	3,20E-05	96
	SD	1,05E+04	7,27E-06	25

Phân tích động học của kháng thể đơn dòng BAMB31 HFA (BAMB674 và BAMB675), với nguy cơ khử amit Hc CDR2 NG giảm, cho thấy ái lực liên kết được giữ lại đối với peptit A β 3pE-28 (SỐ ID TRÌNH TỰ:42) so với BAMB31_2a (mIgG2a) mẹ và BAMB246 (hợp thể khảm IgG1 của người) mẹ. Hằng số liên kết cân bằng (ái lực, K_D) và hằng số tốc độ động học (k_a/k_d) được minh họa trong Bảng 5.

So với các kháng thể đặc hiệu 3pE nhân tính hóa được mô tả trước đó là hE8L, R17L, R17, CI-C7, B12L, kháng thể I và kháng thể II (được mô tả trước đây trong US9944696B2 và US8679498B2), ái lực của các phân tử BAMB31 HFA hiện tại cao hơn, như được trình bày trong Bảng 5.

Bảng 5: Động học liên kết 3pE A β của các phân tử BAMB31 HFA và mE8c HFA

Mẫu	N	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (pM)
BAMB675	9	3,24E+06	8,24E-05	25,7
BAMB674	9	3,27E+06	8,32E-05	25,4
BAMB246 (phần tử mẹ dạng khảm của người)	9	3,53E+06	4,42E-05	12,6
BAMB31_2a (mIgG2a mẹ)	1	2,89E+06	7,97E-05	27,5
Kháng thể I	5	9,86E+05	1,84E-04	228,0
Kháng thể II	5	1,43E+06	1,02E-04	82,0
B12L	1	2,81E+05	1,25E-04	445,0
C1-C7	2	1,46E+05	2,63E-04	1810
hE8L	2	5,07E+05	6,36E-05	127,0
R17L	2	3,21E+05	3,31E-04	1030
R17	2	1,28E+05	7,43E-04	5800
mE8c dạng khảm ở người	4	7,02E+05	$\leq 6,44e-5$	$\leq 78,0$
mE8c mIgG2a mẹ	4	7,25E+05	$\leq 6,46e-5$	$\leq 89,0$

Kháng thể dạng khảm của người có vùng biến đổi của chuột trên vùng hằng định IgG1 của người.

Bảng 5a: So sánh ái lực liên kết

Mẫu	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)
BAMB700	2,88E+06	9,86E-06	3,42E-11
BAMB701	3,01E+06	9,47E-05	3,14E-11
BAMB674	3,39E+06	1,36E-04	4,01E-11
BAMB675	3,74E+06	1,66E-04	4,43E-11
Kháng thể đơn dòng đối chứng	4,11E+06	1,56E-04	3,79E-11

HU-3pE-beta-Amyloid Conc trong khoảng từ 0,6 đến 4,5 nM

Ái lực cao hơn khi được đo bằng SPR cũng được dịch mã để giúp cải thiện liên kết mảng. Loạt dung dịch pha loãng kháng thể sơ cấp bằng phương pháp hóa mô miễn dịch trên các phần não của não chuột chuyển gen được thực hiện. Tất cả các kháng thể đều có thể nhìn thấy mảng gắn nhãn ở 2 $\mu\text{g/mL}$, dù ở các mức độ khác nhau. Ở nồng độ 0,1 $\mu\text{g/mL}$, các kháng thể CI-C7 và R17L không nhìn thấy mảng gắn nhãn, theo ái lực thấp khi được đo bằng SPR. Ở nồng độ 0,05 $\mu\text{g/mL}$, BAMB674 và BAMB675 cho thấy mảng gắn nhãn, nhưng mảng gắn nhãn không nhìn thấy ở nồng độ này đối với phân tử chất so sánh (HÌNH 3). Ở nồng độ 0,025 $\mu\text{g/mL}$, không thấy (gần như hoàn toàn) mảng gắn nhãn đối với tất cả các phân tử được thử nghiệm.

Kết luận, dữ liệu về hóa mô miễn dịch xác nhận dữ liệu SPR cho thấy ái lực của BAMB674 và BAMB675 cao hơn so với các phân tử chất so sánh.

BAMB246 (hợp thể khả IgG1 của người) và kháng thể đơn dòng BAMB31 HFA hiện tại (BAMB674 và BAMB675) có trên 3 log có tính chọn lọc so với peptit A β 3pE-28 tương đồng cao của chuột (SỐ ID TRÌNH TỰ:46) và trên 5 log có tính chọn lọc so với fibronectin, peptit A β 1-28 (SỐ ID TRÌNH TỰ:43) và peptit A β 3pE-28 có axit amin 3-9 xáo trộn (3pE-28 xáo trộn) (SỐ ID TRÌNH TỰ:44). Kết quả về tính chọn lọc và hằng số liên kết cân bằng (ái lực, K_D) và hằng số tốc độ động học (k_a và k_d) đối với peptit và protein liên quan được trình bày trong Bảng 6.

Bảng 6: Động học liên kết có chọn lọc của BAMB246 (hợp thể khả IgG1 của người) và kháng thể đơn dòng HFA đối với các đích liên quan

Mẫu	Peptit/Protein	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	Độ chọn lọc nếp uốn
BAMB246	A β 3pE-28 của chuột	1,02E+04	4,04E-04	3,96E-08	3143
	fibronectin	không có liên kết lên đến 1,2 uM	>1,20E-06	>1,20E-06	>95000
	A β 1-28 người	không có liên kết lên đến 1,2 uM	>1,20E-06	>1,20E-06	>95000
	3pE-28 được xáo trộn	không có liên kết lên đến 1,2 uM	>1,20E-06	>1,20E-06	>95000
BAMB674	A β 3pE-28 của chuột	7,40E+03	3,38E-04	4,55E-08	1791
	fibronectin	không có liên kết lên đến 1,2 uM	>1,20E-06	>1,20E-06	>47000
	A β 1-28 người	không có liên kết lên đến 1,2 uM	>1,20E-06	>1,20E-06	>47000
	3pE-28 được xáo trộn	không có liên kết lên đến 1,2 uM	>1,20E-06	>1,20E-06	>47000
BAMB675	A β 3pE-28 của chuột	4,68E+03	3,33E-04	7,75E-08	3014
	fibronectin	không có liên kết lên đến 1,2 uM	>1,20E-06	>1,20E-06	>46000
	A β 1-28 người	không có liên kết lên đến 1,2 uM	>1,20E-06	>1,20E-06	>46000
	3pE-28 được xáo trộn	không có liên kết lên đến 1,2 uM	>1,20E-06	>1,20E-06	>46000

3pE-28 xáo trộn là peptit A β 3pE-28 của người với các axit amin 3-9 xáo trộn.

Độ chọn lọc nếp uốn được xác định bằng cách chia K_D trong Bảng 4 cho K_D trong Bảng 3.

$\geq 1,20E-06 K_D$ (M) không có liên kết kháng nguyên được phát hiện ở mức nồng độ tối đa là 1,2 μ M được thử nghiệm.

Ái lực Liên kết FcRn đối với kháng thể BAMB31 HFA trên IgG1 kiểu đại (BAMB674) và lớp kháng thể IgG1 +YTE (BAMB675) được trình bày trong Bảng 7. Kháng thể đơn dòng +YTE (BAMB675) có ái lực với FcRn của người và của khỉ cynomolgus cao hơn gấp ~ 3 lần so với IgG1 kiểu đại (BAMB674), được dịch mã thành thời gian bán thải tuần hoàn dài hơn của kháng thể +YTE trong nghiên cứu động học trên khỉ cynomolgus (HÌNH 11.)

Bảng 7: Ái lực liên kết FcRn so sánh kháng thể đơn dòng HFA dưới dạng IgG1 kiểu đại và +YTE

Mẫu	FcRn	K_D (M)
đôi chứng IgG1	người	4,43E-07
đôi chứng IgG1	khí	4,30E-07
BAMB674	người	3,49E-07
BAMB674	khí	2,68E-07
BAMB675	người	1,11E-07
BAMB675	khí	8,64E-08

Giá trị K_D (M) được lấy trung bình từ 5-6 mẫu trùng lặp độc lập.

Ví dụ 6: Kỹ thuật ELISA tầng kẹp (Sandwich ELISA) để thử nghiệm phản ứng chéo

Đối với kháng thể đơn dòng A β 3pE đã chọn BAMB31, phản ứng chéo với A β 3pE-40 của loài gặm nhấm (SỐ ID TRÌNH TỰ:45) và A β 1-40 (SỐ ID TRÌNH TỰ:41), A β 1-42 (SỐ ID TRÌNH TỰ:48), A β 11pE-40 (SỐ ID TRÌNH TỰ:49) và A β 11pE-42 của người (SỐ ID TRÌNH TỰ:50) được đánh giá bằng peptit tổng hợp. Tổ hợp BAMB31 + JRF/cA β 40/28-HRPO được sử dụng để nghiên cứu phản ứng chéo với A β 1-40 (SỐ ID TRÌNH TỰ:41), A β 11pE-40 (SỐ ID TRÌNH TỰ:49) và A β 3pE-40 của loài gặm nhấm (SỐ ID TRÌNH TỰ:45), và tổ hợp BAMB31 + JRF/cA β 42/26-HRPO được sử dụng để nghiên cứu phản ứng chéo với A β 1-42 (SỐ ID TRÌNH TỰ:48) và A β 11pE-42 (SỐ ID TRÌNH TỰ:50). Nồng độ lên đến 10.000 pg/mL đã được thử nghiệm.

Nguyên vật liệu và phương pháp: Chất chuẩn được hòa tan trong dimethylsulphoxid (DMSO) (Sigma) ở 0,1 mg/mL và được bảo quản ở -80 °C. Để sử dụng trong kỹ thuật ELISA, peptit tiếp tục được pha loãng trong 0,1 % casein trong PBS xuống còn 1 pg/mL. Đĩa 96 lỗ (đĩa Maxisorb ELISA; NUNC) được phủ qua đêm ở 4 °C bằng kháng thể đơn dòng từ BAMB31_1 ở nồng độ 1,5 μ g/mL trong dung dịch đệm phủ. Ngày hôm sau, đĩa được rửa và chặn với 0,1 % casein trong PBS trong 1-4 giờ ở nhiệt độ phòng. Các chất chuẩn được ủ qua đêm ở 4 °C cùng với kháng thể thứ cấp được gắn nhãn HRPO (JRF/cA β 40/28-HRPO hoặc JRF/cA β 42/26-HRPO). Sau khi ủ qua đêm, các đĩa được rửa sạch và xét nghiệm được phát triển với bộ kit cơ chất EIA peroxid TMB (Biorad) theo các đề xuất của nhà sản xuất.

Kết quả: BAMB31 được chứng minh là có liên kết chọn lọc với A β 3pE-40 (SỐ ID TRÌNH TỰ:40) và A β 3pE-42 (SỐ ID TRÌNH TỰ:51), và không có phản ứng chéo

có thể phát hiện đối với A β 1-40 của người (SỐ ID TRÌNH TỰ:41), A β 1-42 của người (SỐ ID TRÌNH TỰ:48) và A β 3pE-40 của loài gặm nhấm (SỐ ID TRÌNH TỰ:45) và A β pE11-40 của người (SỐ ID TRÌNH TỰ:49) và A β pE11-42 (SỐ ID TRÌNH TỰ:50) ở nồng độ lên đến 10 ng/mL (HÌNH 4).

Ví dụ 7: Hóa mô miễn dịch để thử nghiệm khả năng phản ứng của kháng thể với các mảng trong mô não AD của người và chuột chuyển gen

Khả năng phản ứng của kháng thể với các mảng được nghiên cứu ở cả mô hình cố định bằng formalin trong thể vùi parafin (FFPE), cũng như mô não được bảo quản cryo.

Nguyên vật liệu và phương pháp

Não cố định bằng formalin trong thể vùi parafin: Đối với phân tích hóa mô miễn dịch, sau khi khử paraffin và tái thủy hóa các phần, thực hiện phục hồi kháng nguyên bằng cách ủ các tiêu bản não của chuột chuyển gen 10 phút trong axit formic (70 % trong nước cất) và hoạt tính peroxylđaza nội sinh bị chặn bằng 3 % hydro peroxit (DAKO, Glostrup, Đan Mạch, S2023). Các phần được ủ trong 1 giờ với BAMB246 (hợp thể khảm huIgG1), BAMB674 hoặc BAMB675 (nồng độ tác dụng: 4 μ g/ml trong dung dịch pha loãng kháng thể với các thành phần khử nền (DAKO, S3022)). Sau khi rửa thêm, kháng thể thứ cấp kháng người được gắn nhãn HRP (PI-3000, Vector labs – 1/500 trong dung dịch pha loãng kháng thể (DAKO, S0809)) được áp dụng cho tiêu bản trong 1 giờ, tiếp theo là gắn nhãn sinh màu bằng 3,3-điaminobenzidin (DAB) (DAKO, K3468). Tiêu bản được nhuộm tương phản với hematoxylin, được khử nước và được gắn vĩnh viễn với Vectamount (H-5000, Vector Labs).

Não được bảo quản cryo: Mẫu não của người được đông lạnh nhanh, được cắt lát bằng máy ổn nhiệt cryo (độ dày 20 μ m) và được bảo quản ở -80 °C trước khi sử dụng. Các phần được làm khô ở nhiệt độ phòng, sau đó là cố định bằng formalin, chặn peroxylđaza nội sinh bằng hydro peroxit 3 % (DAKO, Glostrup, Đan Mạch, S2023) và chặn 1 giờ trong PBS1x + 0,3 % Triton X-100 và 10 % huyết thanh dê bình thường (DAKO, X0907). Kháng thể sơ cấp pE3/16 (2 μ g/ml trong chất pha loãng kháng thể với các thành phần khử nền (DAKO, S3022)) được áp dụng cho các phần trong 1 giờ. Sau khi rửa thêm, các tiêu bản được ủ với kháng thể thứ cấp kháng chuột được tiếp hợp HRP (Envision, DAKO, K4000), sau đó gắn nhãn DAB sinh màu (DAKO, K3468). Tiêu bản được nhuộm tương phản với hematoxylin, được khử nước và được gắn với môi trường gắn hữu cơ (Vectamount, Vector

labs). Việc tạo ảnh được thực hiện với Hamamatsu Nanozoomer (Photon học Hamamatsu). Shizuoka, Nhật Bản).

Kết quả: Khả năng phản ứng của BAMB264 (hợp thể khảm IgG1 của người) cũng như BAMB674 và BAMB675 được chứng minh trên mô FFPE của chuột chuyển gen (HÌNH 5A-5F). Ngoài ra, BAMB31_2a (mIgG2a) đã chứng minh khả năng gắn nhãn mảng đáng kể trong mô não AD được bảo quản cryo (HÌNH 6). Một phần đáng kể các mảng được phát hiện bởi kháng thể 4G8 cũng được gắn nhãn bằng BAMB31 trong các phần đông lạnh cryo của não người (HÌNH 5A-5F). ++

Ví dụ 8: Mức kháng thể trong huyết thanh sau khi dùng thuốc ở chuột chuyển gen

Mức kháng thể trong huyết thanh sau khi điều trị bằng BAMB31 và phân tử chất so sánh mE8c đã được nghiên cứu.

Nguyên vật liệu và phương pháp: Chuột già chuyển gen biểu hiện mức cao peptit A β 42 và A β 40 của người (22-23 tháng tuổi) được tiêm một lần trong màng bụng (i.p.) 20 mg/kg mE8c mIgG2a, BAMB31_2a (mIgG2a) hoặc kháng thể đối chứng lớp kháng thể mIgG2a (n = 5 trên mỗi nhóm điều trị). Sau khi định lượng kháng thể, máu toàn phần được thu thập ở các mốc thời gian trung gian (24 và 48 giờ sau khi tiêm) qua Vena saphena magna và thông qua chọc thủng ổ mắt vào ngày hiến (ngày thứ 4 sau khi tiêm) trong các ống thu mẫu MICROVETTE® (tương ứng là 100Z và 300Z; Sarstedt; Numbrecht, Đức). Ủ máu toàn phần thu thập được ở nhiệt độ phòng trong 1-2 giờ và sau đó ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng/phút trong 10 phút ở 4 °C để tách huyết thanh ra khỏi cục máu. Mức kháng thể trong huyết thanh được xác định bằng xét nghiệm hấp thụ miễn dịch được liên kết enzym đặc hiệu với allotype (ELISA). Đối với phân tích này, các đĩa đáy bằng Nunc MaxiSorp™ (Thermo Scientific; Waltham, MA) được phủ qua đêm với 1,5 μ g/ml kháng IgG2a(a) đơn dòng của chuột (BD Biosciences; San Jose, CA) ở nhiệt độ phòng. Các chất chuẩn kháng thể gồm mE8c mIgG2a, BAMB31_2a (mIgG2a), và mIgG2a đối chứng lớp kháng thể được điều chế riêng ở 1 μ g/ml trong dung dịch đệm khối (1 % BSA trong dung dịch đệm PBS + 0,05 % Tween-20) và tiếp tục được pha loãng xuống 0,1 ng/ml trong dung dịch đệm khối. Sau khi rửa (dung dịch đệm PBS + 0,05 % Tween-20), các mẫu được chặn bằng dung dịch đệm khối trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Tiếp theo, chất chuẩn và mẫu huyết thanh đã pha loãng được ủ trong các đĩa MAXISORP™ được phủ trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi ủ mẫu, các đĩa được rửa và ủ với kháng thể IgG kháng chuột ở dê Peroxidaza-AffiniPure (đặc hiệu 2a Lớp phụ Fcy) trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Các đĩa được rửa và phát triển

bằng cách thêm bộ kit cơ chất EIA Peroxidaza TMB (1 bước, Pierce) vào các lỗ. Sự ngưng hiện ảnh màu sau 2 phút bằng cách thêm H_2SO_4 2 N vào các lỗ và đĩa được đọc ở 450 nm bằng cách dùng thiết bị đọc đĩa đa chế độ EnVision (Perkin Elmer).

Kết quả: Mức kháng thể trong huyết thanh được đo 24 giờ, 48 giờ và 4 ngày sau khi tiêm trong màng bụng 20 mg/kg kháng thể. Nồng độ kháng thể trung bình trong huyết thanh có thể so sánh được sau 24 giờ đối với tất cả kháng thể được nghiên cứu. Đối với BAMB31_2a và kháng thể đối chứng lớp kháng thể, sự giảm nồng độ kháng thể xảy ra dần dần theo thời gian (giảm tối đa khoảng 30 % vào ngày thứ 4), còn mức giảm cao hơn rõ ràng theo thời gian có thể được quan sát đối với mE8c có mức giảm khoảng 97 % vào ngày 4 (HÌNH 7).

Kết luận, sự khác biệt trong mức được động học sau khi tiêm trong màng bụng (i.p.) với BAMB31_2a và mE8c trên mẫu chuột tích tụ mảng được minh học, biểu thị quá trình thanh thải chậm hơn sau khi điều trị bằng kháng thể BAMB31_2a so với mE8c.

Ví dụ 9: Nghiên cứu về hiệu lực mãn tính trên các mẫu chuột chuyển gen

Hiệu lực giảm gánh nặng amyloid cũng như tác dụng trên các ổ vi xuất huyết sau khi điều trị mãn tính bằng BAMB31_2a mIgG2a đã được nghiên cứu trên mẫu chuột chuyển gen.

Nguyên vật liệu và phương pháp: Chuột chuyển gen PDAPP (V717F) (trung bình là 18,3 tháng tuổi khi bắt đầu nghiên cứu) được điều trị bằng liều 30 mg/kg kháng thể BAMB31_2a (mIgG2a) trong màng bụng hàng tuần trong 12 tuần. Nhóm đối chứng được tiêm kháng thể đối chứng lớp kháng thể mIgG2a được đưa vào thử nghiệm. Các con vật được trợ tử vào ngày thứ 7 sau khi tiêm trong màng bụng lần cuối (trung bình là 21,1 tháng tuổi khi kết thúc nghiên cứu). Những con chuột đã được truyền dịch PBS trước khi thu thập mô. Bán cầu não trái (phần 1: hồi hải mã, phần 2: phần não còn lại mà không có hồi hải mã/tiểu não/thân não) được bảo quản cryo để phân tích hóa sinh thêm, còn bán cầu não phải được cố định qua đêm trong chất định hình bằng formalin, sau đó vùi và tách lớp parafin (5 μm) bằng dao phẫu.

Để đánh giá tác dụng trên gánh nặng amyloid sau khi điều trị mãn tính, cả phân tích hóa sinh và hóa mô miễn dịch được thực hiện. Đối với phân tích hóa sinh, não được đồng nhất hóa trong 5 M guanidin-HCl đá lạnh và 50 mM dung dịch đệm tách chiết Tris/HCl (100 mg mô/ml dung dịch đệm tách chiết) bằng cách dùng ống cơ chất dung

giải Tallprep D (MP Bio). Sau khi đồng nhất hóa, các mẫu được đặt trong bánh xe xoay quay lật trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng. Các chất đồng chất tạo thành được bảo quản ở -80 °C trước khi phân tích bằng xét nghiệm miễn dịch tăng kẹp (sandwich) MSD.

Chất chuẩn peptit A β tổng hợp được hòa tan trong dimethylsulphoxid (DMSO) (Sigma) ở 0,1 mg/mL và được bảo quản ở -80 °C. Để sử dụng trong xét nghiệm miễn dịch MSD, peptit được pha loãng thêm trong 0,5 M GuHCl + 5 mM Tris-HCl - pH 8,0 (độ pha loãng gấp 10 lần dung dịch đậm tách chiết trong 0,1 % casein trong PBS). Chiết xuất GuHCl được rửa đông và pha loãng 1:10 trong 0,1 % casein đá lạnh trong PBS và được ly tâm ở 20.000 g trong 20 phút ở 4 °C. Lớp bề mặt được phục hồi để sử dụng trong xét nghiệm MSD tăng kẹp, với chất pha loãng mẫu tiếp theo trong 0,5 M GuHCl + 5 mM Tris-HCl - pH 8,0 (độ pha loãng gấp 10 lần dung dịch đậm tách chiết trong 0,1 % casein trong PBS).

Chất chuẩn trong đĩa theo phần 96 lỗ (Meso Scale Discovery; Rockville, MD) được phủ qua đêm ở 4 °C với kháng thể đơn dòng ở nồng độ 1,5 μ g/mL trong PBS. Ngày hôm sau, các đĩa được rửa và chặn bằng 0,1 % casein trong PBS trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Chất chuẩn và mẫu được ủ qua đêm ở 4 °C với kháng thể thứ cấp được gắn nhãn biotin. Sau khi ủ qua đêm, các đĩa được rửa và ủ bằng thuốc thử phát hiện thứ cấp (được gắn nhãn Streptavidin-SULFO-TAG™) trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Các đĩa được rửa sạch và được thêm 2 lần Dung dịch đậm đọc T, sau đó các đĩa được đọc theo đề xuất của nhà sản xuất. Nồng độ A β được xác định bằng đường cong chuẩn có mô hình logistic bốn thông số hàm với hàm trọng số $1/Y^2$.

Các kháng thể JRF/A β N/25 + 4G8-biotin kết hợp được sử dụng để nghiên cứu nồng độ A β 1-x trong chất đồng chất của não.

Đối với phân tích hóa mô miễn dịch, sau khi khử paraffin và tái thủy hóa các phần, thực hiện phục hồi kháng nguyên bằng cách ủ các tiêu bản 10 phút trong axit formic (70 % trong nước cất) và hoạt tính peroxydaza nội sinh bị chặn bằng 3 % hydro peroxit (DAKO, Glostrup, Đan mạch, S2023). Các phần được ủ qua đêm với kháng thể 4G8 được biotin hóa (Biolegend; San Diego, CA), được pha loãng 1/2000 trong chất pha loãng kháng thể với các thành phần khử nền (DAKO, S3022). Sau khi rửa thêm, streptavidin-HRP (PK6100 Elite, Vector labs) được sử dụng cho các tiêu bản trong 30 phút, sau đó gắn nhãn sinh màu với 3,3-điaminobenzidin (DAB) (DAKO, K3468). Các tiêu bản được nhuộm tương phản với hematoxylin, được khử nước và

được gắn vĩnh viễn với Vectamount (H-5000, Vector Labs). Hình ảnh (20x) được tạo bằng máy quét tiêu bản NanoZoomer (Photon học Hamamatsu) và được phân tích bằng Matlab/Phaedra. Vùng quan tâm (ROI) được mô tả thủ công theo atlas Franklin và Paxinos (Franklin KB, Paxinos G. Não chuột trong tọa độ có vị trí xác định trong không gian. Waltham: Academic Press; 1997) và đối với mỗi ROI, phần trăm diện tích được gắn nhãn DAB trên tổng diện tích được tính toán.

Để đánh giá tác dụng trên ổ vi xuất huyết, nhuộm màu Perls được thực hiện. Tóm lại, phần mô vùi paraffin được xử lý bằng dung dịch feroxyanua có tính axit theo quy trình được mô tả dưới đây. Ion sắt (Fe^{3+}) có chảy máu rất ít trong não sẽ kết hợp với feroxyanua dẫn đến sự hình thành sắc tố xanh gọi là Xanh phở (Prussian blue). Sau khi khử paraffin và tái thủy hóa, các phần được ủ 30 phút trong hỗn hợp 1/1 gồm 2 % kali feroxyanua (Sigma-Aldrich) và 2 % axit clohydric băng (Sigma-Aldrich). Sau khi rửa tiêu bản ba lần trong nước cất, nhuộm tương phản được thực hiện bằng thuốc nhuộm nhân tế bào đơn giản có tính axit (nuclear fast red) (Sigma-Aldrich), sau đó rửa trong nước cất, khử nước và gắn (Vectamount, Vector Labs). Việc tạo ảnh được thực hiện bằng máy quét tiêu bản NanoZoomer (Photon học Hamamatsu). Số lượng tế bào dương tính của Perl gắn màng não được đếm thủ công.

Kết quả: Nhìn chung, số lượng ổ vi xuất huyết thấp được quan sát thấy trong các nhóm điều trị ở thời điểm khởi điểm, đối chứng lớp kháng thể và BAMB31 (HÌNH 8). Phân tích hóa sinh chứng minh mức sự giảm 34 % ($p < 0,0001$) đối với BAMB31_2a so với kháng thể đối chứng lớp kháng thể đối với nồng độ $\text{A}\beta 1\text{-x}$ trong hồi hải mã (HÌNH 9). Ngoài ra, hóa mô miễn dịch có kháng thể 4G8 cho thấy sự giảm 23 % ($p < 0,0001$) và 37 % ($p < 0,001$) so với kháng thể đối chứng lớp kháng thể dành cho hồi hải mã và vỏ não tương ứng.

Kết luận, hiệu lực để giảm gánh nặng amyloid đã được chứng minh mà không làm tăng sự xuất hiện của các ổ vi xuất huyết sau khi tiêm BAMB31 trong màng bụng mạn tính ở mẫu chuột tích tụ mảng, biểu thị tỷ lệ thuận lợi giữa hiệu lực và độc tính sau khi điều trị bằng kháng thể BAMB31.

Ví dụ 10: Dược động học của kháng thể đơn dòng BAMB31 HFA

Dược động học của kháng thể đơn dòng BAMB31 HFA dưới dạng IgG1 kiểu đại (BAMB674) và lớp kháng thể IgG1 +YTE (BAMB675) được đánh giá ở khỉ cynomolgus để so sánh trực tiếp các đặc tính trong tuần hoàn và não ngoại vi.

Nguyên vật liệu và phương pháp: Ba con vật ở mỗi nhóm được tiêm bolus trong tĩnh mạch (i.v.) 25 mg/kg mỗi kháng thể đơn dòng và mẫu huyết thanh được thu thập trong khoảng thời gian 5 tuần. Ba con khỉ khác được tiêm bolus trong tĩnh mạch 25 mg/kg mỗi kháng thể đơn dòng vào tuần thứ 6 và mô não được thu thập từ mỗi nhóm vào Ngày thứ 7 và Ngày thứ 42 sau khi dùng thuốc. Tổng cộng, các mẫu não được thu thập từ ba con khỉ cynomolgus ở ngày thứ 7 và 42 cho mỗi phân tử.

Phân tích phơi nhiễm thuốc cho BAMB674 và BAMB675 từ các mẫu mô não và huyết thanh khỉ cynomolgus *trong cơ thể sống* được thực hiện bằng phương pháp xét nghiệm miễn dịch điện hóa phát quang phù hợp với mục đích riêng (ECLIA) với các lần xác định điểm cuối trên Meso Scale Discovery (MSD) Sector Imager S600. Một dạng xét nghiệm đã được áp dụng cho mỗi hợp chất và cơ chất, tạo ra bốn phương pháp độc lập để đo mức độ phơi nhiễm. Dạng này được mô tả như sau: hợp chất kháng thể đơn dòng được bắt và phát hiện bằng kháng thể đơn dòng của chuột đặc hiệu Fc kháng người (Miền CH2). Để điều chế mô não, chất đồng chất được tạo ra bằng cách tán thành bột cryo mô được đông lạnh nhanh và pha loãng trong dung dịch đệm. Nồng độ protein của mô được xác minh và chuẩn hóa bằng xét nghiệm BCA để đạt được nồng độ protein cuối cùng sử dụng trong phương pháp này. Hồi quy dữ liệu thô được thực hiện trong phần mềm Watson LIMS bằng cách sử dụng logistic 5 thông số (ước tính tự động) phù hợp với tỷ trọng đường cong chuẩn 1/Y2.

Mô hình dược động học (PK) hai ngăn (ngăn trung tâm (V_C) và ngăn mô (V_T)) với việc tiêm trong tĩnh mạch (Admin) vào ngăn trung tâm, độ thanh thải giữa các ngăn (Q) và độ thanh thải tuyến tính (CL) được sử dụng để biểu thị đặc điểm PK của BAMB674 và BAMB675 ở khỉ cynomolgus. HÌNH 10 minh họa sơ đồ mô hình này.

Kết quả: Thời gian bán thải cuối cùng của mỗi kháng thể được tính toán và minh họa trong HÌNH 11, cùng với dữ liệu về khỉ cynomolgus và phù hợp với mô hình 2 ngăn. Lớp kháng thể IgG1 +YTE (BAMB675) có thời gian bán thải tăng gấp ~ 1,6 lần so với lớp kháng thể IgG1 kiểu đại (BAMB674). Thể tương liên này có ái lực FcRn tăng gấp

~3 lần của lớp kháng thể +YTE (BAMB675) so với kháng thể đơn dòng IgG1 kiểu đại (BAMB674) được trình bày trong Bảng 5.

Mức dịch thủy phân não giữa các vùng và giữa các kháng thể đơn dòng giống nhau vào Ngày thứ 7, nhưng chỉ có kháng thể đơn dòng YTE được phát hiện đậm đặc trên các vùng não và động vật vào Ngày thứ 42. Kết quả được minh họa trong HÌNH 12. Điều này phù hợp với mức độ phơi nhiễm tăng lên của kháng thể đơn dòng +YTE tại các thời điểm sau đó.

Khi mô tả sáng chế và các phương án khác nhau của nó, hệ thống thuật ngữ cụ thể được sử dụng vì mục đích rõ ràng. Tuy nhiên, sáng chế không nhằm giới hạn ở hệ thống thuật ngữ cụ thể được lựa chọn này. Người có kỹ năng trong ngành liên quan sẽ nhận ra rằng có thể sử dụng các thành phần tương đương khác, và các phương pháp khác được phát triển mà không xa rời các ý tưởng chung của sáng chế. Tất cả tài liệu tham khảo được nêu ở bất cứ đâu trong bản mô tả này đều được kết hợp bằng viện dẫn như thể mỗi tài liệu đã được kết hợp riêng lẻ.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó bao gồm vùng xác định bổ sung chuỗi nặng 1 (heavy complementarity determining region 1 - HCDR1), HCDR2, HCDR3, và vùng xác định bổ sung chuỗi nhẹ 1 (light complementarity determining region 1 - LCDR1), LCDR2 và LCDR3, có trình tự polypeptit có:

- a. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 2, 3, 4, 5 và 6;
- b. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 7, 3, 4, 5 và 6;
- c. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 7, 3, 8, 5 và 6;
- d. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 2, 3, 8, 5 và 6;
- e. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 57, 3, 8, 5 và 6;
- f. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 57, 3, 4, 5 và 6;
- g. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 58, 3, 4, 5 và 6;
- h. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 7, 3, 8, 5 và 6;
- i. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 57, 3, 8, 5 và 6;
- j. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 7, 3, 4, 5 và 6;
- k. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 57, 3, 4, 5 và 6;
- l. các SEQ ID No: lần lượt là 1, 58, 3, 4, 5 và 6; hoặc
- m. các SEQ ID No: lần lượt là 56, 2, 3, 4, 5 và 6;

trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với amyloid- β peptit có pyroglutamat ở gốc thứ ba (3pE A β).

2. Kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo điểm 1, bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 95 % với SEQ ID No: 9, 11, 13, 15, 16, 17, 19, 20 hoặc 21, hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit đồng nhất ít nhất 95 % với SEQ ID No: 10, 12, 14, 18, 22, 53 hoặc 55.

3. Kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo điểm 1, bao gồm:

a. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:21 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:22;

b. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:9 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:10;

c. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:11 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:12;

d. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:13 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14;

e. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:15 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14;

f. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:16 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14;

g. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:20 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:14;

h. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:17 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:18;

i. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:19 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:18

j. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:21 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:53; hoặc

k. vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự polypeptit có SEQ ID No:21 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự polypeptit có SEQ ID No:55.

4. Kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó là dạng khảm.

5. Kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo điểm 1, trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó được nhân tính hóa.

6. Kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo điểm 1, trong đó kháng thể đơn dòng được phân lập hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó liên kết đặc hiệu với 3pE A β .

7. Axit nucleic được phân lập mã hóa kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo điểm 1.

8. Vector bao gồm axit nucleic được phân lập theo điểm 7.

9. Tế bào chủ bao gồm vector theo điểm 8.

10. Kháng thể đơn dòng được phân lập bao gồm:

a. trình tự axit amin chuỗi nặng gồm có SEQ ID No:37 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID No:38;

b. trình tự axit amin chuỗi nặng gồm có SEQ ID No:39 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID No:38;

c. trình tự axit amin chuỗi nặng gồm có SEQ ID No:37 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID No:52;

d. trình tự axit amin chuỗi nặng gồm có SEQ ID No:39 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID No:52;

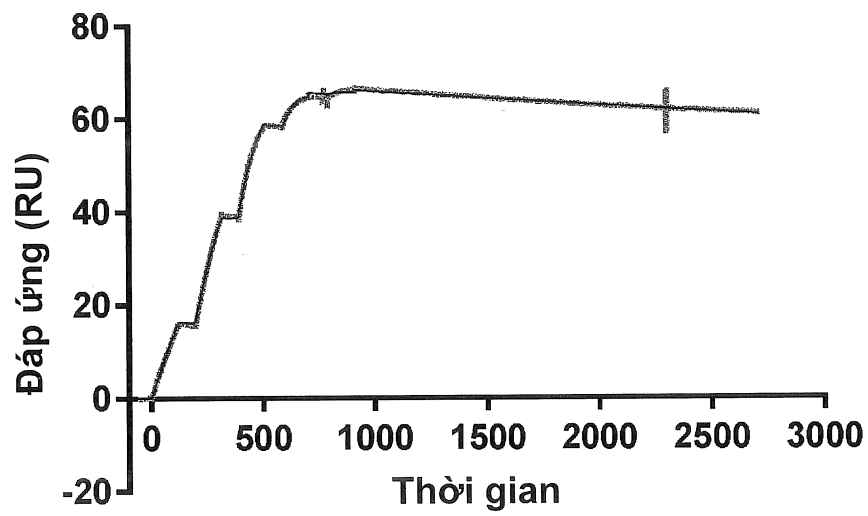
e. trình tự axit amin chuỗi nặng bao gồm SEQ ID No:37 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ gồm có SEQ ID No:54; hoặc

f. trình tự axit amin chuỗi nặng bao gồm SEQ ID No:39 và trình tự axit amin chuỗi nhẹ bao gồm SEQ ID No:54.

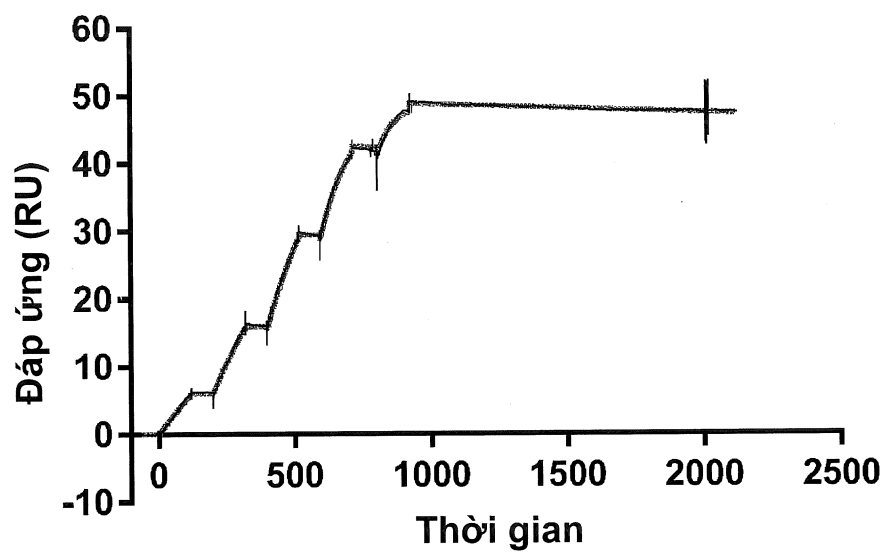
11. Phương pháp sản xuất kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo điểm 1, bao gồm bước nuôi cấy tế bào gồm có axit nucleic mã hóa kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó trong các điều kiện để tạo kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó, và bước thu hồi kháng thể hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó.

12. Phương pháp sản xuất dược phẩm bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó theo điểm 1, phương pháp này bao gồm kết hợp kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên của nó với chất mang dược dụng để thu được dược phẩm.

13. Dược phẩm bao gồm kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kháng nguyên theo điểm 1 và chất mang dược dụng.

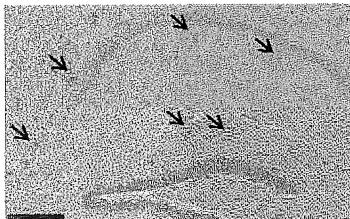


HÌNH 1

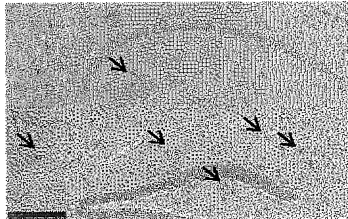


HÌNH 2

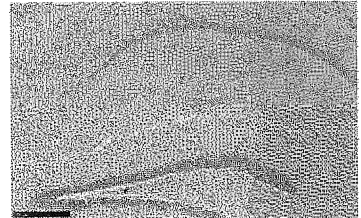
HÌNH 3A



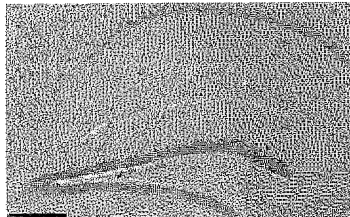
HÌNH 3B



HÌNH 3C



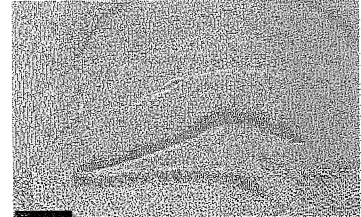
HÌNH 3D



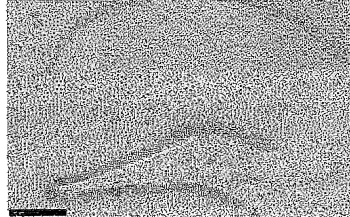
HÌNH 3E



HÌNH 3F



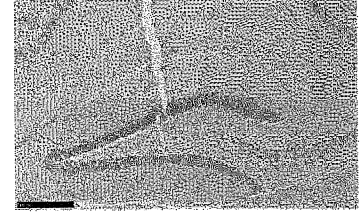
HÌNH 3G

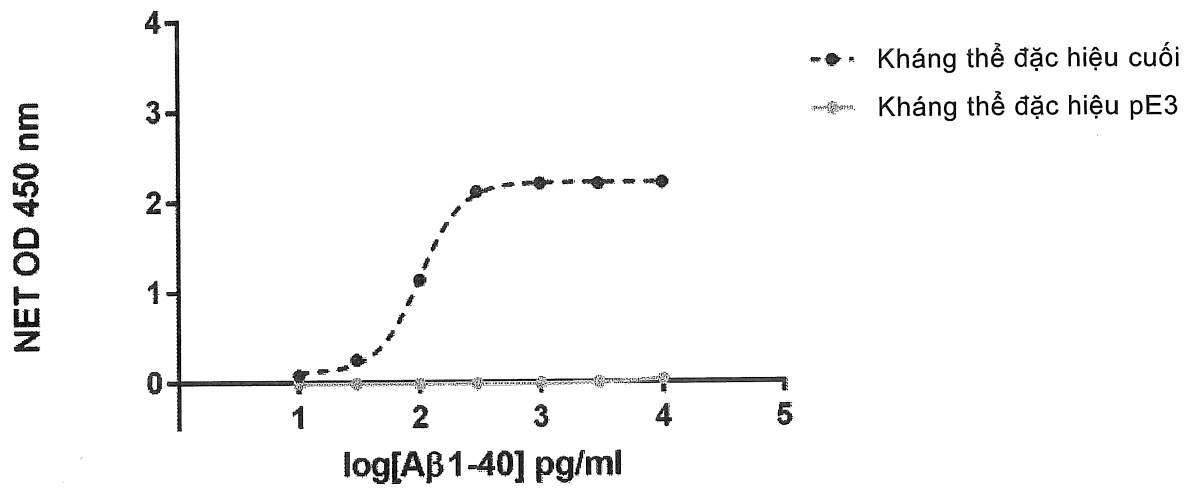


HÌNH 3H

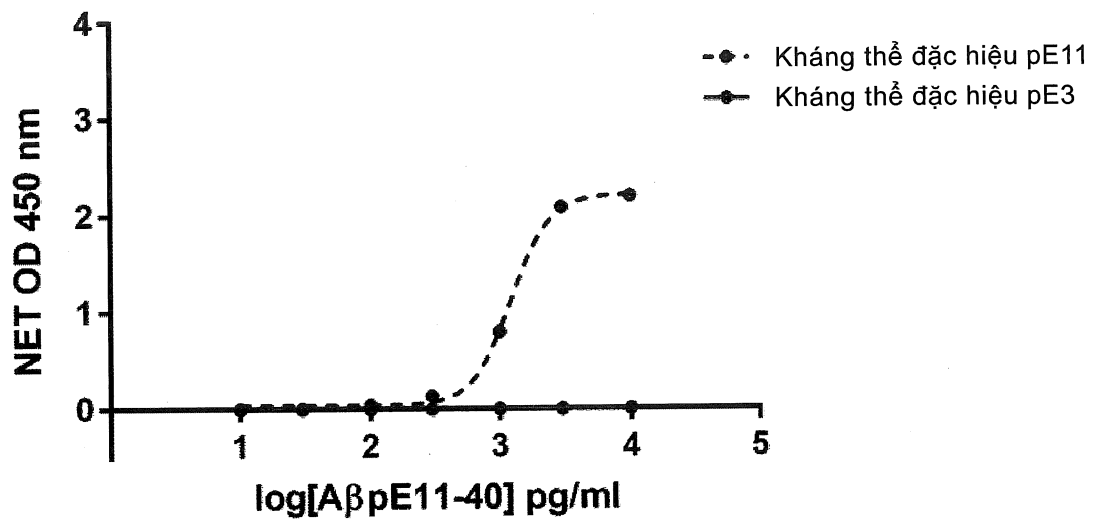


HÌNH 3I

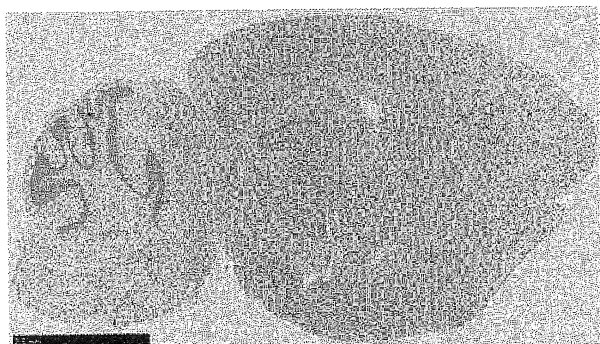
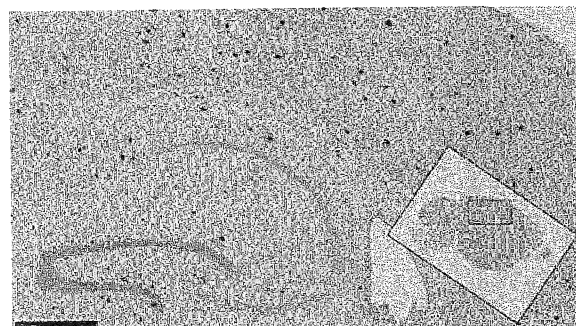
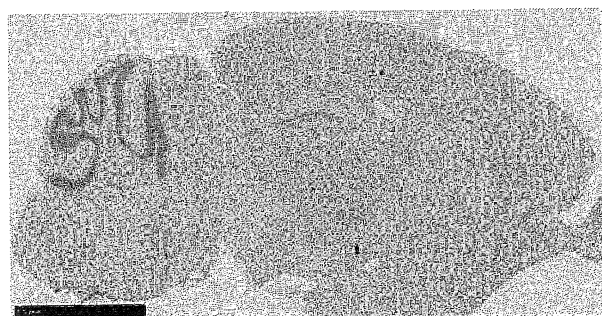
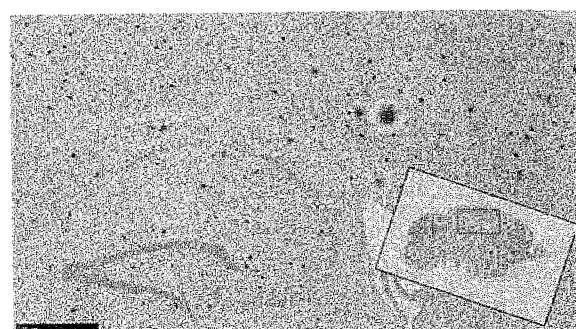
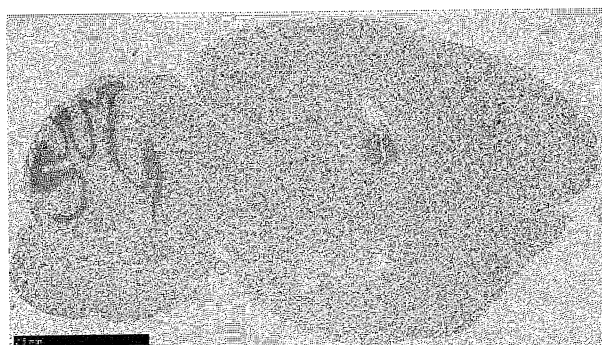
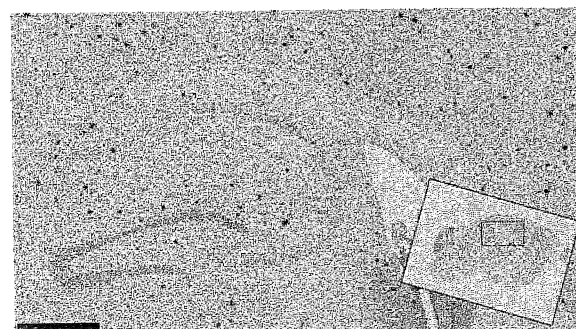


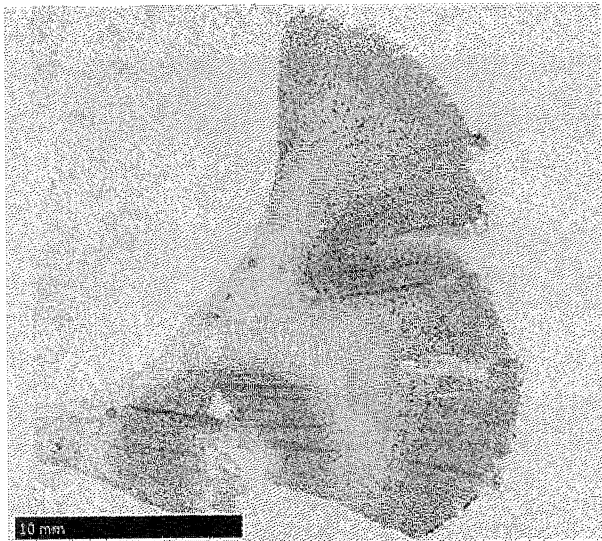
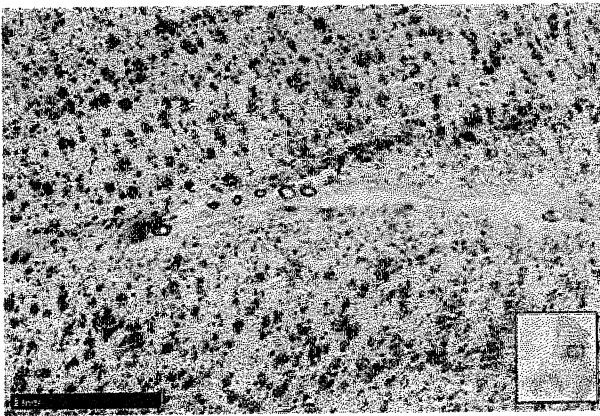
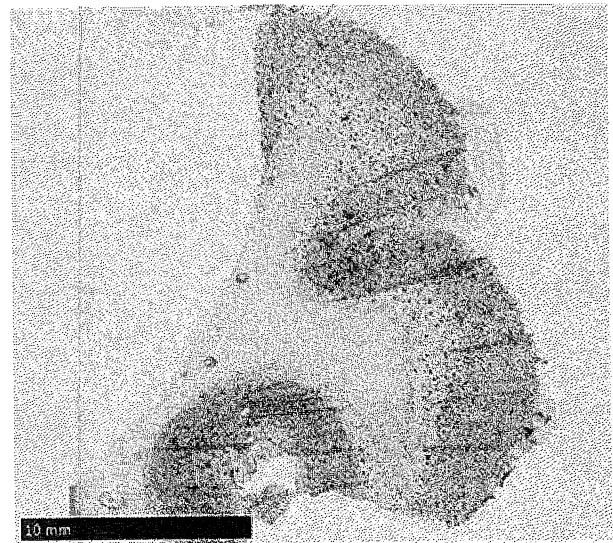
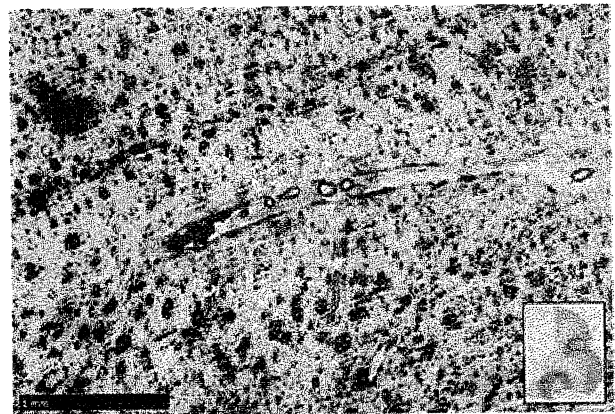


HÌNH 4A

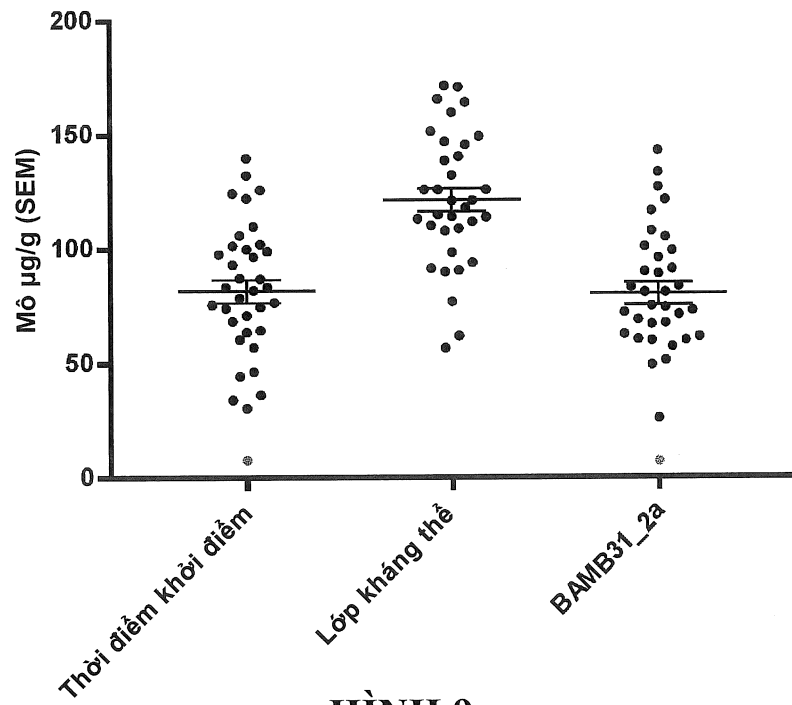


HÌNH 4B

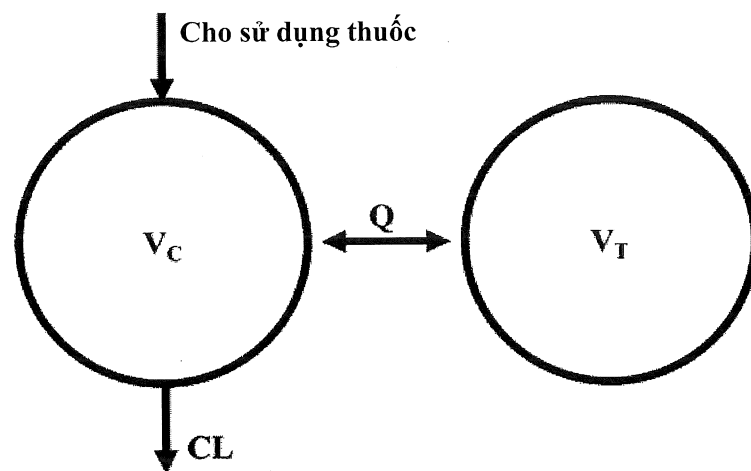
**HÌNH 5A****HÌNH 5B****HÌNH 5C****HÌNH 5D****HÌNH 5E****HÌNH 5F**

HÌNH 6A**HÌNH 6B****HÌNH 6C****HÌNH 6D**

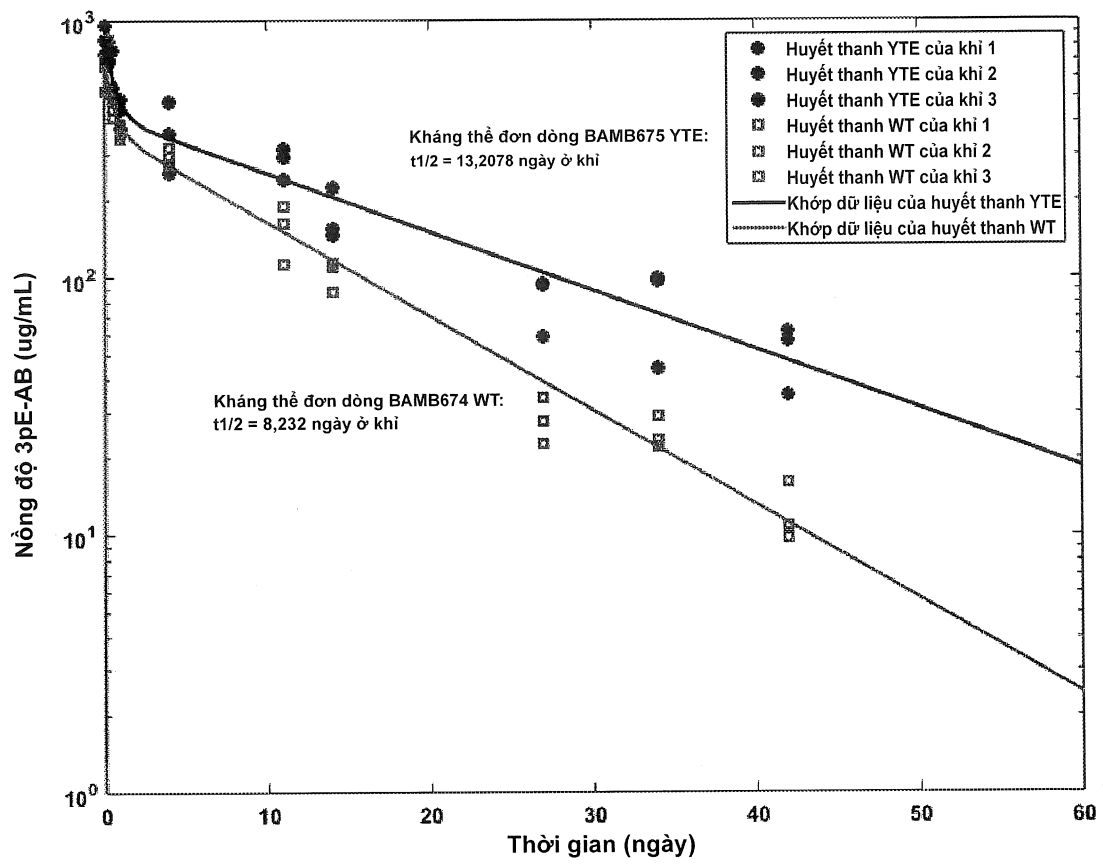




HÌNH 9

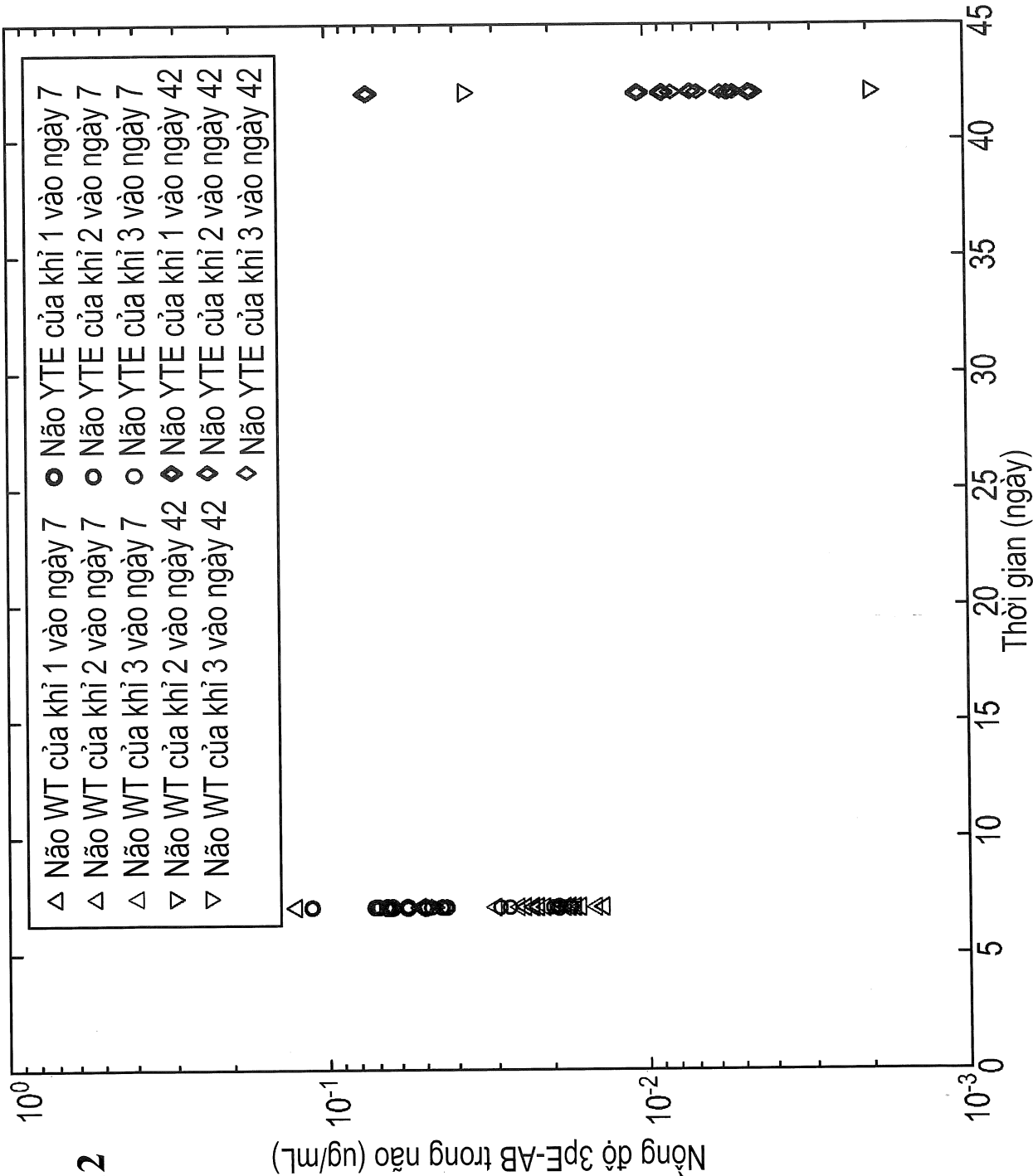


HÌNH 10



HÌNH 11

HÌNH 12



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Janssen Phamaceutica NV

<120> KHÁNG THỂ ĐƠN DÒNG VÀ PHƯƠNG PHÁP ĐỂ SẢN XUẤT KHÁNG THỂ NÀY

<130> JAB7013WOPCT1

<160> 58

<170> Phiên bản sáng chế 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR1

<400> 1

Ser Tyr Asp Met Tyr

1

5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR2

<400> 2

Tyr Ile Asp Ser Asp Ser Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR3

<400> 3

Tyr Arg Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 4

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR1

<400> 4

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Arg Ala Lys Thr Tyr Leu Thr
1 5 10 15

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> LCDR2

<400> 5

Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> LCDR3

<400> 6

Trp Gln Gly Thr His Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 7
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR2

<400> 7

Tyr	Ile	Asp	Ser	Asp	Asn	Gly	Asp	Thr	Ser	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 8

<211> 16

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> LCDR1

<400> 8

Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser	Asn	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Thr
1				5					10					15	

<210> 9

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nặng

<400> 9

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

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

Asp Met Tyr Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

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

Ala Tyr Tyr Arg Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 10

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nhẹ

<400> 10

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

Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
			20				25						30		

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

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

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

Ile	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Gln	Gly
			85						90					95	

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

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

<220>
<223> Vùng biến đổi chuỗi nặng

<400> 11

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 His Val Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 12

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nhẹ

<400> 12

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

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

<210> 13

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nặng

<400> 13

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 His Val Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asp Ser Asp Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 14

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nhẹ

<400> 14

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

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

<210> 15

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nặng

<400> 15

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 His Val Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 16

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nặng

<400> 16

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 His Val Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 17

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nặng

<400> 17

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	His	Val	Phe	Thr	Ser	Tyr
			20					25					30		

Asp	Met	Tyr	Trp	Val	Lys	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Ser	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40						45		

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

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 18

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nhẹ

<400> 18

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65

70

75

80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly

85

90

95

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100

105

110

<210> 19

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nặng

<400> 19

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 His Val Phe Thr Ser Tyr

20

25

30

Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Met

35

40

45

Gly Tyr Ile Asp Ser Asp Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50

55

60

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 20

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nặng

<400> 20

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 His Val Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Gly Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 21

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nặng

<400> 21

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 His Val Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 22

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nhẹ

<400> 22

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

Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asp	Ser
			20					25					30		

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

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

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

Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Trp	Gln	Gly
				85					90					95	

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

<210> 23
<211> 446
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng

<400> 23

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

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

Asp Met Tyr Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

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

Ala Tyr Tyr Arg Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val

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

Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro
245 250 255

Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val
260 265 270

Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr
275 280 285

Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala
290 295 300

Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro
340 345 350

Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val
355 360 365

Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly
370 375 380

Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp
405 410 415

Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His
420 425 430

Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 24

<211> 219

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nhẹ

<400> 24

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

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

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

Ile Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

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

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu
115 120 125

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

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg
145 150 155 160

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

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu
180 185 190

Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser
195 200 205

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215

<210> 25

<211> 446

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nặng

<400> 25

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

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

Asp Met Tyr Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

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

Ala Tyr Tyr Arg Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 26

<211> 219

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nhẹ

<400> 26

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

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

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

Ile Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 27

<211> 446

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nặng

<400> 27

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 His Val Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275

280

285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 28

<211> 219

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nhẹ

<400> 28

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65

70

75

80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 29
<211> 446
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng

<400> 29

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 His Val Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

85

90

95

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 30

<211> 219

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nhẹ

<400> 30

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 31

<211> 446

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nặng

<400> 31

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 His Val Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

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

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<211> 446

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nặng

<400> 32

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 His Val Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245

250

255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 33

<211> 446

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nặng

<400> 33

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 His Val Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Tyr Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile

35

40

45

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

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

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

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 34

<211> 219

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nhẹ

<400> 34

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 35

<211> 446

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nặng

<400> 35

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 His Val Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Met
35 40 45

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

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405

410

415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 36

<211> 446

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nặng

<400> 36

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 His Val Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Gly Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195

200

205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 37

<211> 446

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nặng

<400> 37

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 His Val Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 38

<211> 219

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nhẹ

<400> 38

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 39

<211> 446

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nặng

<400> 39

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 His Val Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

355

360

365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 40

<211> 38

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A(beta)3pE-40 của người

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Đơn phân pyroglutamate

<400> 40

Glu	Phe	Arg	His	Asp	Ser	Gly	Tyr	Glu	Val	His	His	Gln	Lys	Leu	Val
1				5					10					15	

Phe	Phe	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Ser	Asn	Lys	Gly	Ala	Ile	Ile	Gly	Leu
			20					25						30	

Met	Val	Gly	Gly	Val	Val
					35

<210> 41

<211> 40

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A(beta)1-40 của người

<400> 41

Asp	Ala	Glu	Phe	Arg	His	Asp	Ser	Gly	Tyr	Glu	Val	His	His	Gln	Lys
1				5					10					15	

Leu	Val	Phe	Phe	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Ser	Asn	Lys	Gly	Ala	Ile	Ile
				20					25					30	

Gly	Leu	Met	Val	Gly	Gly	Val	Val
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

35

40

<210> 42

<211> 26

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A(beta)3pE-28 của người

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Đơn phân pyroglutamate

<400> 42

Glu	Phe	Arg	His	Asp	Ser	Gly	Tyr	Glu	Val	His	His	Gln	Lys	Leu	Val
1				5					10					15	

Phe	Phe	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Ser	Asn	Lys
			20					25	

<210> 43

<211> 28

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A(beta)1-28 của người

<400> 43

Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
1 5 10 15

Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys
20 25

<210> 44

<211> 26

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A(beta)3pE-28 xáo trộn của người

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Đơn phân pyroglutamate

<400> 44

Glu Gly Phe Asp Ser Arg His Tyr Glu Val His His Gln Lys Leu Val
1 5 10 15

Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys
20 25

<210> 45

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

<220>
<223> A(beta)3pE-40 của chuột

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Đơn phân pyroglutamate

<400> 45

Glu	Phe	Gly	His	Asp	Ser	Gly	Phe	Glu	Val	Arg	His	Gln	Lys	Leu	Val
1				5				10					15		

Phe	Phe	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Ser	Asn	Lys	Gly	Ala	Ile	Ile	Gly	Leu
			20					25					30		

Met	Val	Gly	Gly	Val	Val
				35	

<210> 46
<211> 26
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> A(beta)3pE-28 của chuột

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Đơn phân pyroglutamate

<400> 46

Glu Phe Gly His Asp Ser Gly Phe Glu Val Arg His Gln Lys Leu Val
1 5 10 15

Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys
20 25

<210> 47

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tiêm tăng cường peptit

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Đơn phân pyroglutamate

<400> 47

Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Cys
1 5

<210> 48
<211> 42
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> A(beta)1-42

<400> 48

Asp	Ala	Glu	Phe	Arg	His	Asp	Ser	Gly	Tyr	Glu	Val	His	His	Gln	Lys
1				5					10					15	

Leu	Val	Phe	Phe	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Ser	Asn	Lys	Gly	Ala	Ile	Ile
				20				25					30		

Gly	Leu	Met	Val	Gly	Gly	Val	Val	Ile	Ala
		35					40		

<210> 49
<211> 30
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> A(beta)11pE-40

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)

<223> Đơn phân pyroglutamate

<400> 49

Glu Val His His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser
1 5 10 15

Asn Lys Gly Ala Ile Ile Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val
20 25 30

<210> 50

<211> 32

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> A(beta)11pE-42

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Đơn phân pyroglutamate

<400> 50

Glu Val His His Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser
1 5 10 15

Asn Lys Gly Ala Ile Ile Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala
20 25 30

<210> 51
<211> 40
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> A(beta)3pE-42

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Đơn phân pyroglutamate

<400> 51

Glu	Phe	Arg	His	Asp	Ser	Gly	Tyr	Glu	Val	His	His	Gln	Lys	Leu	Val
1				5					10					15	

Phe	Phe	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Ser	Asn	Lys	Gly	Ala	Ile	Ile	Gly	Leu
			20					25					30		

Met	Val	Gly	Gly	Val	Val	Ile	Ala
		35				40	

<210> 52
<211> 219
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nhẹ

<400> 52

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

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

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 53

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nhẹ

<400> 53

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

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

<210> 54

<211> 219

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Chuỗi nhẹ

<400> 54

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 55

<211> 112

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Vùng biến đổi chuỗi nhẹ

<400> 55

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

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

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 56

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR1

<400> 56

Gly	His	Val	Phe	Thr	Ser	Tyr	Asp	Met	Tyr
1				5					10

<210> 57

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR2

<400> 57

Asp	Ser	Asp	Asn	Gly	Asp	Thr	Ser
1				5			

<210> 58

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> HCDR2

<400> 58

Tyr	Ile	Asp	Ser	Asp	Ser	Gly	Asp	Thr	Ser
1				5					10